

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) ALIMENTADOS COM PÓLEN DE
MILHO BT (MON 89034)**

Maria Freire de Sousa

DOURADOS-MS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) ALIMENTADOS COM PÓLEN DE
MILHO BT (MON 89034)**

Maria Freire de Sousa

Orientador Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes

Co-orientador: Me: Thiago Alexandre Mota

DOURADOS-MS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) ALIMENTADOS COM PÓLEN DE
MILHO BT (MON 89034)

Maria Freire de Sousa

Orientador Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes

Co-orientador: Me: Thiago Alexandre Mota

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado ao Curso de Ciências Biológicas da
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
da Universidade Federal da Grande Dourados
(UFGD), como parte das exigências para a
obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas

DOURADOS-MS

2013

''PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) ALIMENTADOS COM PÓLEN DE
MILHO BT (MON 89034)''

Maria Freire de Sousa

Trabalho de Conclusão de Curso como requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas na Universidade Federal da Grande Dourados, pela
comissão formada por:

Prof. Marcos Gino Fernandes – Doutor - (UFGD) – Orientador

Prof. Fabricio Fagundes Pereira - Doutor - (UFGD)

Me. Thiago Alexandre Mota - (UFGD)- Co-orientador

Aos meus pais José e Jesuíta

Que me educaram com muito amor

Á quem devo tudo que sou.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por todas as oportunidades oferecidas e por estar sempre ao meu lado.

A minha família, meu pai José, a minha mãe Jesuíta e ao meu irmão Jordão por todo o amor, carinho e apoio incondicional.

Aos meus amigos que me apoiaram em todos os momentos.

À Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), pela oportunidade oferecida para a realização deste curso.

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

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

Ao meu co-orientador Me. Thiago Alexandre Mota pelo tempo de convivência e pelos ensinamentos ao longo do meu aprendizado e também pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao estagiário Jordão Freire de Souza por sua contribuição para a realização deste trabalho.

Ao aluno Eder Alcebíades Alegre pelo auxílio na montagem do experimento.

Ao aluno de Mestrado Elisson Floriano Tiago pelo auxílio na montagem do experimento.

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de iniciação científica concedida.

SUMÁRIO

I Introdução.....	9
II Revisão Bibliográfica.....	10
III Objetivo	14
IV Referências Bibliográficas.....	15
V Parâmetros biológicos de <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de milho BT (MON 89034)	
5.1 Resumo	18
5.2 Introdução.....	19
5.3 Material e Métodos	21
5.4 Resultados.....	23
5.5 Discussão	24
5.6 Conclusão	25
5.7 Agradecimentos	25
5.8 Referências Bibliográficas	25

Anexos	
Instruções para envio do manuscrito à revista científica	29
Interciencia	29

I-INTRODUÇÃO

A necessidade de alimentar a crescente população mundial, aliado à proximidade do fim das fronteiras agrícolas no mundo, faz com que seja necessária a utilização de novas técnicas de cultivos. Nesse cenário se encontram as plantas geneticamente modificadas ou, simplesmente, OGM's.

A utilização de plantas transgênicas representa uma nova alternativa para o controle de insetos, além de ser consistente com a filosofia do manejo integrado de pragas. Atualmente culturas como soja, milho e algodão tem sido modificadas geneticamente para expressar as proteínas de *Bacillus thuringiensis* Berliner e são utilizadas em escala comercial em vários países atingindo área de cerca de 160 milhões de hectares (James, 2011).

O Brasil possui 30,3 milhões de hectares de soja, milho e algodão transgênicos (James, 2011). O desenvolvimento da agricultura brasileira vem impondo importantes impactos à biodiversidade, com consequências tanto do ponto de vista ambiental (Rodrigues, 2001), quanto econômico e de manejo (Campanhola et al., 1998).

A manutenção e incremento dos inimigos naturais (insetos predadores e parasitoides) das pragas são de suma importância, pois, além de desempenharem um papel ecológico no ambiente, podem ser associados a métodos alternativos como o controle biológico de pragas-alvo através de sua criação massal em laboratório (Gallo et al., 2002).

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 (predadores, parasitoides, polinizadores), pois no campo não se encontram somente pragas, mas também insetos benéficos, como os predadores e parasitoides, que desempenham um importante papel na regulação das populações de herbívoros. Em termos ecológicos, essa hierarquia é denominada interação tritrófica, onde a planta representa o primeiro nível trófico, o inseto- praga, o herbívoro ou a presa representa o segundo nível trófico e o inimigos naturais, o terceiro nível (De Moraes et al., 2000).

Sabe-se que esses agentes de controle natural alimentam-se de pólen e néctar e por isso há uma crescente preocupação das possíveis consequências da alimentação desses insetos nas plantas geneticamente modificadas.

O presente trabalho tem, portanto, como objetivo avaliar o efeito do pólen de milho transgênico Bt sobre a fecundidade, a longevidade e o parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, que é um importante parasitoide do complexo da entomofauna da cultura.

II- REVISÃO DE LITERATURA

As plantas geneticamente modificadas (Bt) que apresentam resistência a insetos são obtidas através de uma modificação genética com a introdução de um gene obtido de uma bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* que produz uma proteína inseticida (Polanczyk et al.,2008).

A crescente demanda da população mundial por alimentos e tendo em vista que os insetos são os que mais causam danos a produção dos mesmos fez com que a utilização de cultivares geneticamente modificada crescesse comercialmente, sendo que a utilização de plantas geneticamente modificadas traz algumas vantagens dentre as quais podemos destacar: aumento na produção (Betz et al.,2000); níveis menores de micotoxinas (Dowd, 2000) e redução na aplicação de inseticidas (Romeis et al.,2006).

A área cultivada com sementes transgênicas no mundo aumentou 12 milhões de hectares (8%), passando para 160 milhões hectares em 2011. Atualmente, todos os países com atividade agrícola importante possuem pelo menos uma cultivar transgênica, sendo que a área global de cultivos transgênicos atinge cerca de 160 milhões de hectares com soja, milho e algodão. O Brasil possui 30,3 milhões de cultivares transgênicas entre soja, milho e algodão (James, 2011).

As principais cultivares transgênicas no mundo são a soja com 75,4 milhões de hectares, seguido do milho com 51,00 milhões de hectares, algodão com 24,7 milhões de hectares e a canola com 8,2 milhões de hectares (James, 2011).

O milho *Zea mays* L. é uma das culturas agrícolas mais importantes do mundo. O Brasil é o terceiro maior produtor de milho com uma área plantada de quase 15 milhões de hectares (Conab, 2012), sendo fonte de amido na alimentação humana e animal. Esta cultura apresenta um amplo complexo de pragas destacando-se principalmente a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Cruz, 2009).

O milho Bt foi introduzido comercialmente em 1996 nos EUA o qual vem sendo utilizado com sucesso para o controle de populações do principal lepidóptero-praga *Ostrinia nubilalis* Hübner que ataca o milho neste país (Siegfried et al.,2007).

O milho MON 89034 × TC1507 × NK603 contém os eventos de transformação genética, sendo que eventos individuais MON 89034 e NK603 foram combinados por técnicas clássicas de melhoramento de milho ao evento TC1507 para gerar essa tecnologia. Esses eventos individuais foram avaliados pela CTNBio durante o período de 2008 a 2009, quando recebeu parecer aprovando a sua biossegurança. Além do Brasil, esses eventos já

foram autorizados individualmente, ou na forma combinada em diversos países (CTNBio, 2010).

A combinação dos eventos MON 89034 × TC1507 × NK603 no milho permitiu a inserção dos genes *cry1A. 105*, *cry2Ab2* e *cry1F*, que codificam as proteínas Cry1A. 105, Cry2Ab2 e Cry1F as quais conferem resistência contra importantes insetos da ordem Lepidoptera considerados praga do milho; assim como os genes *pat* e *cp4-epsps*, que codificam as proteínas PAT e CP4 EPSPS, responsáveis por conferir tolerância ao herbicida glifosato e a herbicidas contendo o glufosinato de amônio como princípio ativo, respectivamente (CTNBio, 2010).

Os inimigos naturais, insetos predadores e parasitoides são de suma importância para os agroecossistemas, pois além de desempenharem um papel ecológico no ambiente, podem ser associados a métodos alternativos como o controle biológico de pragas-alvo através da criação massal em laboratório (Gallo et al., 2002).

Devido ao importante papel que os inimigos naturais desempenham no ecossistema têm se discutido quais os efeitos que as plantas geneticamente modificadas podem vir a causar nos organismos não-alvo (predadores, parasitoides, polinizadores) devido ao fato de que as plantas geneticamente modificadas interagem com esses organismos nos diferentes níveis tróficos. Isso ocorre, pois no campo não se encontram somente pragas, mas também insetos benéficos como predadores e parasitoides que desempenham um importante papel na regulação das populações de herbívoros. Em termos ecológicos, essa hierarquia é denominada interação tritrófica, onde a planta representa o primeiro nível trófico, o inseto- praga, o herbívoro ou a presa o segundo nível trófico e o inimigos naturais o terceiro nível (De Moraes et al., 2000).

Vários estudos têm sido realizados com espécies não alvos para demonstrar os possíveis efeitos da toxina Bt sobre estes organismos, desde estudos com predadores, polinizadores e parasitoides. Assim, Li et al. (2008) estudando o efeito do pólen de milho Bt sobre adultos do predador *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) concluíram que este predador não foi afetado pela toxina Bt.

Santos et al. (2011) investigando os efeitos do uso da toxina de *Bacillus thuringiensis* sobre o parasitoide *T. pretiosum*, verificou que os parâmetros biológicos como a capacidade de parasitismo, a viabilidade do parasitismo bem como a razão sexual não foram afetados. O mesmo foi observado por Polanczyk (2006) estudando os efeitos de 6 isolados do Bt *kurstaki* sobre os parasitoides *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi, 2003 e

Trichogramma pretiosum, também não encontraram efeitos desses isolados sobre os indivíduos dos parasitoides estudados.

Duan et al. (2008) realizou uma meta análise sobre os efeitos da toxina Bt em *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) e não encontrou efeitos adversos sobre as abelhas. O mesmo foi observado por Babendreier et al.(2005) estudando o efeito da toxina Bt (Cry1Ab) sobre o desenvolvimento de glândulas hipofaríngeas de *A mellifera*. Os autores concluíram que o uso da toxina Bt não afetou o desenvolvimento das glândulas das abelhas.

Dequech et al. (2005) estudou a interação entre o parasitoide *Campoletis flavicincta* (Ashmead, 1890) e *B. thuringiensis aizawai* em lagartas de *S. frugiperda* em condições de laboratório. Neste trabalho, foi avaliado o consumo alimentar e a mortalidade de lagartas parasitadas, infectadas pela bactéria, e parasitadas e infectadas, além da biologia dos parasitoides que emergiram a partir de lagartas infectadas e não infectadas pela bactéria. O menor consumo foliar e a maior taxa de mortalidade foram observadas em lagartas afetadas pelos dois agentes de controle biológico. Já no caso do parasitoide, não se verificou alterações nas características biológicas dos seus descendentes que emergiram de lagartas infectadas com *B. thuringiensis*.

Lucho (2004) avaliou a emergência de parasitoides em lagartas de *S. frugiperda* recapturadas em arroz irrigado com e sem tratamento de *B. thuringiensis aizawai* em condições de telado e a campo. A emergência de parasitoides das famílias Braconidae, Ichneumonidae e Tachinidae ocorreu em lagartas recapturadas em plantas não tratadas, mantidas em condições de telado. Das lagartas coletadas em áreas tratadas como bioinseticida, tanto em telado quanto a campo, não foi observada emergência de parasitoides.

Já Costa (2007), durante dois anos agrícolas, avaliou o efeito de inseticidas sobre os inimigos naturais de insetos-praga, por meio da quantificação de grupos taxonômicos de inimigos naturais presentes antes e após a aplicação de produtos químicos e biológicos em lavoura de arroz irrigado. Nesse estudo se avaliaram seis tratamentos (quatro inseticidas químicos sintéticos, um inseticida á base de *B.thuringiensis aizawai* e testemunha sem inseticidas) e cinco épocas de amostragem realizadas com rede de varredura do florescimento ao enchimento de grãos (prévia e aos 2, 7, 14 e 21 dias após a aplicação dos tratamentos - DAT). Entre os inimigos naturais coletados foram considerados oito subgrupos: aranhas, micro-himenópteros, coleópteros, odonatos, dermápteros, neurópteros, dípteros e hemípteros. No primeiro ano do estudo não foram observados efeitos significativos dos inseticidas sobre os inimigos naturais. No segundo ano, o inseticida lambdacialotrina reduziu o total de inimigos naturais coletados aos 2DAT. O número de coleópteros predadores, representados

em sua maioria por Coccinellidae (“joaninhas”), foi reduzido significativamente aos 2DAT por lambdacialotrina, carbaril, malationa e imidacloprido. Nos dois anos do estudo não foi observado efeitos significativo de *B. thuringiensis* sobre o número de inimigos naturais coletados após a aplicação do *B.thuringiensis* sobre o número de inimigos naturais coletados após a aplicação do bioinseticida.

No trabalho realizado por Chen et al. (2008) foi avaliado o efeito direto e indireto da proteína Cry1Ac de *B. thuringiensis* que está presente em plantas transgênicas de milho e algodão sobre o parasitoide da lagarta *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) *Diadegma insulare* (Cresson, 1875) .Os autores utilizaram a planta transgênica e a proteína proveniente de uma formulação líquida comercial (MC), em três tratamentos: a proteína purificada, o produto comercial e a planta transgênica. Também avaliaram o efeito de inseticidas a base de spinosad, indoxacarb, lambdacialotrina e cipermetrina. Em seus resultados, observaram que, mais de 90% das lagartas foram parasitadas após a ingestão dos tratamentos, indicando que esses não influenciam o parasitismo. Porém, o número de *D. insulare* emergidos das lagartas, diferiu entre o controle e o grupo tratado com a formulação comercial, mas não diferiu entre o controle e as lagartas tratadas com a planta expressando a proteína Cry 1Ac ou somente com a proteína purificada.

Estudo semelhante foi realizado por Torres & Ruberson (2008) com a mesma proteína expressa em plantas de algodão. Os resultados desse estudo mostraram que a proteína foi detectada em três níveis tróficos avaliados, porém, os insetos predadores e parasitas das lagartas de *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) não foram afetados quando as lagartas forma alimentadas com algodão transgênico.

Com base na necessidade de mais conhecimentos sobre os possíveis efeitos da toxina Bt sobre os inimigos naturais não alvo, é importante levantar informações sobre os efeitos do pólen de milho Bt sobre o parasitoide de ovos *T. pretiosum*.

III-Objetivo

Este estudo teve como principal objetivo avaliar o efeito do pólen de milho transgênico Bt sobre a fecundidade, a longevidade e o parasitismo de *T. pretiosum*.

REFRÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

CAMPANHOLA, C.; RODRIGUES, G.S.; DIAS, B.F. Agricultural biological diversity. *Ciência e Cultura*, v.50, n.1, p.10-13, 1998.

CONAB. Companhia nacional de abastecimento - Acompanhamento da safra brasileira: grão safra 2011 / 2012. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_07_05_08_41_20_boletim_graos_-_10julho_2012.pdf. Acesso em Dez.2012

CRUZ, I. Métodos de criação de agentes entomófagos de *Spodoptera frugiperda*, In: Bueno, V.H.P. Controle Biológico de Pragas: Produção Massal e Controle de Qualidade. Lavras: Ed. UFLA. p. 237-275. 2009.

CHEN, M.; ZHAO, J.Z.; COLLINS, H.L.; EARLE, E.D.; CÃO, J.; SHELTON, A.M. A critical assessment of the effects of Bt transgenic plants on parasitoids. *Plos One*. 3(5): e 2284: 1-7. 2008.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA-CTNBio. 2010. <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15833.html>.

COSTA, E.L.N. Ocorrência de artrópodes e seletividade de inseticidas na cultura do arroz irrigado. Tese (Doutorado em Fitotecnia – Fitossanidade), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007. Porto Alegre: UFRGS, 2005, 59p.

Babendreier D., Kalbeer N. M., Romeis J., Fluri P., Mulligan E., Bigler F., 2005.- Influence of Bt-transgenic pollen, Bt-toxin and protease inhibitor (SBTI) ingestion on development of the hypopharyngeal glands in honeybees.- *Apidologie*, 36: 585-594.

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.

DE MORAES, C. M. DE; 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.

DEQUECH, S.T.B.; SILVA, R.F.P. DA; FIUZA, L.M. Interação entre *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), *Campoletis flavicincta* (Ashmead) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Bacillus thuringiensis aizawai*, em laboratório. *Neotropical Entomology*. 34(6): 937-944. 2005.

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.

Duan JJ, Marvier M, Huesing J, Dively G, Huang ZY(2008). A meta - analysis of effects of Bt crops on honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Plos One* 3(1):e1415

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. *Entomologia agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

JAMES, CLIVE. 2011. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011. ISAAA Brief No. 43. ISAAA: Ithaca, NY.

Li, Y. , Meissle, M. and Romeis (2008) Consumption of Bt maize pollen expressing Cry1Ab or Cry3Bb1 does not harm adult green lacewings, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) . *Plos One* 3(8), e 2909.

LUCHO, A.P.R. Manejo de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz irrigado. Dissertação (Mestrado em Diversidade e Manejo da Vida

Silvestre), Universidade do Vale do Rio dos Sinos, 2004. São Leopoldo: UNISINOS, 2004, 73p.

Polanczyk R. A., Pratisoli D., Vianna U. R., Oliveira R. G. S., Andrade G. S., 2006. - Interaction between natural enemies: *Trichogramma* and *Bacillus thuringiensis* in pest control. - *Acta Scientiarum Agronomy*, 28: 233-239.

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.

RODRIGUES, G. S. Impacto das atividades agrícolas sobre a biodiversidade: causas e conseqüências. In: Garay, I.; Dias, B. (Org.). Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais: avanços conceituais e revisão de novas metodologias de avaliação e monitoramento. Petrópolis: Vozes, p.128-139.2001.

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.

Santos, Jr H.J.G.; Marques, E.J.; Pratisoli, D., Kloss, T.G.; Machado, L.C.; Andrade G.S. 2011. Efeito de *Bacillus thuringiensis* (Bacillaceae) sobre parâmetros biológicos do parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Trichogrammatidae). *Natureza On Line* (Espírito Santo), v. 9, p. 1-6.

SIEGFRIED, B. D.; SPENCER, T.; CRESPO, A. L.; STORER, N. P.; HEAD, G. P.; OWENS, E. D.; GUYER, D. Ten years of Bt resistance monitoring in the European corn borer: what we know, what we don't know, and what we can do better. *American Entomologist*, Baltimore, v. 53, p. 208-214, 2007.

TORRES, J.B.; RUBERSON, J.R. Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry 1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heretopteran. *Transgenic Research* 17: 345-354.2008.

Parâmetros biológicos de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de milho BT (MON 89034)

Maria Freire de Sousa; Marcos Gino Fernandes; Thiago Alexandre Mota; Carla Cristina Dutra; Elisson Floriano Tiago e Eder Alcebíades Alegre

RESUMO

Os parasitoides de ovos são parte do complexo de inimigos naturais que estão presentes no ambiente, sendo muitos deles utilizados no controle biológico de pragas como as espécies de Trichogramma (Hymenoptera, Trichogrammatidae). Os adultos desses insetos alimentam-se apenas de pólen e néctar que contribui para a melhoria dos aspectos biológicos. Sendo, assim este trabalho teve como principal objetivo avaliar o efeito do pólen de milho transgênico sobre o parasitoide Trichogramma pretiosum Riley, 1879 em ovos do hospedeiro alternativo Anagasta kuehniella (Zeller, 1879) (Lepidoptera, Pyralidae). O estudo foi conduzido em laboratório, sob condições de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 70% e fotofase de 14 horas. Para analisar os efeitos do pólen de milho transgênico, fêmeas recém emergidas de T.pretiosum foram individualizadas em microtubos tipo eppendorf, contendo uma gota de alimento de cada respectivo tratamento testado: pólen de milho Bt (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%), pólen de milho não Bt (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%) e solução de mel a 10% (controle). Entre os resultados encontrados verificaram-se níveis de parasitismo de 26% comprovando que a utilização de pólen de milho transgênico na alimentação do parasitoide não afeta a sua capacidade de parasitismo. Conclui-se, assim, que o pólen do milho Bt não influenciou as características biológicas analisadas do parasitoide.

Palavras chave: Biossegurança, transgênico, parasitoide de ovos, pólen de Bt, análise de risco

Introdução

O milho *Zea mays* L. é uma das culturas agrícolas mais importantes do mundo. O Brasil é o terceiro maior produtor de milho com uma área plantada de quase 15 milhões de hectares (Conab, 2012), sendo fonte de amido na alimentação humana e animal.

O complexo de pragas do milho é muito extenso, podendo se destacar a lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Bod., 1950), o percevejo-do-milho *Leptoglossus zonatus* (Dallas, 1952), a larva alfinete *Diabrotica speciosa* (Germ.,1824) e a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797), sendo essa a principal praga dessa cultura.(Cruz,2009).

Os parasitoides de ovos são parte do complexo de inimigos naturais que estão presentes no ambiente, sendo muitos deles utilizados no controle biológico de pragas como as espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). As espécies do gênero *Trichogramma* são as mais estudadas e utilizadas atualmente no mundo pela eficiência e fácil manutenção em laboratório (Parra & Zucchi, 2004). Esses parasitoides de ovos são importantes, pois impedem que seus hospedeiros principalmente lepidópteros, atinjam a fase larval na qual causam prejuízos a cultura (Olson & Andow , 2006).

Os parasitoides adultos se alimentam de pólen, néctar e exsudações diversas. O pólen de milho é uma importante fonte de recurso alimentar para os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* (Wang et al., 2007).

As plantas geneticamente modificadas (Bt) que apresentam resistência a insetos são obtidas através de uma modificação genética com a introdução de um gene obtido de uma bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* que produz uma proteína inseticida (Polanczyk et al.,2008).

A utilização de plantas geneticamente modificadas se tornou uma importante ferramenta no manejo integrado de pragas (MIP), o que tem fomentado discussões sobre os perigos que altas doses destas toxinas em tecidos vegetais podem representar. Existe a

possibilidade de que ocorram possíveis danos aos inimigos naturais, os quais desempenham importante papel na regulação das populações de herbívoros (Wu & Guo, 2003).

O milho transgênico que sintetiza as proteínas tóxicas Cry de *Bacillus thuringiensis* apresenta, teoricamente, um efeito inseticida limitado a algumas espécies alvo, principalmente insetos pragas da ordem lepidoptera tais como: a lagarta-elasma, *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller) (Lep.: Pyralidae); a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae); a lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae) entre outras. Porém, o pólen é um recurso alimentar utilizado por diversos insetos como predadores e parasitoides. Foram demonstrados efeitos deletérios em insetos da ordem Neuroptera (Hilbeck *et al.*, 1998; Dutton *et al.*, 2002).

Os insetos considerados não sensíveis tornam-se sensíveis quando ingerem insetos fitófagos nos quais as proteínas tóxicas se tornaram ativas. Estas toxinas podem ter efeitos negativos sobre predadores e parasitoides de diversos níveis tróficos (Dutton *et al.*, 2002; Harwood *et al.*, 2005; Obrist *et al.*, 2006; Schmidt *et al.*, 2009).

Os parasitoides podem ser afetados pelas plantas Bt de diversas maneiras: pela redução da qualidade ou morte prematura do hospedeiro que reduziria a sobrevivência larval e fecundidade do parasitoide; ao consumir os tecidos do hospedeiro e por não conseguir completar o seu desenvolvimento devido á morte prematura do hospedeiro. Os parasitoides adultos podem ser afetados ao se alimentarem de flores, seiva, pólen e néctar de plantas geneticamente modificadas contendo proteína Bt; por mudanças na emissão de compostos voláteis pela planta, o que pode interferir na localização hospedeira pelo parasitoide, por mudanças na composição e na emissão de compostos das fezes hospedeiras ou no “honeydew” excretado e, ainda, por mudanças no comportamento hospedeiro induzido pelas plantas transgênicas como aumento na movimentação, o que pode afetar o parasitismo (Schuler *et al.*, 1999).

Há vários trabalhos que citam os parasitoides do gênero *Trichogramma* e a bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* que são considerados importantes agentes de controle biológico amplamente utilizados em todo o mundo e os efeitos desta interação (Geng et al 2006; Wang et al 2007).

Portanto, é necessário o conhecimento sobre o comportamento de diferentes insetos em culturas transgênicas Bt, para que se tenham informações que contribuam com o entendimento de como esta tecnologia pode impactar os inimigos naturais. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do pólen de milho transgênico sobre a fecundidade, a longevidade e o parasitismo de *T. pretiosum*.

Material e Métodos

Origem dos insetos

Os parasitoides adultos de *T. pretiosum* utilizados no estudo foram provenientes de criação mantida em B.O. D sob temperatura constante de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de 70% e fotofase de 14 horas no Laboratório de Criação de Insetos (LCI) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados.

Ovos do hospedeiro

Foram utilizados ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) adquiridos junto à empresa BUG Agentes de Controle Biológico na quantidade de 6 g sendo que estes haviam sido inviabilizados. Os ovos utilizados não excediam 20 dias de armazenamento sendo sempre que possível utilizados ovos que estavam armazenados a 10 dias em temperatura de 4°C (Pratissoli et al, 2003).

Fonte de pólen

O pólen do milho para este estudo foi obtido a partir do milho transgênico Bt (MON 89034) expressando a proteína Cry1A105 e Cry2Ab2 e do milho convencional DKB177. O pólen do milho Bt e não Bt foi coletado diretamente das plantas de milho na Fazenda Experimental da UFGD. A área de plantio constou de 0,5 hectares cultivados sob sistema de plantio convencional, sem aplicação de inseticidas durante o período de coleta de pólen.

Para a coleta do pólen foram colocados sacos de papel no pendão da planta durante a antese que foram devidamente grampeados e recolhidos após 48h. Após a coleta dos sacos de papel contendo pólen, estes foram levados ao Laboratório de Criação de Insetos (LCI) onde foi peneirado e colocado em frascos plásticos para armazenamento em temperatura de 4° C segundo metodologia adaptada de (Wang et al. 2007).

Biotestes realizados

Foram feitas três combinações de tratamentos (dietas) sendo: pólen de milho Bt (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%), pólen de milho não Bt (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%) e solução de mel a 10% (controle), segundo metodologia adaptada de (Wang et al. 2007). Para cada tratamento foram utilizadas 30 fêmeas recém emergidas e acasaladas (entre 24 e 36 h de idade) individualizadas em microtubos tipo eppendorf de 4,5 cm e contendo uma cartela de (4,5 x 0,9 cm) com 30 ovos de *A. kuehniella* inviabilizados e uma gota da cada respectiva fonte alimentar. O parasitismo foi permitido por 24h e, depois disso, as fêmeas foram mortas e as cartelas com ovos parasitados transferidas para sacos plásticos (23 x 4 cm) fechados e mantidos em câmara climatizada a temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de 70% e fotofase de 14 horas, até a emergência dos descendentes.

Após a emergência dos descendentes, foi montado o experimento de longevidade dos mesmos, sendo utilizadas 30 fêmeas recém emergidas e acasaladas (entre 24 e 36h de idade) e

individualizadas em microtubos tipo eppendorf de 4,5 cm com uma gota de cada respectiva fonte alimentar.

As variáveis analisadas foram: duração do período de desenvolvimento ovo-adulto (duração do ciclo em dias); porcentagem de emergência (numero 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 vezes cem); 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) sexual sendo estas fêmeas sexadas de acordo com (Querino & Zucchi, 2011).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com trinta repetições consistindo três tratamentos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), utilizando-se o programa computacional ASSISTAT (Versão 7.6 Beta).

Resultados

O parasitismo de *T. pretiosum* não foi alterado de maneira significativa mediante o fornecimento de mel contendo pólen de milho Bt, sendo evidenciada porcentagem de parasitismo entre 23 e 26 %. (Tabela I).

A viabilidade do parasitismo alcançou valores superiores a 45% em todos os tratamentos, não havendo diferenciação entre eles. Os valores obtidos para a razão sexual também não diferiram entre os tratamentos analisados, com índices de 0,57 a 0,78. Em relação ao número de indivíduos por ovo não houve diferença significativa entre os tratamentos o que também ocorreu em relação à longevidade dos descendentes. (Tabela I).

Tabela I Parâmetros biológicos de *Trichogramma pretiosum* riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de milho Bt (MON 89034)

Tratamentos	Parasitismo (%)	Viabilidade do parasitismo (%)	Razão Sexual	Nº de Indivíduos / ovo	Longevidade (dias)
Mel + pólen de milho Bt	23,82 ± 4,05a	0,44 ± 0,37a	0,57 ± 0,08a	0,71 ± 0,09a	4,06 ± 0,49a
Mel+ pólen de milho convencional	26,10 ± 3,85a	0,41 ± 0,28a	0,76 ± 0,67a	0,81 ± 0,10a	4,26 ± 0,36a
Mel	26,54 ± 2,93a	0,47 ± 0,26a	0,78 ± 0,05a	0,94 ± 0,06a	4,20 ± 0,24a

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

Discussão

O fato do pólen de milho Bt não ter alterado os parâmetros biológicos estudados indica que os cultivos de milho transgênico não alteram a potencialidade de ação desse importante agente de controle sendo que os resultados apresentados neste trabalho corroboram para a ampliação de informações a este respeito.

A ausência de diferença na porcentagem de parasitismo entre os tratamentos nesta pesquisa corrobora com o estudo feito por Wang et al.(2007) os quais estudaram o efeito do pólen de plantas de milho, sobre fêmeas adultas de *Trichogramma ostrinae* Peng & Chen Esses autores não verificaram quaisquer alterações na longevidade, número de ovos parasitados, viabilidade e razão sexual dos parasitoides alimentados com solução de pólen oriundos de milho transgênico e não transgênico.

Geng et al.(2006), também constataram que *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen proveniente de algodão Bt não teve a sua capacidade de parasitismo reduzida nem a sua longevidade e razão sexual, assim como a longevidade de seus descendentes. Também não sofreram alterações quando os parasitoides adultos foram alimentados com pólen de algodão Bt.

A utilização de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos representam um tática adicional de controle em programas de manejo integrado de pragas em diversos agroecossistemas (Martinelli & Omoto, 2005). Nesse contexto, o presente trabalho demonstra que a utilização do milho Bt é compatível com o emprego de *T. pretiosum* no controle biológico, pois o milho Bt não afetou as características biológicas do parasitoide de ovos.

Conclusão

O consumo de pólen de milho transgênico não afetou as características biológicas (duração do período de desenvolvimento; porcentagem de emergência; número de ovos parasitados; porcentagem de parasitismo; número de adultos emergidos por ovo; longevidade das fêmeas e razão sexual) do parasitoide de ovos *T. pretiosum* que é um importante agente de controle biológico.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

Conab Companhia nacional de abastecimento (2012) Acompanhamento da safra brasileira: grão safra 2011 / 2012. Disponível em:

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_07_05_08_41_20_boletim_graos_-_10julho_2012.pdf. Acesso em Dez.2012

Cruz I (2009) Métodos de criação de agentes entomófagos de *Spodoptera frugiperda*. In: Bueno, V.H.P. Controle Biológico de Pragas: Produção Massal e Controle de Qualidade. Lavras: Ed. UFLA. p. 237-275.

Dutton A, Klein H, Romeis J & F Bigler (2002) Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology* 27: 441-447.

Geng J, H Shen, ZR, Song K, Zheng L (2006) Effect of pollen of regular cotton and transgenic Bt+CpTI cotton on the survival and reproduction of the parasitoid wasp *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the laboratory. *Environmental Entomology* 35:1661-1668.

Harwood J, Wallin W, Obrycki J (2005) Uptake of Bt endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. *Molecular Ecology*, 14, 2815-2823.

Hilbeck AM, Baumgartner PM, Fried & F Bigler (1998) Effects of transgenic Bt corn-feeding prey on immature development of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology* 27(2): 480-487.

Martinelli S, Omoto C (2005) Resistência de insetos a plantas geneticamente modificadas: relevância da implantação de estratégias proativas de manejo da resistência. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Uberlândia, v. 34, p. 67-77.

Obrist LB, Dutton A, Romeis J & J Bigler (2006) Biological activity of Cry1Ab toxin expressed by Bt maize following ingestion by herbivorous arthropods and exposure of the predator *Chrysoperla carnea*. *Biological Control*. 51: 31-48.

Olson DM, Andow DA (2006) Walking pattern of *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on various surfaces. *Biological Control* 39: 329-335.

Parra JRP, Zucchi RA (2004) *Trichogramma* no Brasil: viabilidade de uso após vinte anos de pesquisa. *Neotropical Entomology*, Londrina, v.33, n.3, p.271-282.

Pratissoli D, VU Rodrigues, Oliveira HN de, Pereira FF (2003) Efeito do armazenamento de ovos de *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) nas características biológicas de três espécies de *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae). *Revista Ceres*, Viçosa, v. 50, n.287, p. 95-105.

Polanczyk RA, FH Valicente, MR Barreto (2008) 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.

Querino RB, Zucchi RA (2011) Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil. 1º ed. Brasília, DF/Embrapa Informações Tecnológica. 103 p.

Schmidt J, Braun C, Whitehouse L, Hilbeck A (2009) Effects of activated Bt transgene products (Cry1Ab, Cry3Bb) on immature stages of the ladybird *Adalia bipunctata* in laboratory ecotoxicity testing. *Arch Environ Contam Toxicol*, 56, 221-228.

Schuler TH, Poppy GM, Kerry BR, Denholm I (1999) Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies. *Trends in Biotechnology*, v.17, p.210-216.

Wang ZY, WY Y, HE KL, Bal SX (2007) Effects of transgenic Bt maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostrinae* in laboratory conditions. *Bulletin of Insectology*, São Francisco, v.60, n. 1, p.49-55.

Wu K, M & Y, Y Guo (2003) Influences of *Bacillus thuringiensis* Berliner cotton planting on population dynamics of cotton Aphid, *Aphis gossypii* Glover, in northern China. *Environmental Entomology*. 32: 312-31.

Anexos

Instruções para envio do manuscrito á revista científica

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

- [Alcance y política](#)
- [Forma y preparación de manuscritos](#)
- [Artículos originales](#)

Guia para os Autores

INTERCIÊNCIA é uma revista multidisciplinar cujos temas prioritários são Agronomia e Bosques Tropicais, Alimentos e Nutrição, Ciências do Mar e da Terra, Educação Científica, Ecologia e Problemas Ambientais, Energia, Estudo e Sociologia da Ciência, Política Científica, Recursos Renováveis e Não Renováveis, Saúde e Demografia, Terras Áridas, Transferência de Tecnologia.

INTERCIÊNCIA publica Artigos, Dissertações e Comunicações originais, preferentemente nas áreas prioritárias da revista, escritos em idioma espanhol, inglês ou português. Também poderão publicar-se Cartas ao Diretor que tratem de temas de interesse ou comentem trabalhos de números já publicados.

O conteúdo das contribuições é da inteira responsabilidade dos autores, e de nenhuma maneira da revista ou das entidades para as quais trabalham os autores. Entende-se que o material enviado à INTERCIÊNCIA não foi publicado nem enviado a outros órgãos de difusão qualquer que seja seu tipo.

Artigos: São trabalhos originais de investigação, experimental ou teórica, ou revisões de um tema prioritário da revista, não previamente publicados e dirigidos a uma audiência culta, mas não especializada, e sua extensão terá um máximo de 25 folhas. Deverá incluir-se um resumo de até uma página com espaço duplo (250 palavras), assim como um breve curriculum vitae de até 8 linhas de cada um dos autores.

Dissertações: Tratarão de preferência sobre um tema prioritário da revista. Poderão ter uma extensão de até 25 folhas. Deverá incluir-se um resumo e curricula vitarum dos autores, com características similares a dos artigos.

Comunicações: São relatórios de resultados originais de investigações em qualquer campo das ciências básicas ou aplicadas, dirigidas a uma audiência especializada. Poderão ser de até 15 folhas (tamanho carta duplo espaço) e escritas em idioma inglês, espanhol ou português, ainda que se recomenda o uso do primeiro para facilitar a difusão dos resultados. Deverá incluir-se um resumo de aproximadamente meia folha (125 palavras).

Em todos os casos, tanto o título do trabalho como o resumo deverá ser enviado nos três idiomas da revista, se for possível, e serão incluídos até cinco palavras chaves. Todas as páginas, tamanho carta, deverão estar escritas com duplo espaço, com fonte 11 ou 12, e numeradas de forma consecutiva.

Tabelas e figuras: Deverão ser numeradas em números romanos e arábicos, respectivamente, ser legíveis, concisas e claras, e enviadas em folhas separadas. Os textos correspondentes serão incluídos ao final do trabalho.

Citações bibliográficas: As citações deverão ser feitas assinalando no texto o sobrenome do primeiro autor seguido pelo do segundo autor ou por *et al.* se é mais de dois autores, e o ano de publicação. Por exemplo: (Pérez, 1992), (Da Silva e González, 1993), (Smith *et al.*, 1994). As referências serão listadas ao final do artigo em ordem alfabética, e incluirão autores (assim: Rojas ER, Davis B, Gómez JC), ano de publicação em parêntese, título da obra ou trabalho citado, em itálicas o nome, volume da publicação e páginas. As comunicações pessoais irão só no texto, sem outra indicação que o nome completo do comunicador. As notas no texto, se houverem, irão ao final do trabalho, antes das referências.

Contribuição por página: Devido aos altos custos de produção INTERCIENCIA solicita dos autores agenciar na respetiva instituição uma contribuição por página. Tal possibilidade não condicionará de nenhuma maneira a aceitação e publicação do trabalho, o qual estará dado pelos méritos do mesmo. Nos casos de textos com extensão excessiva, figuras ou tabelas de tamanho excepcional, ou reproduções em cores, será estabelecido um montante a pagar.

zinhos e comunicações serão enviados a juizes externos para ser avaliados. Para facilitar a :
io enviar uma lista de seis possíveis juizes com seus respectivos endereços e, se possível,
lico. Os manuscritos deverão ser enviados por duplicado e, adicionalmente, em um disquete p
ndows, indicando a versão utilizada, a:

INTERCIENCIA Apartado Postal 51842, Caracas 1050-A, Venezuela. e-mail:
interciencia@ivic.ve; www.interciencia.org

[Home](#) [Acerca de esta revista](#) [Junta editorial](#) [Subscripción](#)

© 2002 INTERCIENCIA. Apartado 51842, Caracas 1050 A - Venezuela. Teléfonos: (58-212) 992-32-24; 991-75-25

Fax (58-212) 992-32-24. e-mail: interciencia@ivic.ve ó interciencia@revistainterciencia.org

www.interciencia.org