

Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD  
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

AVALIAÇÃO DA COMUNIDADE DE ARTRÓPODES DE SOLO EM MILHO  
GENETICAMENTE MODIFICADO MON 810 E MON 89034

Jean Carlo de Quadros

Dourados – MS

Fevereiro/2012

Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD  
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

AVALIAÇÃO DA COMUNIDADE DE ARTRÓPODES DE SOLO EM MILHO  
GENETICAMENTE MODIFICADO MON 810 E MON 89034

Jean Carlo de Quadros

Orientador: Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes

Dourados – MS

Fevereiro/2012

Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD  
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

AVALIAÇÃO DA COMUNIDADE DE ARTRÓPODES DE SOLO EM MILHO  
GENETICAMENTE MODIFICADO MON 810 E MON 89034

Jean Carlo de Quadros

Orientador: Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes

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

Dourados – MS

Fevereiro/2012

## Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD

595.2 Quadros, Jean Carlo de.  
Q974a Avaliação da comunidade de artrópodes de solo em milho geneticamente modificado MON 810 e MON 89034. / Jean Carlo de Quadros. – Dourados, MS : UFGD, 2012. 53p.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes  
Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados.

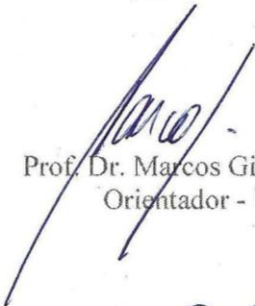
1. Fauna edáfica. 2. Transgênicos - Avaliação de risco. 3. Plantas transgênicas. 4. Milho Yieldgard. 5. Milho VTPRO. 6. Insetos de solo. I. Título.

“Avaliação da comunidade de artrópodes de solo em milho geneticamente modificado MON 810 e MON 89034”

Por

**JEAN CARLO DE QUADROS**


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: Entomologia



Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes  
Orientador - UFGD



Dr. André Luís Faleiros Lourenção  
Membro Titular – Fundação MS



Prof. Dr. Fabrício Fagundes Pereira  
Membro Titular – UFGD

Aprovado em: 28 de Fevereiro de 2012

Aos meus queridos e amados pais e avós **Vanderlei e Rita de Quadros** e **José e Irene de Quadros** pelo apoio, amor incondicional por sempre acreditarem e incentivarem a realização dos meus sonhos.

## Dedico

À minha irmã **Katherine** pelo amor fraternal, preocupação e carinho mesmo com a grande distância.

À minha namorada **Darlene Gris** pela ajuda, incentivo, companheirismo e, principalmente, paciência.

## Ofereço

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), à Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela oportunidade de realização deste trabalho e pela concessão de bolsa durante o período de realização do Mestrado.

Ao Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes, exemplo pessoal e profissional, por sua orientação, confiança, paciência e fé na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Fabrício Fagundes Pereira e Josué Raizer pela amizade, incentivos e ensinamentos durante a realização do mestrado. Pela experiência adquirida, tanto na Universidade, quanto fora dela.

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, pelo conhecimento transmitido durante as disciplinas e todo o Mestrado.

Aos meus companheiros de Mestrado: Elaine Cristina Corrêa, Marina de Resende Antigo, Marciel Elio Rodrigues, Tiago Auko, Carolina Santos Pereira Cardoso Trindade, Letícia Laura Bavuti, Lívia Simioni, Luiz Carlos dos Santos Junior, Rosália Azambuja, Jaqueline Ferreira Campos, Eduardo Kenji Hayashida, Miriam Silvéria, Márcio Carneiro e Mateus Nucci, pelo companheirismo, amizade, palavras de incentivo.

Aos meus irmãos de orientador: Thiago Mota, Carla Cristina Dutra e Paulo Beltramin, por toda a amizade e ajuda na execução do trabalho em todas as suas instâncias.

A todos os Motoristas da Divisão de Transporte da UFGD, em especial ao Sr. Carlos Paulino Ramos, sempre solícito com os nossos pedidos, mesmo que às vezes em cima da hora.

Aos funcionários da Fazenda Experimental da UFGD, principalmente aos Srs. Jesus Felizardo de Souza e Milton Bernardo de Lima, pelo cuidado com as áreas experimentais e ajuda durante a realização dos trabalhos.

À Sementes Guerra, na pessoa do Sr. Cláudio Guerra, pela liberação das áreas experimentais e condução da cultura durante a realização do trabalho.

Ao secretário da Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade Manfredo Rode Júnior, pelo convívio e amizade.

À minha família por me apoiar em mais esta etapa da minha vida e por entender minha ausência momentânea.

Aos meus amigos que mesmo a distância me incentivaram a continuar trilhando este caminho: Dhyego e Thyago Thomazoni, Marina Formentini, Luis Paulo Calixto Marchese, Leonardo Martinello e Danielle Thomazoni que muito contribuiu para o amadurecimento deste trabalho.

Em especial à minha namorada Darlene Gris, por sua paciência, companheirismo, palavras de conforto e apoio nas horas difíceis, pelo riso e sua companhia e, principalmente, por estar sempre ao meu lado.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta Dissertação e eu tenha cometido a injustiça de não citar, meus sinceros agradecimentos.



## SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2.CAPÍTULO 1.....	3
REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1.Cultivo do milho .....	3
2.2.Plantas geneticamente modificadas resistentes/tolerantes a insetos .....	3
2.3.Efeito das plantas geneticamente modificadas sobre a população de insetos .....	5
2.4.Efeito sobre inimigos naturais .....	6
2.4.1.Predadores.....	6
2.4.2.Parasitoides .....	7
2.4.3.Polinizadores.....	8
2.4.4.Decompositores.....	9
3.REFERÊNCIAS.....	10
4.CAPITULO 2.....	17
Avaliação da comunidade de artrópodes de solo em milho geneticamente modificado MON 810 (Cry 1Ab) e MON 89034 (Cry1A.105 + Cry2Ab2) .....	17
RESUMO .....	18
ABSTRACT .....	19
INTRODUÇÃO .....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
CONCLUSÃO.....	35
AGRADECIMENTOS.....	35
REFERÊNCIAS .....	36
ANEXOS.....	40
Neotropical Entomology .....	40
Instructions for Authors .....	40

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho do mundo, com 56.337 mil toneladas do grão. Seu cultivo é realizado em quase todas as regiões produtoras do país, tanto em pequenas propriedades onde é produzido de forma quase artesanal em caráter de subsistência, até grandes propriedades onde se emprega o uso de alta tecnologia, obtendo grande produtividade, sendo seu produto destinado principalmente para a agroindústria e exportação.

Ocupando posição de destaque na produção mundial de milho, o Brasil apresenta um rendimento muito abaixo dos dois primeiros colocados, Estados Unidos e China. Dentre os fatores responsáveis por esse baixo rendimento incluem-se os insetos praga, que são responsáveis por grandes perdas na produção nacional causando limitação na produção do milho.

Uma das alternativas para o controle de algumas pragas existentes na cultura é a utilização de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos, que possuem ação inseticida. A maioria destas plantas resistentes a insetos expressa genes derivados da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner), uma bactéria cosmopolita, encontrada em vários substratos como solo, água, superfície de plantas, insetos mortos, teias de aranha e grãos armazenados, de conhecida ação inseticida.

A primeira geração de culturas geneticamente modificadas resistente a insetos expressava proteínas Cry simples (Cry1A) com específica atividade contra lepidópteros. Para ampliar o espectro de proteção e atrasar a evolução da resistência das pragas as toxinas de *B. thuringiensis*, outras toxinas, como Cry1F, Cry2A foram adicionados à lista de características comercializadas conferindo maior proteção ao cultivo.

Os cultivos geneticamente modificados resistentes a insetos não só fornecem uma alternativa eficaz para o controle de insetos pragas, mas também proporcionam benefícios sociais, ambientais e econômicos, tais como a redução do uso de inseticidas químicos, beneficiando o ambiente e a saúde humana. Apesar dos evidentes benefícios, como acontece com qualquer nova tecnologia, existem dúvidas sobre os potenciais riscos que as plantas transgênicas podem ter sobre o meio ambiente. Uma das principais preocupações ecológicas, quanto ao risco ambiental desta tecnologia, são seus potenciais efeitos sobre organismos não-alvo existentes na cultura.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos genótipos de milho geneticamente modificado (Yieldgard<sup>®</sup> e VTPRO<sup>®</sup>) sobre os artrópodes de solo associados ao cultivo em comparação com um híbrido convencional.

Esta dissertação foi dividida em dois capítulos; o primeiro capítulo foi composto por uma Revisão de Literatura sobre o cultivo de milho transgênico resistente a insetos e seus potenciais efeitos sobre os insetos não-alvo da tecnologia. O segundo capítulo foi composto pelo artigo científico intitulado: “Avaliação da comunidade de artrópodes de solo em milho geneticamente modificado MON 810 (Cry 1Ab) e MON 89034 (Cry1A.105 + Cry2Ab2)”. O objetivo deste artigo foi analisar o efeito dos genótipos de milho geneticamente modificado Yieldgard<sup>®</sup> e VTPRO<sup>®</sup> sobre os artrópodes de solo associados ao cultivo em comparação com um híbrido convencional, utilizando-se de armadilhas do tipo “pitfall” para a amostragem dos insetos.

## 2.CAPÍTULO 1

### REVISÃO DE LITERATURA

#### **2.1.Cultivo do milho**

O milho (*Zea mays* L.) é uma das fontes mais importantes de alimentos no mundo e matéria-prima básica para a produção de diversos outros tipos de alimento. É o terceiro cereal mais cultivado no mundo, superado pelo trigo e arroz. Devido a sua multiplicidade de aplicações na alimentação humana ou animal, ele desempenha um importante papel social e econômico, sendo matéria-prima impulsionadora de diversificados complexos agro-industriais (GUIMARÃES *et al.*, 2005).

Com o aumento da demanda mundial nos últimos anos, impulsionada pelo crescimento econômico dos países asiáticos e a utilização do milho nos Estados Unidos para a produção de etanol, a produção brasileira tem aumentado a cada ano.

O Brasil apresentou na safra 2010/11 uma área total cultivada de aproximadamente 13.600 mil hectares, com produção de 56.337,4 mil toneladas (CONAB, 2011). Desde 2001 o Brasil destaca-se como importante produtor de milho, ocupando em 2010 a terceira posição na produção mundial da cultura (FAO, 2012).

Apesar de ser o terceiro maior produtor de milho do mundo, o Brasil apresenta um rendimento muito abaixo dos dois primeiros colocados. A baixa produtividade do milho no Brasil em relação aos Estados Unidos e China, devido ao ataque de insetos-praga e somados aos problemas logísticos, são responsáveis pelas perdas na produção nacional. Fernandes *et al.* (2003) relataram perdas de até 38,7% da produção promovidas por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith).

Para tanto uma das alternativas para o manejo desse e de outros lepidópteros praga da cultura é a utilização de plantas geneticamente modificadas. Estas possuem ação inseticida, pois produzem proteínas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) conferindo à planta uma condição de resistência a algumas espécies de lepidópteros (BETZ *et al.*, 2000).

#### **2.2.Plantas geneticamente modificadas resistentes/tolerantes a insetos**

O melhoramento genético contribuiu com o sistema agrícola com a produção de cultivares mais adequados as condições tropicais. Assim como melhorias na produção e

resistência a patógenos e a insetos, usando o melhoramento clássico. Entretanto, o melhoramento genético atual também utiliza técnicas de engenharia genética (KENNEDY, 2008).

A engenharia genética desenvolveu técnicas que permitiram o desenvolvimento das plantas geneticamente modificadas. O Brasil encontra-se na segunda posição em termos de área cultivada, com 30 milhões de hectares plantados. Sendo a soja, o milho, o algodão e a canola as principais culturas. A área de milho geneticamente modificado no mundo chega próximo aos 51 milhões de hectares (JAMES, 2011). Em 2011 a área mundial cultivada com plantas geneticamente modificadas foi de 160 milhões de hectares, com um crescimento de 8% em relação ao ano anterior.

As plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos expressam genes derivados da bactéria *B. thuringiensis*, mas existem também as que expressam lectinas, inibidores de  $\alpha$ -amilase, inibidores de proteinases, proteínas inseticidas vegetais, quitinases, peroxidases, entre outras (CAROZZI E KOZIEL, 1997). A primeira geração de culturas transgênicas expressava proteínas Cry simples (Cry1A) com específica atividade contra lepidópteros. Para ampliar o espectro de proteção e atrasar a evolução da resistência das pragas ao Bt, outras toxinas Bt, tais como Cry1F, Cry2A foram adicionados à lista de características comercializadas (MALONE, 2008).

*B. thuringiensis* é uma bactéria cosmopolita (KRYWUNCZYK E FAST, 1980), ocorre no solo, água, superfície de plantas, insetos mortos, teias de aranha e grãos armazenados (BRAVO *et al.*, 1998). É uma bactéria gram-positiva e aeróbica, podendo facultativamente crescer em anaerobiose, dentro da faixa de 10 a 40°C. A atividade entomopatogênica desta bactéria se deve à presença de inclusões protéicas cristalinas, produzidas durante a fase de esporulação. Esses cristais compostos por proteínas denominadas endotoxinas ou proteínas cristal, apresentam ação altamente específica e tóxica para larvas de insetos das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera (BRAVO *et al.*, 1998; MONNERAT E BRAVO, 2000).

Os cristais produzidos por *B. thuringiensis* ao serem ingeridos por larvas de insetos suscetíveis são solubilizados no intestino médio, liberando uma ou mais proteínas chamadas de proteínas Cry ou endotoxinas. O mesêntero das larvas dos insetos-alvo apresenta pH elevado, em torno de 9,5, promovendo a dissolução da maioria das pró-toxinas da bactéria, provocando lesões no epitélio intestinal dos insetos, iniciando o processo de destruição tecidual, a toxicidade causa paralisia muscular e morte do inseto (BOBROWSKI *et al.*, 2003).

Os cultivos geneticamente modificados resistente a insetos são eficazes para o controle de insetos (WU *et al.*, 2008), e proporcionam benefícios sociais, ambientais e econômicos (WANG, 2007; CHOUDHARY & GAUR, 2010; HUANG *et al.*, 2010; HUTCHINSON *et al.*, 2010; TABASHNIK, 2010).

A biotecnologia para o controle de insetos praga apresenta evidentes benefícios, mesmo assim gera dúvidas sobre os potenciais riscos que as plantas transgênicas podem oferecer ao ambiente. Uma das principais preocupações ecológicas, quanto ao risco ambiental das plantas geneticamente modificadas resistente/tolerante a insetos são seus potenciais efeitos sobre organismos não-alvo existentes nas culturas (ROMEIS *et al.*, 2008).

Desta forma, muitos estudos têm monitorado o possível impacto das culturas transgênicas resistentes a insetos sobre organismos não-alvo, inimigos naturais, polinizadores, microorganismos e mamíferos, como relatado por Yu, Li & Wu (2011). Para garantir que os cultivos transgênicos sejam ambientalmente seguros em longo prazo, exames desta tática de manejo de pragas devem ocorrer como naturalmente ocorrem para outros tipos de manejo (CANNON, 2000).

### **2.3.Efeito das plantas geneticamente modificadas sobre a população de insetos**

Para que uma planta transgênica seja considerada efetivamente uma tecnologia e possa integrar-se ao agroecossistema, há a necessidade de que ela não represente risco ambiental e à saúde, condição essencial para a comercialização da mesma sem restrições (FONTES & MELO, 1999). A avaliação dos efeitos potenciais dos organismos geneticamente modificados resistentes a insetos, inclui duas fases, ou seja, avaliação de risco pré-comercialização, que é realizada antes da liberação e comercialização por uma produtora de sementes, e monitoramento pós-comercialização, que é realizada após a venda e plantio comercial (SANVIDO *et al.*, 2009).

A aprovação para o cultivo comercial de um organismo transgênico baseia-se na avaliação de pré-comercialização, onde os potenciais efeitos adversos das plantas geneticamente modificadas (GM) sobre o meio ambiente são avaliados caso a caso. Portanto, uma planta GM, em princípio, só é aprovada para lançamento após esta avaliação. No entanto, somente a avaliação pré-comercial não sana completamente todas as incertezas (SANVIDO *et al.*, 2005). Subsequentemente, o monitoramento pós-comercialização deve ser realizado para

lidar com as incertezas científicas inerentes à análise de risco na fase de pré-comercialização antes do lançamento em grande escala da planta GM para o mercado.

Apesar do efeito das plantas geneticamente modificadas sobre organismos não-alvo já ter sido objeto de vários estudos, poucos estudos têm avaliado o efeito sobre a biodiversidade e a comunidade de insetos (LOZZIA, 1999; AMMANN, 2005; DIVELY, 2005).

## **2.4.Efeito sobre inimigos naturais**

O efeito das plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos sobre predadores e parasitoides tem sido extensamente avaliado, com a maioria dos estudos utilizando interações tritróficas, incluindo plantas, herbívoros e inimigos naturais.

Os possíveis efeitos das plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos nos inimigos naturais dependem de vários fatores, como, o nível de resistência da planta, a especificidade da proteína expressa, em quais tecidos esta proteína será expressa e por quanto tempo, e o manejo da cultura (aplicação de inseticidas e herbicidas) (SCHULER, 2000), além dos efeitos da planta sobre a sua biologia e comportamento.

### **2.4.1.Predadores**

Efeitos adversos na sobrevivência das larvas, taxa de consumo e massa corporal de predadores, só foram relatados em estudos onde insetos suscetíveis a Bt eram utilizados como presas (CHEN *et al.*, 2009; LAWO *et al.*, 2010). Nenhum efeito foi detectado quando insetos não suscetíveis ou mesmo afetados subletalmente, foram utilizados como presas (DAVIDSON *et al.*, 2006; OBRIST *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2006; ÁLVAREZ-ALFAGEME *et al.*, 2008; LEWANDOWSKI e GÓRECKA, 2008; ÁLVAREZ-ALFAGEME *et al.*, 2009; MEISSLE & ROMEIS, 2009; GARCIA *et al.*, 2010; LI & ROMEIS, 2010). Da mesma forma, efeitos negativos não foram encontrados quando os predadores foram alimentados diretamente com tecidos vegetais Bt (por exemplo, o pólen do milho) (FERRY *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2008; DUAN *et al.*, 2008; MEISSLE & ROMEIS, 2009).

A maioria das espécies de predadores são de vida livre, com grande mobilidade, tanto na fase larval quanto na adulta, sendo geralmente menos afetados pela redução na abundância de uma espécie de presa em particular pela sua grande gama de hospedeiros (SCHULER, 1999).

Porém, quando os predadores são especialistas sua densidade no local pode ser afetada, pois quando a sua presa se encontra em baixa densidade, ele se desloca em busca de outros campos de forrageio, enquanto o predador generalista se alimenta das presas existentes no local. Riddick *et al.*, (1998) verificaram que *Lebia grandis* (Hentz), predador especialista, foi menos abundante que *Coleomegilla maculata* (De Geer), predador generalista, em campos contendo somente batata transgênica e em campos com mistura de sementes.

Outros insetos predadores foram examinados em vários estudos. A longevidade de *Geocoris punctipes* (Say), *Geocoris pallens* (Stal), *Orius tristicolor* (White), *Nabis* spp, e *Lygus hesperus* (Knight), coletados em culturas transgênicas foi avaliada por Armer *et al.* (2000) e Ponsard *et al.* (2002) não sendo encontrados efeitos negativos.

Além disso, estudos de alimentação de predadores com concentrações elevadas de proteínas Cry purificadas revelou nenhuma toxicidade direta para *Chrysoperla carnea* (Stephen) (LI *et al.*, 2008), *Adalia bipunctata* (Linnaeus) (ÁLVAREZ-ALFAGEME *et al.*, 2011), ou *Orius insidiosus* (Say) (DUAN *et al.*, 2008).

Estes resultados, juntamente com dados anteriores demonstram que os efeitos negativos observados, na verdade, eram uma consequência da baixa qualidade nutricional da presa decorrente da ingestão de toxinas produzidas pelas plantas, e não causada por toxicidade direta (ROMEIS *et al.*, 2006).

#### **2.4.2.Parasitoides**

O modo mais óbvio que as plantas geneticamente modificadas podem afetar os parasitoides é pela baixa densidade de hospedeiros, especialmente quando o hospedeiro é uma espécie alvo da planta transgênica.

Os parasitoides em suas formas larvais podem ser afetados pela redução na qualidade do hospedeiro, reduzindo a sobrevivência larval e a fecundidade do parasitoide, uma vez que o hospedeiro tem uma morte prematura. Já os adultos podem ser afetados ao se alimentarem de flores, seiva, néctar ou pólen da plantas geneticamente modificadas contendo proteínas Bt.

Os efeitos adversos de culturas transgênicas sobre a sobrevivência, o desenvolvimento, e reprodução de algumas espécies de parasitoides foram observadas quando herbívoros sensíveis a Bt foram utilizados como hospedeiros em vários estudos (LIU *et al.*, 2005; VOJTECH *et al.*, 2005; ROMEIS *et al.*, 2006; RAMIREZ-ROMERO *et al.*, 2007; SANDERS



*et al.*, 2007). Da mesma forma, foi confirmado que os efeitos deletérios observado em parasitoides ocorreram devido à menor qualidade de hospedeiros causada pela ingestão das toxinas e não a toxicidade direta (DAVIDSON *et al.*, 2006; WANG, 2007; KIM *et al.*, 2008).

Como parasitoides possuem relações estreitas com seus hospedeiros, eles são mais propensos que predadores a sofrer impactos negativos das culturas transgênicas (ROMEIS *et al.*, 2006).

Estudos similares em laboratório ou estufas e pesquisas de campo não encontraram efeitos negativos convincentes sobre a densidade populacional, abundância, riqueza de espécies e diversidade de inimigos naturais quando algodão ou milho Bt foram cultivados (LOPEZ *et al.*, 2005; ROMEIS *et al.*, 2006; CHEN *et al.*, 2009; BALOG *et al.*, 2010).

Naranjo *et al.* (2005) detectou pequenas alterações na abundância de algumas espécies de inimigos naturais que ocorrem no cultivo de milho e algodão Bt, sendo essas alterações explicadas por mudanças esperadas nas populações de pragas alvo. Uma meta-análise sugeriu que não houve efeito uniforme em algodão, milho e batata transgênica nas guildas funcionais de artrópodes não-alvo, por outro lado, os efeitos de inseticidas foram muito maiores que aqueles de culturas Bt (WOLFENBARGER *et al.*, 2008).

### **2.4.3. Polinizadores**

Polinizadores desempenham um papel funcional importante na maioria dos ecossistemas terrestres. Como as plantas geneticamente modificadas expressam as proteínas Bt em todos os tecidos da planta, elas podem ser expressas no pólen e néctar das plantas. Portanto, uma das preocupações seria sobre o possível efeito do pólen transgênico sobre os imaturos e adultos dos polinizadores.

Como polinizadoras mais abundantes e difundidas no mundo, as abelhas produtoras de mel chamaram muita atenção e foram usadas como indicadores para os cultivos Bt nos estudos de avaliação de risco pré-comercialização (EPA 2001).

Testes de alimentação com pólen de plantas Bt têm sido realizados em abelhas produtoras de mel, e nenhum efeito foi observado em sua longevidade, alimentação e comportamento de aprendizagem, bem como, desenvolvimento da glândula hipofaríngea e da comunidade de bactérias intestinais (BAILEY *et al.*, 2005; BABENDREIER *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2005; ROSE *et al.*, 2007; HOFST *et al.*, 2008; LIU *et al.*, 2009).

Uma meta-análise de 25 estudos independentes sugeriu que as proteínas Bt usadas nos transgênicos para controlar lepidópteros e coleópteros praga não afeta negativamente a sobrevivência de larvas ou adultos de abelhas (DUAN *et al.*, 2008).

Rose *et al.* (2007) e Hofs *et al.* (2008) não detectaram efeito negativo na abundância, diversidade, atividade da colônia e desenvolvimento de abelhas em pesquisas de campo.

#### **2.4.4. Decompositores**

A introdução no solo de toxinas Bt provenientes de plantas transgênicas pode acontecer, basicamente, de três maneiras: depósito de pólen durante a antese; exsudatos da raiz; e por resíduos vegetais pós-colheita (HECKMANN *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2007; VAUFLEURY *et al.*, 2007; ZWAHLEN *et al.*, 2007). Como as proteínas expressadas pelas plantas geneticamente modificadas podem manter-se ativas no solo por um longo período de tempo, o grupo dos decompositores poderia ser afetado pelas toxinas Bt.

Estudos demonstram que os exsudatos de raízes de milho contendo a toxina Bt ligam-se as partículas do solo mantendo sua atividade inseticida, o que afetaria os artrópodes não-alvo existentes no solo (PALM *et al.*, 1996; DAUDU *et al.*, 2009, SAXENA *et al.*, 2010). Apesar de sua persistência no solo, segundo Head *et al.* (2002) a quantidade de proteínas Cry acumulada é extremamente baixa mesmo após seis anos de plantio.

O efeito das culturas Bt em macrorganismos de solo, incluindo ácaros, collembolas e minhocas, tem sido estudado. Em geral, experimentos em laboratório e campo não encontraram efeitos tóxicos de proteínas Cry em macrorganismos de solo (AHMAD *et al.*, 2005; HECKMANN *et al.*, 2006; VERCESI *et al.*, 2006; ZWAHLEN *et al.*, 2007; HÖNEMANN *et al.*, 2008; BAI *et al.*, 2010).

## 3.REFERÊNCIAS

- AHMAD, A.; WILDE, G. E.; ZHU, K. Y. Delectability of coleopteran specific Cry3Bb1 protein in soil and its effect on non-target surface and below-ground arthropods. *Environmental Entomology*, v. 34, p. 385–394, 2005.
- ÁLVAREZ-ALFAGEME, F.; FERRY, N.; CASTAÑERA, P.; ORTEGO, F.; GATEHOUSE, A. M. R. Prey mediated effects of Bt maize on fitness and digestive physiology of the red spider mite predator *Stethorus punctillum* Weise (Coleoptera: Coccinellidae). *Transgenic Research*, v. 17, p. 943–954, 2008.
- ÁLVAREZ-ALFAGEME, F.; ORTEGO, F.; CASTAÑERA, P. Bt maize fed-prey mediated effect on fitness and digestive physiology of the ground predator *Poecilus cupreus* L. (Coleoptera: Carabidae). *Journal of Insect Physiology*, v.55, p. 144–150, 2009.
- ÁLVAREZ-ALFAGEME, F.; BIGLER, F.; ROMEIS, J. Laboratory toxicity studies demonstrate no adverse effects of Cry1Ab and Cry3Bb1 to larvae of *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae): The importance of study design. *Transgenic Research*, v. 20, p. 467–479, 2011.
- AMMANN, A. Effects of biotechnology on biodiversity: herbicide-tolerant and insect-resistant GM crops. *Trends in Biotechnology*, v.23, p. 388-394, 2005.
- ARMER, C. A.; BERRY, R. E.; KOGAN, M. Longevity of phytophagous heteropteran predators feeding on transgenic Bt-potato plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 95, n.3, p. 329-333, 2000.
- BABENDREIER, D.; KALBERER, N. M.; ROMEIS, J.; FLURI, P.; MULLIGAN, E.; BIGLER, F. Influence of Bt transgenic pollen, Bt-toxin and protease inhibitor (SBTI) ingestion on development of the hypopharyngeal glands in honeybees. *Apidologie*, v. 36, p. 585-594, 2005.
- BAI, Y. Y.; YAN, R. H.; YE, G. Y.; HUANG, F. N.; CHENG, J. A. Effects of transgenic rice expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab protein on ground-dwelling collembolan community in postharvest seasons. *Environmental Entomology*, v. 39, p. 243–251, 2010.
- BAILEY, J.; SCOTT DUPREE, C.; HARRIS, R.; TOLMAN, J.; HARRIS, B. Contact and oral toxicity to honey bees in Ontario, Canada. *Apidologie*, v. 36, p. 623–633, 2005.
- BALOG, A.; KISS, J.; SZEKERES, D.; SZÉNÁSI, Á.; MARKÓD, V. Rove beetle (Coleoptera: Staphylinidae) communities in transgenic Bt (MON810) and near isogenic maize. *Crop Protection*, v. 29, p. 567–571, 2010.
- BETZ, F. S.; HAMMOND, B. G.; FUCHS, R. L. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis* -protected plants to control insect pests. *Regulatory, Toxicology and Pharmacology*, v.32, p.156-173, 2000.

BOBOROWSKI, V. L.; FIUZA, L. M.; PASQUALI, G.; ZANETTINI, M. H. B. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. *Ciência Rural*, v.34, n.1, p.843-850, 2003.

BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS H.; ABARCA, C.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; LINA, L.; VILLA-LOBOS, F. J.; GUADALUPE, P.; NUNEZ- CANNON, R. J. C. Bt transgenic crops: risk and benefits. *Integrated Pest Management Reviews*, v. 5, n. 3, p. 151–173, 2000.

CAROZZI, N.; KOZIEL, M. *Advances in insect control*. London: Taylor & Francis, 1997. 301 p.

CHEN, M.; YE, G. Y.; LIU, Z. C.; FANG, Q.; HU, C.; PENG, Y. F.; SHELTON, A. M. Analysis of Cry1Ab toxin bioaccumulation in a food chain of Bt rice, an herbivore and a predator. *Exotoxicology*, v. 18, p. 230–238, 2009.

CHOUDHARY, B.; GAUR, K. *Bt Cotton in India: A Country Profile*. ISAAA Series of Biotech Crop Profiles. ISAAA: Ithaca, NY. 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo primeiro levantamento, agosto 2011. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2011.

DAUDU, C. K.; MUCHAONYERWA, P.; MNKENI, P. N. S. Litterbag decomposition of genetically modified maize residues and their constituent *Bacillus thuringiensis* protein (Cry1Ab) under field conditions in the central region of the Eastern Cape, South Africa. *Agriculture Ecosystems & Environment*, v. 134, p. 153–158, 2009.

DAVIDSON, M. M.; BUTLER, R. C.; WRATTEN, S. D.; CONNER, A. J. Impacts of insect-resistant transgenic potatoes on the survival and fecundity of a parasitoid and an insect predator. *Biological Control* **37**, 224–230. 2006.

DICKSON, L. L.; WHITHAM, T. G. Genetically-based plant resistance traits affect arthropods, fungi, and birds. *Oecologia*, v. 106, p. 400-406, 1996.

DIVELY, G. P. Impact of Transgenic VIP3A × Cry1Ab Lepidopteran-resistant Field Corn on the Nontarget Arthropod Community. *Environmental Entomology*, v. 34, n. 5, p. 1267-1291, 2005.

DUAN, J. J.; TEIXEIRA, D.; HUESING, J. E.; JIANG, C. J. Assessing the risk to non-target organisms from Bt corn resistant to corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae): Tier-I testing with *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Environmental Entomology*, v. 37, p. 838–844, 2008.

EPA. *Biopesticides Registration Action Document - Bacillus thuringiensis Plant-incorporated Protectants*. Environmental Protection Agency, US, Washington. 481 p., 2001.

FAO. FAOSTAT. Disponível em < <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 15 de Janeiro de 2012.

FERNANDES, O. D. Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) em *Spodoptera Frugiperda* (J.E. Smith, 1797) no parasitoide de ovos de *Trichogramma spp.* Tese de Doutorado, ESALQ/USP. Piracicaba, SP.. 164p. 2003.

FERRY, N.; MULLIGAN, E. A.; MAJERUS, M. E. N.; GATEHOUSE, A. M. R. Bitrophic and tritrophic effects of Bt Cry3A transgenic potato on beneficial, non-target, beetles. *Transgenic Research*, v. 16, p. 795–812, 2007.

FONTES, E. M. G.; MELO, P. E. Avaliação de riscos na introdução no ambiente de plantas transgênicas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.) *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, v.2, p. 815-843, 1999.

GARCÍA, M.; ORTEGO, F.; CASTAÑERA, P.; FARINÓS, G. P. Effects of exposure to the toxin Cry1Ab through Bt maize fed-prey on the performance and digestive physiology of the predatory rove beetle *Atheta coriaria*. *Biological Control*, v. 55, p. 225–233, 2010.

GUIMARÃES, V.; CANZIANI, J. R. F.; WATANABE, M. Cadeia produtiva do milho. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 108 p. 2005.

HEAD, G.; SURBER, J. B.; WATSON, J. A.; MARTIN, J. W.; DUAN, J. J. No detection of Cry1Ac protein in soil after multiple years of transgenic Bt cotton (Bollgard) use. *Environmental Entomology*, v. 31, n. 1, p.30-36, 2002.

HECKMANN, L. H.; GRIFFITHS, B. S.; CAUL, S.; THOMPSON, J.; PUSZTAI-CAREY, M.; MOAR, W. J.; ANDERSEN, M. N.; KORGH, P. H. Consequences for *Protaphorura armata* (Collembola: Onychiuridae) following exposure to genetically modified *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize and non-Bt maize. *Environmental Pollution*, v. 142, p. 212–216, 2006.

HOFES, J. L.; SCHOEMAN, A. S.; PIERRE, J. Diversity and abundance of flower-visiting insects in Bt and non-Bt cotton fields of Maputaland (KwaZulu Natal Province, South Africa). *International Journal of Tropical Insect Science*, v. 28, p. 211–219, 2008.

HÖNEMANN, L.; ZURBRÜGG, C.; NENTWIG, W. Effects of Bt-corn decomposition on the composition of the soil meso and macrofauna. *Applied Soil Ecology*, v. 40, p. 203–209, 2008.

HUANG, J. K.; MI, J. W.; LIN, H.; WANG, Z. J.; CHEN, R. J.; HU, R. F.; ROZELLE, S.; PRAY, C. A decade of Bt cotton in Chinese fields: Assessing the direct effects and indirect externalities of Bt cotton adoption in China. *Science China Life Sciences*, v.53, n. 8, p. 981-991, 2010.

HUTCHISON, W. D.; BURKNESS, E. C.; MITCHELL, P. D.; MOON, R. D.; LESLIE, T. W.; FLEISCHER, S. J.; ABRAHAMSON, M.; HAMILTON, K. L.; STEFFEY, K. L.; GRAY, M. E.; HELLMICH, R. L.; KASTER, L. V.; HUNT, T. E.; WRIGHT, R. J.; PECINOVSKY, K.; RABAEY, T. L.; FLOOD, B. R.; RAUN, E. S. Area wide suppression of European corn borer with Bt maize reaps savings to non-Bt maize growers. *Science*, v. 330, n. 6001, p. 222–225, 2010.

JAMES, C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011. ISAAA *Brief* n. 43. ISAAA: Ithaca, NY. 2011.

KENNEDY, G. G. Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs. In: ROMEIS, J.; SHELTON, A. M.; KENNEDY, G. G. (eds) *Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops With IPM Programs*. Berlin, Germany: Springer, 2008.

KIM, Y. H.; KANG, J. S.; KIM, J. I.; KWON, M.; LEE, S.; CHO, H. S.; LEE, S. H. Effects of Bt transgenic Chinese cabbage on the herbivore *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoid *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 101, p. 1134–1139, 2008.

KRYWUNCZYK, J.; FAST, P. G. Sorological relationships of the crystal of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, San Diego, US, v. 36, p. 139-140, 1980.

LAWO, N. C.; WÄCKERS, F. L.; ROMEIS, J. Characterizing indirect prey quality mediated effects of a Bt crop on predatory larvae of the green lacewing, *Chrysoperla carnea*. *Journal of Insect Physiology*, v. 56, p. 1702–1710, 2010.

LEWANDOWSKI, A.; GÓRECKA, J. Effect of transgenic maize MON810 on selected non-target organisms: The bird cherry-ort aphid (*Rhopalosiphum padi* L.) and its predator-green lacewing (*Chrysoperla carnea* Steph.). *Vegetable Crops Research Bulletin*, v. 69, p. 21–30, 2008.

LI, Y. H.; WU, K. M.; ZHANG, Y. J.; YUAN, G. H. Degradation of Cry1Ac protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* rice tissues under field and laboratory conditions. *Environmental Entomology*, v. 36, p. 1275–1282, 2007.

LI, Y. H.; MEISSLE, M.; ROMEIS, J. Consumption of Bt maize pollen expressing Cry1Ab or Cry3Bb1 goes not harm adult green lacewings, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *PLoS ONE*, v. 3, p. 1–8, 2008.

LI, Y. H.; ROMEIS, J. Bt maize expressing Cry3Bb1 does not harm the spider mite, *Tetranychus urticae*, or its ladybird beetle predator, *Stethorus punctillum*. *Biological Control*, v. 53, p. 337–344, 2010.

LIU, X. X.; SUN, C. G.; ZHANG, Q. W. Effects of transgenic Cry1A+CpTI cotton and Cry1Ac toxin on the parasitoid, *Campoketis chlorideae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Insect Science*, v. 12, p. 101–107, 2005.

LIU, B.; SHU, C.; XUE, K.; ZHOU, K. X.; L, X. G.; LIU, D. D.; ZHENG, Y. P.; XU, C. R. The oral toxicity of the transgenic Bt+CpTI cotton pollen to honeybees (*Apis mellifera*). *Ecotoxicology Environmental Safety*, v. 72, p. 1163-1169, 2009.

LOPEZ, M. D.; PRASIFKA, J. R.; BRUCK, D. J.; LEWIS, L. C. Utility of ground beetle species in field tests of potential non-target effects of Bt crops. *Environmental Entomology*, v. 34, p. 1317–1324, 2005.

LOZZIA, G. C. Biodiversity and structure of ground beetle an assemblages (Coleoptera: Carabidae) in Bt corn and its effects on non target insects. *Bolletino di Zoologia agraria e di Bachicoltura*, v. 31, n. 1, p.37-58, 1999.

MALONE, L. A.; GATEHOUSE, A. M. R.; BARRATT, B. I. P. Beyond *Bt*: Alternative strategies for insect-resistant genetically modified crops. In: ROMEIS, J.; SHELTON, A. M.; KENNEDY, G. G. (eds). *Integration of Insect-Resistant Genetically Modified Crops With IPM Programs*. Berlin, Germany: Springer, 2008.

MEISSLE, M.; ROMEIS, J. The web-building spider *Theridion impressum* (Araneae: Theridiidae) is not adversely affected by Bt maize resistant to corn rootworms. *Plant Biotechnology Journal*, v. 7, p. 645–656, 2009.

MONNERAT, R. G.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis* : modo de ação e resistência. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds). *Controle Biológico*. Jaguariúna, SP.: Embrapa Meio Ambiente, v. 3, p. 163-200, 2000.

NARANJO, S. E.; HEAD, G.; DIVELY, G. Field studies assessing arthropod non-target effects in Bt transgenic crops: Introduction. *Environmental Entomology*, v. 34, p. 1178–1180, 2005.

OBRIST, L. B.; KLEIN, H.; DUTTON, A.; BIGLER, F. Assessing the effects of Bt maize on the predatory mite *Neoseiulus cucumeris*. *Experimental and Applied Acarology*, v. 38, p. 125–139, 2006.

PALM, C. J.; SCHALLER, D.L.; DONEGAN, K.K.; SEIDLER, R.J. Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*  $\delta$ -endotoxin. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 42, p. 1258-1262, 1996.

PONSARD, S.; GUTIERREZ, A. P.; MILLS, N. J. Effect of Bt-toxin (Cry1Ac) in transgenic cotton on the adult longevity of four Heteropteran predators. *Environmental Entomology*, v. 31, n. 6, p. 1197-1205, 2002.

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

RIDDICK, E. W.; DIVELY, G.; BARBOSA, P. Effect of a seed-mix deployment of Cry3A-transgenic and nontransgenic potato on the abundance of *Lebia grandis* (Coleoptera: Carabidae) and *Coleomegilla maculate* (Coleoptera: Coccinellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, v.91, n. 5, p. 647-653, 1998.

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.

ROMEIS, J.; BARTSCH, D.; BIGLER, F.; CANDOLFI, M. P.; GIELKENS, M. M. C.; HARTLEY, S. E.; HELLMICH, R. L.; HUESING, J. E.; JEPSON, P. C.; LAYTON, R.; QUEMADA, H.; RAYBOULD, A.; ROSE, R. I.; SCHIEMANN, J.; SEAR, M. K.; SHELTON, A. M.; SWEET, J.; VAITUZIS, Z.; WOLT, J. D. Assessment of risk of insect resistant transgenic crops to non-target arthropods. *Nature Biotechnology*, v.26, n. 2, p. 203–208, 2008.

ROSE, R.; DIVELY, G. P.; PETTIS, J. Effects of Bt corn pollen on honey bees: emphasis on protocol development. *Apidologie*, v. 38, p. 368–377, 2007.

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

SANVIDO, O.; WIDMER, F.; WINZELER, M.; BIGLER, F. A conceptual framework for the design of environmental post-marker monitoring of genetically modified plants. *Environmental Biosafety Research*, v. 4, p. 13–27, 2005.

SANVIDO, O.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. An approach for post-market monitoring of potential environmental effects of *Bt*-maize expressing Cry1Ab on natural enemies. *Journal of Applied Entomology*, v.133, p. 236–248, 2009.

SAXENA, D.; PUSHALKAR, S.; STOTZKY, G. Fate and effects in soil of Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* : Influence of physicochemical and biological characteristics of soil. *The Open Toxinology Journal*, v. 3, p, 151–171, 2010.

SCHULER, T. H.; POPPY, G. M.; KERRY, B. R.; DENHOLM, I. Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies. *Trends in Biotechnology*, v. 7, p. 210-216, 1999.

SCHULER, T. H.; POTTING, R. P. J.; DENHOLM, I.; POPPY, G. M. Parasitoid behavior and Bt plants. *Nature*, v. 400, p. 835-836, 2000.

TABASHNIK, B. E. Communal benefits of transgenic corn. *Science*, v. 330, n. 6001, p. 189–190, 2010.

VALDEZ, M. E.; SOBERÓN, M.; QUINTERO, R. Characterization of cry genes in Mexican *B. thuringiensis* strain collection. *Applied and Environmental Microbiology*. Washington, US, p. 4965-4972, 1998.



VAUFLEURY, A.; KRAMARZ, P. E.; BINET, P.; CORTET, J.; CAUL, S.; ANDERSEN, M. N.; PLUMEY, E.; COEURDASSIER, M.; KROGH, P. H. Exposure and effects assessments of Bt-maize on non-target organisms (gastropods, microarthropods, mycorrhizal fungi) in microcosms. *Pedobiologia*, v. 51, p. 185–194, 2007.

VERCESI, M. L.; KROGH, P. H.; HOLMSTRUP, M. Can *Bacillus thuringiensis* (Bt) corn residues and Bt-corn plants affect life-history traits in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*? *Applied Soil Ecology*, v. 32, p. 180–187, 2006.

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

WANG, D. P. Current status and future strategies for development of transgenic plants in China. *Journal of Integrative Plant Biology*. v.49, p. 1281–1283, 2007.

WOLFENBARGER, L. L.; NARANJO, S. E.; LUNDGREN, J. G.; BITZER, R. J.; WATRUD, L. S. Bt crop effects on functional guilds of non-target arthropods: A meta-analysis. *PLoS ONE*, v. 3, p. 1–11, 2008.

WU, K. M.; LU, Y. H.; FENG, H. Q.; JIANG, Y. Y.; ZHAO, J. Z. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with *Bt* toxin containing cotton. *Science*, v. 321, n. 5896, p. 1676–1678, 2008.

YU, H. L.; LI, Y. H.; WU, K. M. Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. *Journal of Integrative Plant Biology*, v. 53, n. 7, p. 520–538, 2011.

ZWAHLEN, C.; HILBECK, A.; NENTWIG, W. Field decomposition of transgenic Bt maize residue and the impact on non-target soil invertebrates. *Plant Soil*, v. 300, p. 245–257, 2007.

## 4.CAPITULO 2

**Avaliação da comunidade de artrópodes de solo em milho geneticamente modificado MON 810 (Cry 1Ab) e MON 89034 (Cry1A.105 + Cry2Ab2)\***

JEAN C. DE QUADROS<sup>1</sup>; MARCOS G. FERNANDES<sup>2</sup>.

\* Artigo formatado de acordo com as normas do periódico Neotropical Entomology, com adaptações para as normas de dissertações e teses da UFGD.

Programa 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:

<sup>1</sup>[jeancdq@yahoo.com](mailto:jeancdq@yahoo.com); <sup>2</sup> [marcosfernandes@ufgd.edu.br](mailto:marcosfernandes@ufgd.edu.br)

RESUMO- Os artrópodes de solo nos genótipos de milho geneticamente modificado Yieldgard® e VTPRO® (MON 810 e MON 89034) foram avaliados através de estudos conduzidos em campo. Foram avaliados os índices faunísticos dos insetos coletadas durante o período da segunda safra de 2011. As coletas foram realizadas através de armadilhas do tipo “pitfall”, sendo coletado durante o período de amostragem um total de 5335 espécimes, distribuídos em 12 ordens, 28 famílias e 47 espécies. As principais ordens coletadas foram: Orthoptera, Coleoptera, Hemiptera e Hymenoptera. As espécies mais frequentes foram: *Gryllus assimilis* (Fabricius), *Nabis* sp., *Calosoma granulatum* (Perty), Formicidae sp1 e *Dichelops* sp. Os índices de Riqueza, Diversidade e Equitabilidade foram baixos, mas considerados normais para o ambiente agrícola. A similaridade da composição das espécies entre os híbridos avaliados ficou acima de 83%. A quantidade de espécimes em cada grupo funcional foi semelhante entre os três híbridos, indicando não haver efeito do milho transgênico quando comparado com o convencional. De modo geral os dois híbridos transgênicos avaliados, não apresentaram efeito sobre a comunidade de artrópodes associados à cultura, quando comparado com sua respectiva isolinha.

PALAVRAS CHAVE - fauna edáfica, milho Yieldgard, milho VTPRO, avaliação de risco, plantas transgênicas.

ABSTRACT- The entomofauna of soil on genetically modified maize genotypes Yieldgard<sup>®</sup> and VTPRO<sup>®</sup> (MON 810 e MON 89034) has been assessed through a study conducted at the field. Have been assessed the indexes of fauna of insects collected during the off-season period of 2011. The collections were carried out by pitfall traps, being collected during the sample period a total of 5335 specimens, distributed into 12 orders, 28 families and 47 species. The main orders were collected: Orthoptera, Coleoptera, Hemiptera and Hymenoptera. The most frequent species were: *Gryllus assimilis* (Fabricius), *Nabis* sp., *Calosoma granulatum* (Perty), Formicidae sp1 and *Dichelops* sp. The indices of richness, diversity and Evenness were low, but considered normal for the agricultural environment. The similarity of species composition between hybrids evaluated stayed above 83%. The quantity of specimens in each functional group was similar among the three hybrids, indicating that there is no effect of transgenic maize when compared with the conventional. In general the two transgenic hybrids evaluated, did not submit effect on insect community associated with culture, when compared with its conventional hybrid.

KEY WORDS – edaphic fauna, corn Yieldgard, corn VTPRO, risk assessment, transgenic plants.

## INTRODUÇÃO

O melhoramento genético contribuiu com o sistema agrícola brasileiro com a elaboração de cultivares mais adequados as condições tropicais. Assim como melhorias na produção e resistência a patógenos e a insetos, usando o melhoramento clássico. Entretanto, o melhoramento genético atual utiliza técnicas de engenharia genética, mas não dispensando o melhoramento clássico (Kennedy, 2008).

A engenharia genética desenvolveu técnicas que permitiram o desenvolvimento das plantas geneticamente modificadas. O Brasil encontra-se na segunda posição em termos de área cultivada, com 30 milhões de hectares plantados. Sendo a soja, o milho, o algodão e a canola as principais culturas. A área de milho geneticamente modificado no mundo chega próximo aos 51 milhões de hectares (James, 2011). Em 2011 a área mundial cultivada com plantas geneticamente modificadas foi de 160 milhões de hectares, com um crescimento de 8% em relação ao ano anterior.

Algumas plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos expressam genes derivados da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berlinier (Bt), mas existem também as que expressam lectinas, inibidores de  $\alpha$ -amilase, inibidores de proteinases, proteínas inseticidas vegetais, quitinases, peroxidases, entre outras (Carozzi & Koziel, 1997). A primeira geração de culturas transgênicas expressava proteínas Cry simples (Cry1A) com específica atividade contra lepidópteros. Para ampliar o espectro de proteção e atrasar a evolução da resistência das pragas ao Bt, outras toxinas Bt, tais como Cry1F, Cry2A foram adicionados à lista de características comercializadas (Malone, 2008).

Os cultivos geneticamente modificados resistentes a insetos são eficazes para o controle de insetos (Wu *et al*, 2008), e proporcionam benefícios sociais, ambientais e

econômicos (Wang, 2007; Choudhary & Gaur, 2010; Huang *et al*, 2010; Hutchinson *et al*, 2010; Tabashnik, 2010).

A biotecnologia para o controle de insetos praga apresenta evidentes benefícios, mesmo assim gera dúvidas sobre os potenciais riscos que as plantas transgênicas podem oferecer ao ambiente. Uma das principais preocupações ecológicas, quanto ao risco ambiental das plantas geneticamente modificadas resistente a insetos são seus potenciais efeitos sobre organismos não-alvo existentes nas culturas (Romeis *et al*, 2008).

Marvier (2007), realizando uma meta-análise com 42 trabalhos observou que em geral as espécies não-alvo são mais abundantes em milho e algodão transgênico para controle de insetos, que em campos convencionais tratados com inseticidas.

Priestley & Brownbridge (2009) avaliaram o efeito de variedades de milho expressando a toxina Cry1Ab sobre a diversidade de espécies e a equitabilidade de besouros carabídeos, não encontrando efeitos negativos sobre as espécies amostradas.

Farinós *et al* (2008) não encontraram mudanças na riqueza de espécies e índices de diversidade de artrópodes de solo em campos com cultivo de milho transgênico.

De modo geral, as culturas Bt favoreceram a abundância de artrópodes não-alvo em relação aos campos convencionais tratados com inseticidas, especialmente em relação às guildas funcionais de predadores e herbívoros não-alvo (Poza 2005, Daly & Buntin 2005, Wolfenbarger *et al*, 2008).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a comunidade de insetos de solo associada ao cultivo dos genótipos de milho geneticamente modificado (Yieldgard<sup>®</sup> e VTPRO<sup>®</sup>) em comparação com um híbrido convencional.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no município de Dourados, estado de Mato Grosso do Sul, em duas áreas de produção comercial de sementes, durante o período de março a junho de 2011. As áreas amostrais situam-se em 22°22'44.79" de latitude Sul, 54°44'49.59" de longitude Oeste, e 22°21'44.89" de latitude Sul, 54°89'49.69", ambas com área de 60 m<sup>2</sup> e altitude de 452 m. O clima da região é Mesotérmico Úmido, do tipo Cwa, segundo o sistema internacional de Köppen-Geiger. O solo da área é classificado como Latossolo Vermelho Distroférico de textura muito argilosa (65,3% de argila, 17,4% de silte e 17,3% de areia) (Mato Grosso do Sul 1990).

Foram utilizadas duas áreas experimentais, as quais foram preparadas de maneira a propiciar as condições químicas, físicas e biológicas ideais para a cultura do milho, seguindo as práticas usuais da cultura (Embrapa 2010). Os híbridos utilizados no presente estudo foram DKB 390 YG (evento MON810), DKB 390 VTPRO (evento MON89034) e seu respectivo isolinha DKB 390 (convencional). O Manejo da área foi feito de acordo com o Manejo Integrado de Pragas, com a realização de aplicações de herbicida e aplicação preventiva de inseticidas no início da cultura e aplicações de inseticida quando o nível populacional de alguma espécie de interesse econômico atingia o nível de controle.

Os insetos foram coletados através de armadilhas de queda do tipo "pitfall", dispostas sistematicamente nos três híbridos (Figura 1). As armadilhas foram confeccionadas com garrafas de plástico do tipo "pet" (com capacidade volumétrica de 2 litros), cortadas ao meio, com a parte superior invertida e encaixada na parte inferior formando um funil. Sendo estas inseridas no solo com sua abertura ao nível do solo (Figura 2A). Cada armadilha continha em seu interior aproximadamente 2/3 de seu volume de água com hipoclorito de sódio a 0,1% (para conservação dos espécimes capturados) e aproximadamente 1ml de "Tween"

(Polissorbato), para a quebra da tensão superficial da água (Figura 2B). Para evitar o acúmulo de impurezas e o excesso de água proveniente das chuvas, uma cobertura de madeira (15 x 15 cm), com três hastes de metal funcionando como base, era alocada sobre a armadilha ficando a aproximadamente 3 cm da superfície do solo (Figura 2C). Em cada híbrido de milho foram instaladas 15 armadilhas, as quais foram monitoradas semanalmente, sendo os insetos coletados e o líquido conservante repostos. O material coletado foi acondicionado em potes plásticos contendo álcool 85%, e armazenado no Laboratório de Entomologia, da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e posteriormente depositados no Museu da Biodiversidade da UFGD.

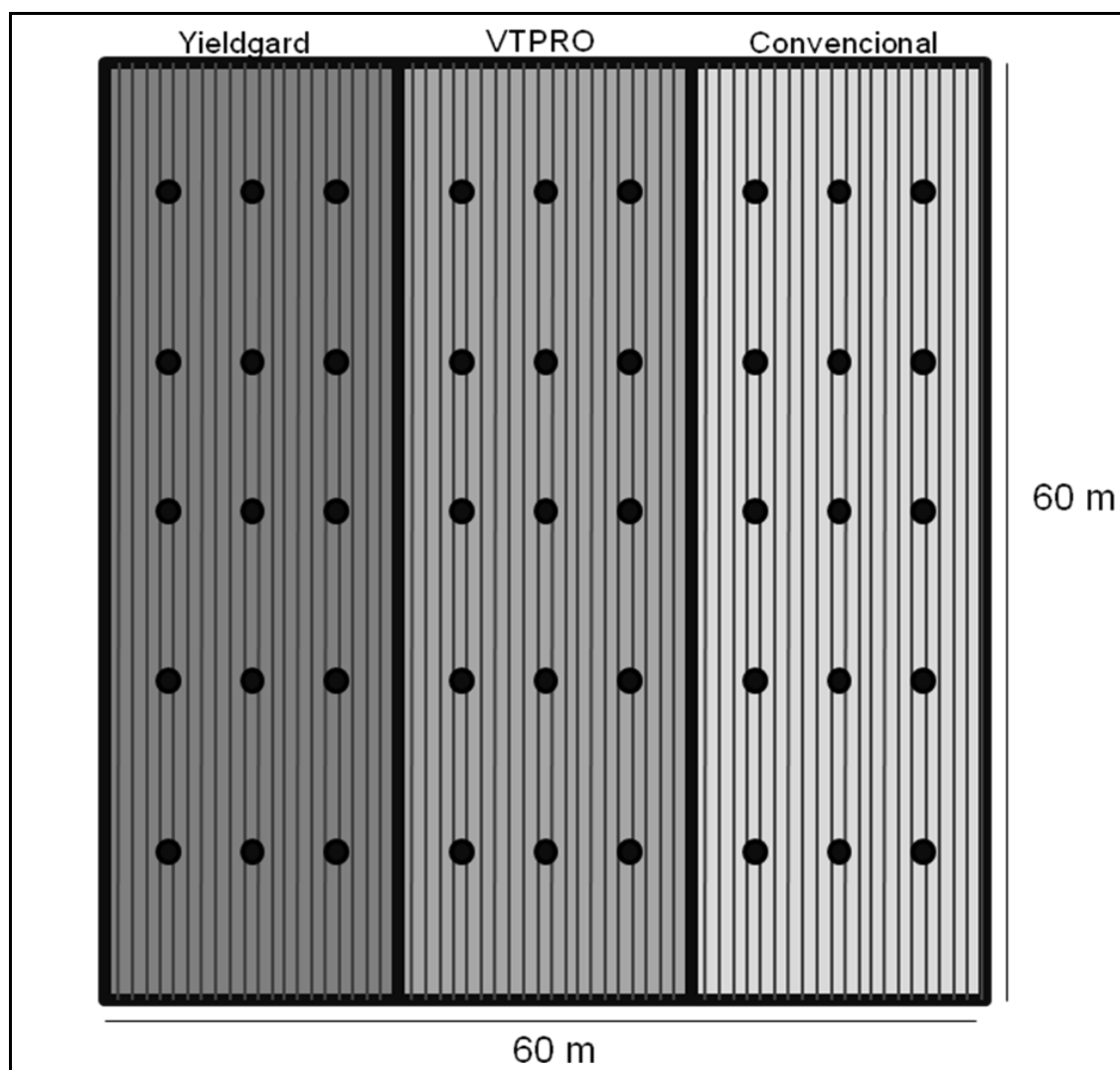


Figura 1. Croqui da área experimental com a disposição da distribuição das armadilhas.



A identificação dos insetos no menor nível taxonômico possível foi realizada por meio de literatura especializada e comparação com exemplares depositados no Museu de Entomologia da UFGD. Os espécimes, os quais não foi possível realizar a identificação específica foram classificados em morfoespécies, de acordo com caracteres morfológicos.



Figura 2. Instalação das armadilhas do tipo “pitfall”. (A) Armadilha enterrada ao nível do solo; (B) 2/3 do interior do recipiente com líquido conservante; e (C) cobertura da armadilha.

A análise faunística de Silveira Neto *et al* (1976), que se fundamenta no cálculo dos índices de frequência, constância, abundância e dominância. A frequência foi definida como a porcentagem de indivíduos de uma espécie em relação ao total de indivíduos. A constância foi definida como porcentagem de amostras em que uma determinada espécie esteve presente. Uma vez obtido este percentual de constância, as espécies eram classificadas como: Constantes (w), quando presentes em mais de 50% das coletas semanais; Acessórias (y),

quando presentes em 25 a 50% das coletas; Acidentais (z), quando presentes em menos de 25% da coletas.

A abundância, que é o número de indivíduos de uma determinada espécie, encontrada em determinada área (unidade de superfície ou volume), pode variar pelo espaço e tempo (Southwood 1995). Para se estimar as classes de abundância, foram utilizados limites estabelecidos pelo intervalo de confiança (IC) a 5% e 1% de probabilidade, determinando-se as seguintes classes: Rara (r), número de indivíduos da espécie, menor que o limite inferior do IC a 1% de probabilidade; Dispersa (d), número de indivíduos entre os limites inferiores dos IC a 1% e 5% de probabilidade; Comum (c), número de indivíduos dentro do IC a 5%; Abundante (a), número de indivíduos entre os limites superiores dos IC a 1% e 5% de probabilidade; e Muito Abundante (ma), número de indivíduos maior que o limite superior do IC a 1% de probabilidade.

Para definir a dominância, que é a ação exercida pelos organismos dominantes de uma comunidade, foi utilizado o método de Kato *et al* (Laroca & Mielke 1975). Onde a espécie é considerada dominante quando apresenta frequência relativa superior a  $1/S \times 100$ , onde S é o número total de espécies encontradas no período de amostragem.

Com base nas espécies predominantes nos índices faunísticos, foi realizada a flutuação populacional dos insetos no período de amostragem.

A fim de mensurar a diversidade da comunidade de insetos, foram calculados: Índice de riqueza de Margalef ( $\alpha$ ): relação entre o número de espécies e o número de indivíduos de uma comunidade; Índice de diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ): que reflete dois atributos básicos da comunidade: o número de espécies e a equitatividade; e Índice de equitabilidade (E): que estima a distribuição de indivíduos na amostra, verificando a homogeneidade na ocorrência numérica das espécies.

Foi calculado também o índice de similaridade de Sorensen (QS), o qual indica a semelhança entre duas comunidades em termos de composição de espécies (Southwood 1995).

Os insetos coletados em cada híbrido avaliado foram agrupados em quatro guildas tróficas, estes valores foram submetidos ao Teste F para avaliar a significância dos dados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O total de espécimes coletados no período de amostragem foi de 5335, distribuídos em 12 ordens, 28 famílias e 47 espécies (Tabela 1). As principais ordens coletadas foram: Diplopoda 23,13% do total coletado, Orthoptera 21,37%, Coleoptera 16,85%, Hemiptera 16,72%, Hymenoptera 12,00%, Diptera 5,32%, Lepidoptera 2,96% e outras (Blattodea, Dermaptera, Neuroptera, Araneae e Chilopoda) 1,65% (Figura 3).

Do total de insetos coletados, as espécies mais frequentes foram: *Gryllus assimilis* (Fabricius) (23,58%), *Nabis* sp. (12,25%), *Calosoma granulatum* (Perty) (8,83%), Formicidae sp.1 (8,46%) e *Dichelops* sp. (8,23%) (Tabela 1).

No genótipo Yieldgard foram coletados 1762 espécimes, distribuídos em 25 famílias e 39 espécies; no genótipo VT PRO coletou-se 1811 espécimes, divididos em 23 famílias e 38 espécies; e já no milho convencional foram 1770 espécimes, em 26 famílias e 43 espécies (Tabela 2).

A maior abundância de indivíduos das ordens Diplopoda, Orthoptera e Coleoptera, pode ser atribuída ao fato da maioria das espécies coletadas nestes grupos passarem pelo menos uma parte de seu ciclo no solo, sendo que o não revolvimento do mesmo, devido à adoção do sistema de cultivo menos agressivos com o solo, que favorece o desenvolvimento

da entomofauna, propiciando sua proteção, além de manter uma maior estabilidade de temperatura e umidade do solo.

Tabela 1. Espécies coletadas e total de espécimes capturados em armadilhas “pitfall”, em cultivos de milho Bt e convencional, durante a segunda safra de milho de 2011 em Dourados, MS.

Ordem/Família	Espécie	Yieldgard	VT PRO	Convencional
Blattodea/Blattidae	<i>Periplaneta americana</i>	2	1	1
	<i>Calosoma granulatum</i>	115	118	123
Coleoptera/Carabidae	<i>Galerita</i> sp.	4	7	3
	<i>Lebia</i> sp.	0	1	0
	<i>Tetracha</i> sp.	0	2	4
	<i>Brasilaphthona</i> sp.	1	5	2
Coleoptera/Chrysomelidae	<i>Diabrotica speciosa</i>	0	0	1
	<i>Cycloneda sanguinea</i>	0	0	1
Coleoptera/Coccinellidae	<i>Cycloneda sanguinea</i>	0	0	1
Coleoptera/Curculionidae	<i>Rhyssomatus</i> sp.	1	17	4
Coleoptera/Melyridae	<i>Astylus variegatus</i>	12	6	8
Coleoptera/Nitidulidae	<i>Carpophilus</i> sp.	75	57	73
	<i>Canthidium</i> sp.	29	34	48
	<i>Coprophanæus</i> sp.	39	29	29
Coleoptera/Scarabaeidae	<i>Pinophilus</i> sp.	1	0	2
	<i>Lagria vilosa</i>	8	11	12
	<i>Blapstinus</i> sp.	8	4	3
Coleoptera/Tenebrionidae	<i>Selenophorus</i> sp.	1	0	1
	<i>Doru lineare</i>	1	1	1
	<i>Doru luteipes</i>	2	0	0
Dermaptera/Forficulidae	<i>Doru luteipes</i>	2	0	0
Diptera/Calliphoridae	Calliphoridae sp.1	97	81	51
Diptera/Sarcophagidae	Sarcophagidae sp.2	1	2	2
	<i>Allograpta obliqua</i>	2	0	1
Diptera/Syrphidae	<i>Pseudodorus clavatus</i>	13	3	27
	<i>Morfoespécie 1</i>	0	1	3

Hemiptera/Coreidea	<i>Leptoglossus zonatus</i>	15	15	21
Hemiptera/Cydnidae	<i>Cyrtomenus mirabilis</i>	1	0	1
Hemiptera/Nabisidae	<i>Nabis</i> sp.	176	151	167
Hemiptera/Pentatomidae	<i>Dichelops</i> sp.	107	105	120
Hemiptera/Reduviidae	<i>Apiomerus</i> sp.	1	1	1
	Reduviidae sp.1	2	4	4
Hymenoptera/Apidae	<i>Xylocopa</i> sp.	1	2	0
	Formicidae sp.1	101	87	153
Hymenoptera/Formicidae	Formicidae sp.2	12	170	4
	Formicidae sp.3	35	55	15
	Formicidae sp.4	0	1	1
Hymenoptera/Vespidae	Vespidae sp.1	1	0	2
	<i>Helicoverpa zea</i>	15	18	19
Lepidoptera/Noctuidae	<i>Spodoptera frugiperda</i>	35	20	31
	Noctuidae sp.1	6	6	7
Lepidoptera/Sesiidae	Sesiidae sp.1	1	0	0
Neuroptera/Chrysopidae	<i>Chrysoperla externa</i>	0	1	10
Orthoptera/Acrididae	<i>Orphullela</i> sp.	52	55	79
Orthoptera/Gryllidae	<i>Gryllus assimilis</i>	354	305	292
Orthoptera/Tettigoniidae	<i>Microcentrum</i> sp.	0	2	1
OUTROS				
Araneae		19	16	24
Chilopoda		3	11	3
Diplopoda		413	406	415
Total		1762	1811	1770

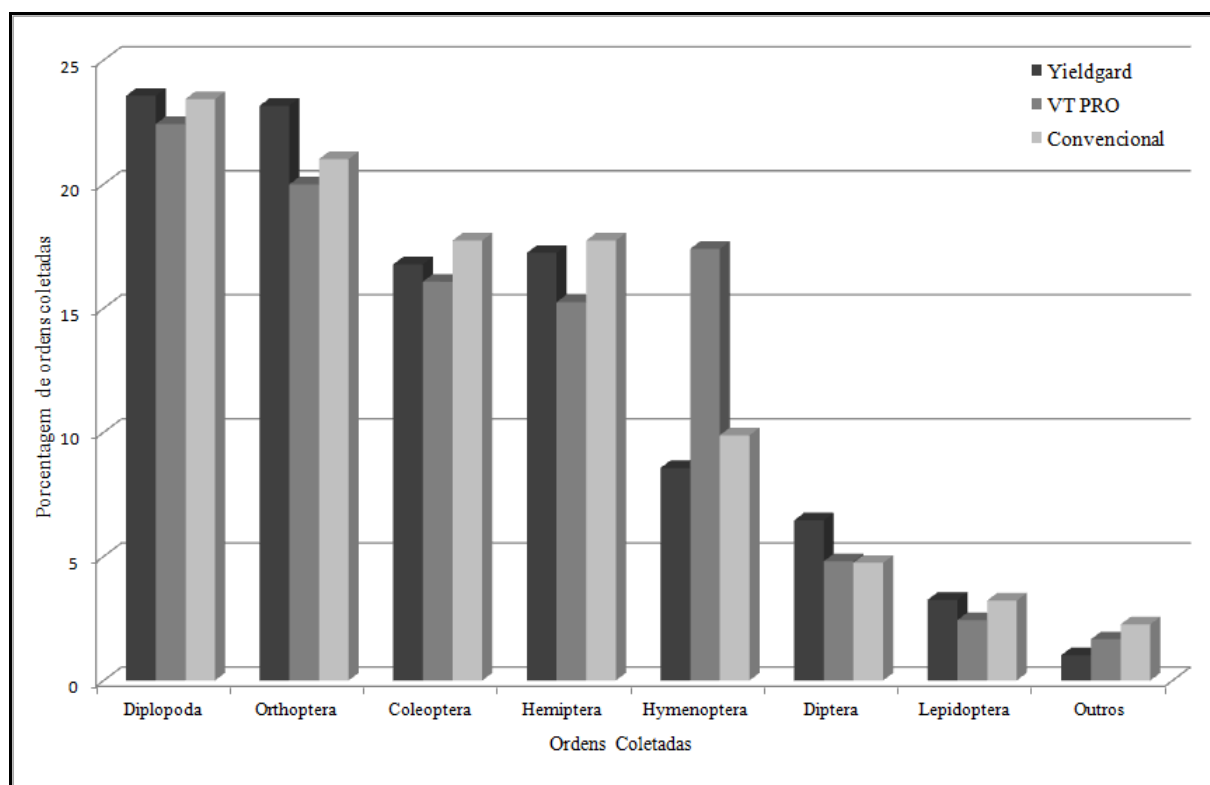


Figura 3. Distribuição relativa das ordens de insetos coletas durante a segunda safra de milho de 2011 em Dourados, MS.

Das 39 espécies coletadas no milho Yieldgard, 18 foram classificadas como raras, 4 dispersas, 9 comuns e 8 muito abundantes; 13 eram constantes e 9 dominantes. No milho VT PRO das 38 espécies coletadas, 18 eram raras, 2 dispersas, 10 comuns e 8 muito abundantes; 13 eram constantes e 11 dominantes. No milho convencional, das 43 espécies coletadas, 24 foram raras, 2 dispersas, 5 comuns e 12 muito abundantes; 13 eram constantes e 10 dominantes (Tabela 3).

Tabela 2. Total de espécimes coletados, número de espécies, riqueza, diversidade e equitabilidade nos três genótipos avaliados, durante a segunda safra de milho de 2011 em Dourados, MS.

Híbridos	Nº Espécimes	Nº Espécies	Riqueza de Margalef ( $\alpha$ )	Diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ )	Equitabilidade (E)
Yieldgard	1762	39	5,08	2,51	0,68
VT PRO	1811	38	4,93	2,60	0,71
Convencional	1770	43	5,61	2,59	0,68

Os índices de riqueza, diversidade e equitabilidade calculados (Tabela 2) demonstram que, apesar do número de espécimes e famílias amostradas, ocorreram na área estudada muitas espécies raras e poucas espécies muito abundantes (Tabela 3). Com isso a comunidade estudada não se apresenta bem estruturada, quando comparadas com outros agroecossistemas e ecossistemas naturais. Assim como Nunes *et al* (2009) que encontrou valores de até 1,09 para o índice de Shannon, 10,75 para riqueza de espécies e 0,32 para o de equitabilidade em estudos de fauna edáfica em solo com diferentes tipos de manejo. Já Frizzas (2003) encontrou, em áreas de cultivo de milho, valores máximos de 3,51, 16,25 e 0,71 para os índices de diversidade, riqueza e equitabilidade, respectivamente.

Tabela 3. Índices faunísticos dos insetos coletados em armadilhas “pitfall” durante a segunda safra de milho de 2011 em Dourados, MS.

Híbridos	Predominantes	Dominantes	Constantes	Muito abundantes	Comuns	Dispersas	Raras
Yieldgard	7	9	13	8	9	4	18
VT PRO	8	11	13	8	10	2	18
Convencional	10	10	13	12	2	5	24

A flutuação populacional das espécies predominantes durante o período de coleta, não apresentou grande variação entre os híbridos de milho avaliados para as espécies *G. assimilis*, *Nabis* sp. e *C. granulatum* (Figura 4A,B,C), entretanto Formicidae sp.1 foi mais frequente no milho convencional e *Dichelops* sp. foi menos frequente no genótipo Yieldgard (Figura 4D, E). Por outro lado, Diplopoda apresentou uma distribuição de frequência irregular nos três híbridos durante o período de coleta (Figura 4F).

Higgins (2009), analisando artrópodes não-alvo em nível de comunidade por um período de três anos na região de maior produção de milho nos Estados Unidos, observou impacto não significativo sobre a abundância da comunidade quando comparados campos de

milho Bt com milho não-Bt. Análises da taxa individual também não evidenciaram diferenças significativas na abundância entre os campos Bt e não-Bt.

Candolfi *et al* (2004) não encontraram alteração na comunidade de artrópodos do solo em região produtora de milho na França, incluindo: Coleoptera (Staphylinidae), aranhas (Araneae), Hymenoptera (Formicidae), Diplopoda e Chilopoda durante todo o período de avaliação.

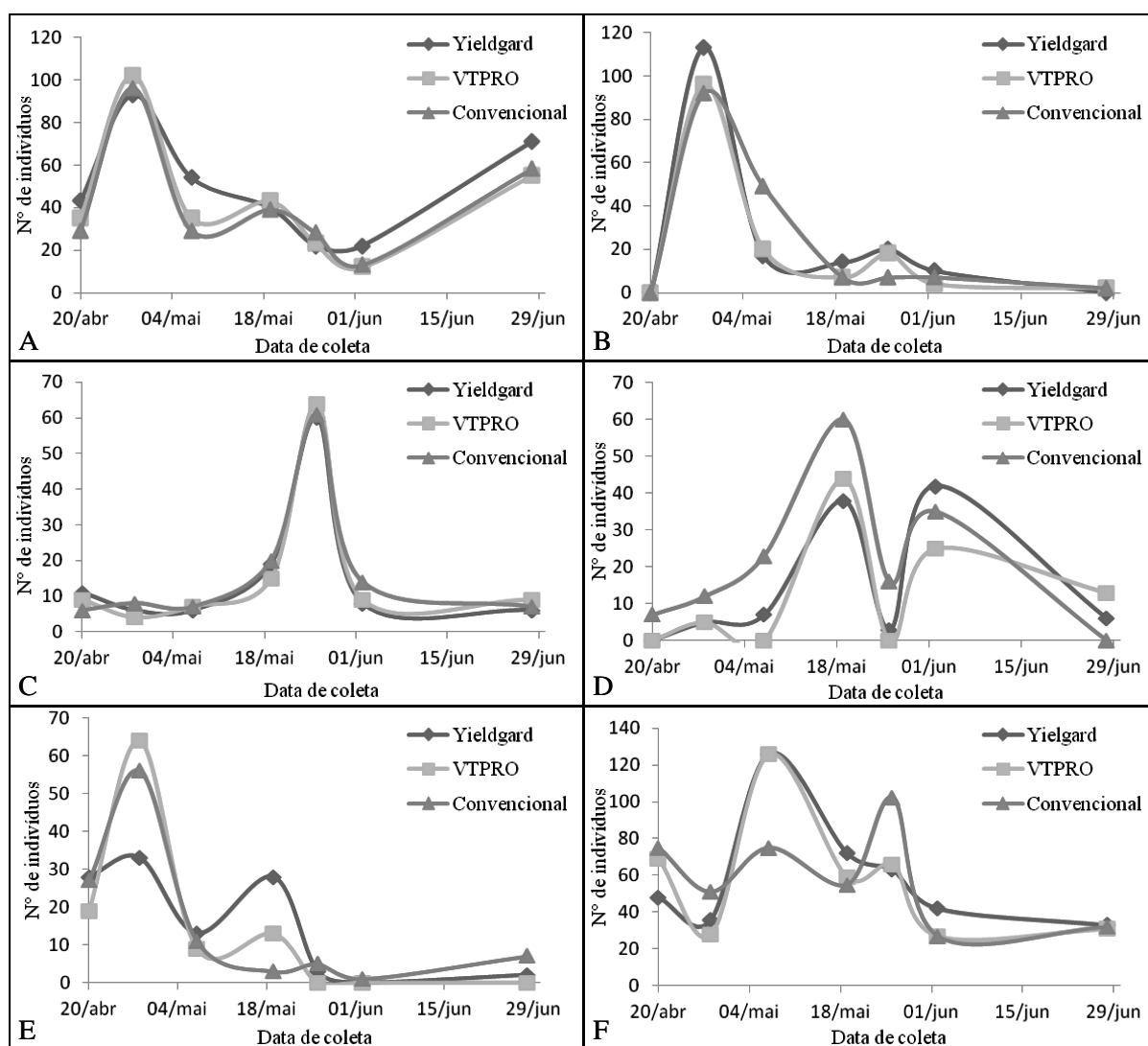


Figura 4. Flutuação populacional das espécies predominantes durante a segunda safra de milho de 2011 em Dourados, MS. (A) *Gryllus assimilis*; (B) *Nabis* sp.; (C) *Calosoma granulatum*; (D) Formicidae sp1; (E) *Dichelops* sp.; e (F) Diplopoda.



Os índices de Riqueza de Margalef ( $\alpha$ ), Diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ) e Equitabilidade (E) alcançaram valores muito próximos para os híbridos avaliados (Tabela 2). Esses valores próximos entre os genótipos Bt e o convencional representam igualdade na riqueza de espécies entre os híbridos avaliados, apesar de inicialmente se esperar maiores índices de riqueza no tratamento não-Bt devido a um menor grau de perturbação do ambiente causado pela ausência da toxina Cry, já que ambientes menos alterados tendem a ter uma maior riqueza de espécies (Odum 1988). Porém em Híbridos não-Bt o uso de inseticidas também representa uma perturbação do ambiente.

Frizzas (2003) em estudos na região de Barretos, no estado de São Paulo e em Ponta Grossa no Paraná, obteve valores de riqueza maiores em milho transgênico e convencional do que os observados neste estudo, enquanto os índices de diversidade foram similares. Comunidades com maiores índices de diversidade tendem a ser mais estáveis, pois suas espécies raras têm papel fundamental na manutenção da biodiversidade (Santos & Marques 1996). Porém, em ambientes agrícolas, os índices de diversidade são geralmente baixos, como confirmou Lozzia (1999) ao avaliar a diversidade da família Carabidae em milho transgênico, quando encontrou valores menores que 0,99.

Os valores do índice E (Tabela 2) podem ser considerados baixos para os três genótipos. Isso demonstra que algumas espécies apresentam o número de indivíduos muito maior que outras. O que é confirmado pela diferença entre o número de espécies abundantes e raras, indicando que a distribuição das espécies na comunidade não é uniforme, quanto mais similar for a representatividade de cada espécie na comunidade mais alto será esse índice (Peet 1974).

Analisando o total de indivíduos coletados, os índices de riqueza, diversidade e equitabilidade dos híbridos analisados, verificou-se que os dois genótipos transgênicos não

apresentaram efeito sobre a comunidade de insetos, quando comparados com o genótipo não-Bt tratado com inseticidas. Isso foi confirmado, também, pelo índice de similaridade de Sorensen (Tabela 4), que apresenta valores acima de 80% de similaridade entre as áreas, demonstrando a grande semelhança entre as comunidades de artrópodes nas três áreas avaliadas, apesar da existência das toxinas dos híbridos transgênicos no ambiente. Essa alta similaridade demonstra que a composição de espécies da comunidade é próxima. Valores semelhantes foram obtidos por Frizzas (2003), que obteve valor máximo de 88,61% de similaridade entre seus tratamentos de milho Bt e não Bt.

Tabela 4. Índice de similaridade dos três genótipos avaliados durante a segunda safra de milho de 2011 em Dourados, MS.

Híbridos	Índice de Similaridade de Sorensen (%)
Yieldgard/ VT PRO	83,12
Yieldgard/ Convencional	88,89
VT PRO/ Convencional	87,80

Os espécimes obtidos nos tratamentos foram agrupados em cinco guildas tróficas (Tabela 5). No milho Yieldgard, o grupo mais expressivo foi o dos decompositores com 37,29% dos espécimes coletados, seguido dos herbívoros mastigadores com 36,38%, predadores com 19,24%, herbívoros sugadores com 6,98% e polinizadores com 0,11%. No híbrido VT PRO, o grupo dos mastigadores se destacou com 42,08% dos indivíduos, seguido pelos decompositores com 33,74%, predadores com 17,45%, sugadores com 6,63% e polinizadores com 0,11%. No milho convencional, o grupo de destaque foi novamente dos insetos mastigadores com 35,76%, seguido pelos decompositores com 35,25%, predadores com 20,96% e sugadores com 8,02%, não sendo encontrado neste tratamento nenhum indivíduo com função polinizadora.

Tabela 5. Total de espécimes coletados em quatro guildas tróficas nos três genótipos avaliados durante a safrinha de 2011 em Dourados-MS. \*= Diferença significativa entre os valores na mesma linha pelo teste F.

Guilda Trófica	Yieldgard	VT PRO	Convencional
Predador	339	316	371*
Decompositor	657*	611	624
Herbívoro Sugador	123	120	142
Herbívoro Mastigador	641	762*	633
Total	1762	1811*	1770

A quantidade de espécimes em cada grupo funcional foi próxima entre os três híbridos, quando comparado o número total de insetos, o híbrido VT PRO apresentou diferença significativa quando comparado com o híbrido Yieldgard e Convencional.

A guilda de herbívoros sugadores não apresentou diferença entre os três híbridos, já a de herbívoros mastigador apresentou diferença significativa apenas no híbrido VT PRO que apresentou mais indivíduos, esse aumento no número de indivíduos pode ser atribuído a grande existência de formigueiros próximos as armadilhas, influenciando sua taxa de coleta. Na guilda de predadores o híbrido convencional apresentou mais indivíduos que os híbridos transgênicos, o que pode ser explicado pela maior oferta de presas pela ausência das toxinas Bt. E no grupo dos decompositores o híbrido Yieldgard apresentou mais indivíduos.

Balog (2010), não encontrou diferenças entre guildas de staphylinídeos predadores no milho transgênico e sua respectiva isolinha. Assim como O'Callaghan *et al* (2005) que não observaram efeito do milho transgênico sobre crisopídeos e coccinelídeos se alimentado de presas alimentadas com milho transgênico, e Lozzia (1999) estudando a biodiversidade e estrutura de comunidades de Carabidae não encontrou diferenças nas comunidades entre o milho transgênico e convencional.

Quando comparamos o número de indivíduos em cada grupo funcional, verificamos que apesar das diferenças estatísticas estes valores podem ser considerados próximos, indicando não haver efeito negativo quando comparado os híbridos transgênicos com sua isolinha convencional.

## CONCLUSÃO

Os dois híbridos transgênicos avaliados, Yieldgard® e VTPRO® não apresentaram efeito sobre a comunidade de artrópodes associados à cultura, quando comparado com sua respectiva isolinha, bem como as guildas funcionais encontradas no estudo, que também apresentaram diferença entre os três genótipos avaliados, porém com valores muito próximos. A flutuação populacional das espécies predominantes apresentou distribuição semelhante entre três híbridos avaliados para a maioria das espécies, não havendo variação significativa entre eles.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão de bolsa de Mestrado ao primeiro autor e a Sementes Guerra Ltda, pela liberação das áreas amostrais e apoio na condução dos cultivos para a realização do estudo.

## REFERÊNCIAS

Balog A, Kiss J, Szekeres D, Szénási Á, Markód V, (2010) Rove beetle (Coleoptera: Staphylinidae) communities in transgenic Bt (MON810) and near isogenic maize. *Crop Prot.* 29:567–571.

Candolfi M P, Brownk, Grimm C, Reber B, Schmidli H (2004) A faunistic approach to assess potential side-effects of genetically modified Bt-corn on non-target arthropods under field conditions. *Biocontrol Sci. Technol.* 14(1):129-170.

Carozii N, Koziel M (1997) *Advances in insect control*. London: Taylor & Francis, 301 p.

Choudhary B, Gaur K (2010) *Bt Cotton in India: A Country Profile*. ISAAA Series of Biotech Crop Profiles. ISAAA: Ithaca, NY.

Daly T, Butin G D (2005) Effect of *Bacillus thuringiensis* transgenic corn for lepidopteran control on non-target arthropods. *Environ. Entomol.* 34:1292–1301.

Embrapa (2010) *Sistema de Produção: Cultivo do Milho*. Embrapa Milho e Sorgo, 6ª edição.

Farinós G P, De La Poza M, Hernández-Crespo P, Ortego F, Castañera P, (2008) Diversity and seasonal phenology of aboveground arthropods in conventional and transgenic maize crops in Central Spain. *Biol. Control.* 44:362-371.

Frizzas M R (2003) *Efeito do milho geneticamente modificado MON 810 sobre a comunidade de insetos*. Tese (Doutorado) - ESALQ, Piracicaba, 192 p.

Higgins L S, Babcock J, Neese P, Layton R J, Moellenbeck D, Storer N (2009) Three-year field monitoring of Cry1F, Event DASØ15Ø7–1, maize hybrids for non-target arthropod effects. *Environ. Entomol.* 38:281–292.

Huang J K, Mi J W, Lin H, Wang Z J, Chen R J, Hu R F, Rozelle S, Pray C (2010) A decade of Bt cotton in Chinese fields: Assessing the direct effects and indirect externalities of Bt cotton adoption in China. *Sci. China Ser. C Life Sci.* 53(8):981-991.

Hutchinson W D, Burkness E C, Mitchell P D, Moon R D, Leslie T W, Fleischer S J, Abrahamson M, Hamilton K L, Steffey K L, Gray M E, Hellmich R L, Kaster L V, Hunt T E, Wright R J, Pecinovsky K, Rabaey T L, Flood B R, Raun E S (2010) Area wide suppression of European corn borer with Bt maize reaps savings to non-Bt maize growers. *Science*, 330(6001):222–225.

James C (2011) Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011. *ISAAA Brief No. 43*. ISAAA: Ithaca, NY.

Laroça S, Mielke U H H (1975) Ensaio sobre ecologia de comunidade em Sphingidae na Serra do Mar, Paraná, Brasil (Lepidoptera). *Rev. Bras. Biol.* 35(1):1-19.

Lozzia G C (1999) Biodiversity and structure of ground beetle assemblages (Coleoptera: Carabidae) in Bt corn and its effects on non target insects. *Boll. Zool. Agrar. Bachic.* 31(1):37-58.

Mato Grosso do Sul (1990) Secretaria de Planejamento e Coordenação geral. Atlas Multireferencial, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Marvier M, McCreedy C, Regetz J, Kareiva P (2007) A Meta-Analysis of Effects of Bt Cotton and Maize on Nontarget Invertebrates. *Science*, 316(5830):1475-1477.

O’callaghan M, Glare T R, Burgess E P J, Malone L A (2005) Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. *Annu. Rev. Entomol.* 50:271–292.

Odum E P (1988) *Ecologia*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 434 p.

- Peet R K (1974) The measurement of species diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 5:285-307.
- Poza M, Pons X, Farinós G P, López C, Ortego F, Eizaguirre M, Castañera P, Albajes R (2005) Impact of farm-scale Bt maize on abundance of predatory arthropods in Spain. *Crop Prot.* 24:677-684.
- Priestley A L, Brownbridge M (2009) Field trials to evaluate effects of Bttransgenic silage maize expressing the Cry1Ab insecticidal toxin on non-target soil arthropods northern New England, USA. *Transgenic Res.*18(3):425-443.
- Romeis J, Bartsch D, Bigler F, Candolfi M P, Gielkens M M C, Hartley S E, Hellmich R L, Huesing J E, Jepson P C, Layton R, Quemada H, Raybould A, Rose R I, Schiemann J, Sear M K, Shelton A M, Sweet J, Vaituzis Z, Wolt J D (2008) Assessment of risk of insect resistant transgenic crops to non-target arthropods. *Nat. Biotechnol.* 26(2):203–208.
- Santos B, Marques O M (1996) Análise faunística de comunidades de formigas epigéias (Hymenoptera, Formicidae) em dois agroecossistemas em Cruz das Almas – Bahia. *Insecta*, 5(1):1-17.
- Silveira Neto S, Nakano O, Barbin D, Villa Nova N A (1976) Manual de ecologia de insetos. São Paulo: Agronômica Ceres, 419p.
- Southwood T R E (1995) *Ecological methods: with particular reference to the study of insect populations.* London: Chapman e Hall, 524 p.
- Tabashnik B E (2010) Communal benefits of transgenic corn. *Science*, 330(6001):189–190.
- Wang D P (2007) Current status and future strategies for development of transgenic plants in China. *J. Integr. Plant Biol.* 49:1281–1283.

Wolfenbarger L L, Naranjo S E, Lundgren J G, Bitzer R J, Watrud L S (2008) Bt crop effects on functional guilds of non-target arthropods: A meta-analysis. PLoS ONE, 3:1–11.

Wu K M, Lu Y H, Feng H Q, Jiang Y Y, Zhao J Z (2008) Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with *Bt* toxin containing cotton. Science, 321(5896):1676–1678.



## ANEXOS

**Neotropical Entomology****Instructions for Authors****Manuscript Submission**

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all coauthors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

**Permissions**

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

**Online Submission**

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

**Sections**

Submissions to the following sections will be taken into consideration:

‘Forum’, ‘Ecology, Behavior and Bionomics’, ‘Systematics, Morphology and Physiology’, ‘Biological Control’, ‘Pest Management’, ‘Public Health’, ‘Scientific Notes’.

**Title Page**

The title page should include:

- o The section to which your article belongs to.
- o A concise and informative title.
- o The name(s) of the author(s) – left-justified below the title; only initials of the first and middle names of authors are provided followed by their last names in full. Names of different authors are separated by a comma. Do not use “and” or “&” to separate different authors.
- o The affiliation(s) of the author(s).
- o The complete name, the regular and e-mail addresses, telephone and fax numbers of the corresponding author only.
- o A running title no longer than 65 characters.

**Abstract**

Please provide a one-paragraph long abstract of up to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

**Keywords**

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

**Text****Text Formatting**

Manuscripts should be submitted in Word.

- o Set page as A4 size and margins at 2.5 inches.
- o Use a normal, plain font (e.g., 12-point Times Roman) for text.
- o Lines must be double spaced.
- o The name of insect and mite species must be written in full and followed by the species author when first mentioned in the Title, Abstract and Main Text.
- o Use italics for emphasis.
- o Use the automatic page numbering function to number the pages.
- o Do not use field functions.
- o Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- o Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- o Use the equation editor or MathType for equations.
- o Note: If you use Word 2007, do not create the equations with the default equation editor but use

the Microsoft equation editor or MathType instead.

o Save your file in doc format. Do not submit docx files.

### Headings

Please use no more than three levels of displayed headings. Headings in bold, sub-headings of the second level in roman, and level 3 sub-headings in italic font type.

### Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

### Scientific Names

Write scientific names in full, followed by the author's name (for insect and mite species), whenever they first appear in the Abstract and Main text. Names should also be listed in full at the beginning of a paragraph or sentence. E.g., *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Use the abbreviated generic name (e.g., *S. Frugiperda*) in the rest of the paper, except in tables and figures, where the name should be in full.

### Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

### Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

## References

### Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. References to more than one publication are chronologically ordered, separated by commas. Use '&' for two authors and italicized '*et al*' for more than two authors. Some examples:

Negotiation research spans many disciplines (Panizzi 1990).

This result was later contradicted by Parra & Zucchi (2006).

This effect has been widely studied (Vilela 1991, Moscardi *et al* 1995, Frey da Silva & Grazia 2006, Moscardi *et al* 2009).

### Reference List

Type references in alphabetical order, one per paragraph, with no space between them. The authors' last names are typed in full, followed by capital initials. Use a comma to separate the names of authors. Add the reference year after the authors' names, between parentheses. Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see [www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php](http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php). Please avoid citations of dissertations, theses and extension materials. Do not cite restricted-circulation materials (such as institutional documentation and research reports), partial research reports or abstracts of papers presented at scientific meetings.

#### o Journal article

Grosman AH, Janssen A, Brito EF, Cordeiro EG, Colares F, Fonseca JO, Lima ER, Pallini A, Sabelis MW (2008) Parasitoid increases survival of its pupae by inducing hosts to fight predators. PLoS ONE

3(6):e2276. doi:10.1371/journal.pone.0002276

#### o Article by DOI

Warner KD (2011) Fighting pathophobia: how to construct constructive public engagement with biocontrol for nature without augmenting public fears. BioControl doi:10.1007/s10526-011-9419-x

#### o Book

Carey J R (1993) Applied demography for biologists with special emphasis on insects. New York, Oxford University Press, Inc, 206p.

#### o Book chapter

Datnoff LE, Seebold KW, Correa FJ (2001) The use of silicon for integrated disease management reducing fungicide applications and enhancing host plant resistance, p.209-219. In Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH (eds) Silicon in agriculture. Amsterdam, Elsevier Science, 403p.

#### o Online document

Monteiro RC, Lima EFB (2011) Thysanoptera of Brazil. <http://www.lea.esalq.usp.br/thysanoptera/>. Accessed 25 November 2011.

#### o Dissertation

Nihei SS (2004) Sistemática e biogeografia de Muscini (Diptera, Muscidae). PhD. Thesis, Universidade

Federal do Paraná.

## **Tables**

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

## **Artwork**

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

### **Electronic Figure Submission**

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics (line art), the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts (Calibri type) embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

### **Line Art**

Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

### **Halftone Art**

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

### **Combination Art**

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

### **Color Art**

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

### **Figure Lettering**

To add lettering, please use Calibri font only.

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

### **Figure Numbering**

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online

appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

### Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, **not in the figure file**.

Figure captions begin with the term Fig followed by a space and the figure number, both in roman type (e.g., Fig 1). No punctuation is to be included after the number.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### Figure Placement and Size

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

Figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

### Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that:

- o All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- o Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)
- o Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

### Electronic Supplementary Material

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

### Submission

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

### Audio, Video, and Animations

Always use MPEG-1 (.mpg) format.

### Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.

A collection of figures may also be combined in a PDF file.

### Spreadsheets

Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.

If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

### Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

### Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

### Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".

Name the files consecutively, e.g. "ESM\_3.mpg", "ESM\_4.pdf".

### Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

### Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that:

- o The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material.
- o Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk).

### After acceptance

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

### Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink. We regret that Springer Open Choice cannot be ordered for published articles.

### Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, they agree to the Springer Open Choice Licence.

### Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

### Color Illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

### Proof Reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, no further changes can be made to the article. Scientific errors can be corrected by means of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

### Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.