

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

**IMPACTO DE ALGODÃO GENETICAMENTE MODIFICADO RESISTENTE A
INSETOS SOBRE A ENTOMOFAUNA DE SOLO**

Carla Cristina Dutra

Dourados-MS
Fevereiro/2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

**IMPACTO DE ALGODÃO GENETICAMENTE MODIFICADO RESISTENTE A
INSETOS SOBRE A ENTOMOFAUNA DE SOLO**

Carla Cristina Dutra

Orientador

Marcos Gino Fernandes

Dourados-MS
Fevereiro/2009

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

**IMPACTO DE ALGODÃO GENETICAMENTE MODIFICADO RESISTENTE A
INSETOS SOBRE A ENTOMOFAUNA DE SOLO**

Carla Cristina Dutra

Orientador: Marcos Gino Fernandes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, 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/2009

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD

632.76 Dutra, Carla Cristina.
D978i Impacto de algodão geneticamente modificado resistente a insetos sobre a entomofauna de solo/ Carla Cristina Dutra. – Dourados, MS : UFGD, 2009.
54p.

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

1. Algodão-Bt-Dourados-MS. 2. Impacto ambiental de plantas transgênicas. 3. Insetos-Agricultura. 4. Organismos geneticamente modificados. 5. Insetos-Solo. I. Título.

**“IMPACTO DE ALGODÃO GENETICAMENTE MODIFICADO RESISTENTE A
INSETOS SOBRE A ENTOMOFAUNA DE SOLO”**

Por

Carla Cristina Dutra

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

Prof. Dr. Josué Raizer
Membro Titular – UFGD

Prof. Dr. Crébio José Ávila
Membro Titular UFGD

Prof. Dr. Arno Rieder
Membro Titular UNEMAT

Ofereço

A Deus

Dedico mais este passo que dei em minha vida especialmente aos meus pais

Rosemar e Ademar Dutra

E à minhas irmãs **Camila, Caroline e Suzany.**

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, à UFGD e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela oportunidade de me tornar Mestre.

À UFPR pela oportunidade do mestrado sanduíche, que foi de suma importância para finalizar esta dissertação.

À CAPES pela bolsa concedida por três meses, a qual viabilizou o mestrado sanduíche.

À FUNDECT pela bolsa de estudos, concedida em junho de 2008.

Ao meu orientador Dr Marcos Gino Fernandes pela oportunidade, orientação, incentivo e amizade.

Ao Professor Dr Josué Raizer pela amizade, paciência, compreensão e colaboração intelectual.

Aos Professores Doutores Valter Vieira Alves Jr, Honório Roberto dos Santos e Elisângela de Souza Loureiro pela amizade e alegria ao longo desse mestrado.

Ao Professor Dr Arno Rieder pela confiança, amizade e apoio mesmo de longe.

Ao Professor Dr Mário Antonio Navarro da Silva pela acolhida em Curitiba, paciência, confiança e oportunidade.

À Professora Dr^a Maria Christina de Almeida pelo exemplo de ética, incentivo profissional e pessoal, apoio, carinho e amizade.

Ao Professor Dr Germano H. Rosado Neto, e aos amigos entomologistas Angelico F. Asenjo Flores, Paschoal Coelho Grossi, Fernando Leivas e Geovan Henrique Corrêa pela identificação dos insetos da ordem Coleoptera.

Ao pessoal do laboratório: D. Lourdes Rovadoschi, Marcus Henrique e Tatiane Zarartini Teixeira pela assistência e amizade.

À secretária Leiza Inara Vargas dos Santos pela disposição, atenção e paciência.

À equipe de voluntários deste projeto: Amanda Gabriela, Ana Paula, Camila Meotti, Carlos Eduardo Marques, Gabriel Bonini Pinto de Arruda, Ingrid Colman, Morgana Wachter, Sharlane Cristina e Tiago Rodrigues, pessoas muito importantes para realização deste trabalho, obrigada pelo auxílio no campo, pela paciência, colaboração, dedicação, entusiasmo, alegria e amizade de vocês!

À colega de mestrado Stela de Almeida Soares pela identificação das formigas.

À MSc Vilma da Silva Lins e a Dr^a Maria Helena Pereira Vieira pela ajuda na identificação de Collembola.

À família Pinto de Arruda, especialmente Belia, Luciano e Taiane pelo apoio, conselhos e carinho.

À família Meotti Ribeiro, pela acolhida aqui em Dourados, apoio, alegria e carinho.

À minha família por compreender minha ausência e sempre me dar tanto amor e apoio.

À Camila Meotti pela parceria nesses dois anos, tanto no trabalho quanto nas festas, obrigada pela sua amizade sincera e seu companheirismo.

À minha grande amiga Renata Gabriel Teixeira que mesmo longe sempre me incentivou e torceu por mim.

Aos amigos Cássia Cristina Lopes, Daniele Perassa Costa, Danielle Glaser, Danielle Thomazoni, Elaine Cristina da Silva Fantinatti, Jayme Schneider, Thiago Montagna, Viviana de Oliveira Torres, Kellen Fávero e Diego Casarin pelas conversas e parcerias ao longo desses dois anos.

E, obrigada Papai do céu por ser tão generoso comigo colocando essas pessoas em minha vida tornando possível este trabalho.

Sumário

Apresentação.....	1
Referências Bibliográficas	3
Capítulo 1	
Impacto do algodão Bollgard® sobre coleópteros e formigas edáficas.	4
Abstract.....	5
Resumo	6
Introdução.....	7
Material e Métodos.....	8
Local de instalação dos experimentos.....	8
Amostragem.....	9
Identificação das espécies	11
Análise estatística	11
Resultados	11
Discussão	19
Referências Bibliográficas	23
Capítulo 2	
Impacto de algodão geneticamente modificado sobre Collembola (Ellipura).	28
Abstract.....	29
Resumo	30
Introdução.....	31
Material e Métodos.....	32
Local de instalação dos experimentos.....	32
Amostragem e identificação de Collembola.....	34
Análise estatística	35
Resultados	35
Discussão	38
Agradecimentos	40
Referências Bibliográficas	41
Considerações Finais.....	46
Anexos	
Instruções para o envio dos manuscritos à revista científica.....	47
Soil Biology & Biochemistry.....	48

Apresentação

A engenharia genética tem criado variedades geneticamente modificadas (GM) de muitos cultivos que expressam a toxina inseticida proveniente da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt). Através da técnica do DNA recombinante, o gene dessa bactéria é inserido na planta. Estes genes produzem proteínas Cry (crystal proteins), dentre outras ainda não comercializadas. Após o inseto alvo ingerir a proteína Cry é provocada uma ruptura osmótica das células epiteliais do seu tubo digestivo, determinando sua morte, antes que os mesmos consigam causar danos à cultura (Höfte e Whiteley, 1989; Sankula, 2006; Andow, 2008).

As plantas GM tem sido desenvolvidas com o intuito de promover resistência à doenças e pragas, tolerância a herbicidas, melhoramento nutricional e resistência a estresse abiótico como a seca e escassez de nitrogênio (Sanvido *et al.*, 2006), mas mesmo após rigorosa avaliação dos riscos, o plantio dessas plantas tem despertado preocupação com relação aos impactos ambientais. As plantas GM também podem afetar os organismos não-alvo de várias formas, através de resíduos liberados da planta acima ou abaixo do solo (Zwahlen *et al.*, 2003), através das folhas e exsudados das raízes (Saxena *et al.*, 1999; Saxena e Stotzky, 2000), do pólen (Losey *et al.*, 1999) e outras partes que expressam a toxina Bt, como as flores e nectários extra-florais, sementes e fluidos do floema (Hilbeck, 2002; Andow e Hilbeck, 2004). As culturas GM são novidades biológicas, sua liberação no ambiente levanta várias posições sobre as imprevisíveis respostas ecológicas e evolutivas que as espécies GM em interação com a biota podem causar em médio e longo prazo (Garcia e Altieri, 2005). Para se realizar análise de risco de plantas GM é importante selecionar os grupos não-alvo através das suas funções ecológicas, como por exemplo, consumidores primários (espécie não-alvo que consome da planta GM) e secundários (espécies que se alimentam dos consumidores primários: predadores, parasitóides e parasitas), polinizadores (abelhas, vespas, moscas e coleópteros), detritívoros (alimentam-se de matéria orgânica em decomposição: formigas, coleópteros, colêmbolos, micro-organismos, minhocas e ácaros) e dispersores de sementes (pássaros, pequenos mamíferos, coleópteros

e formigas) (Andow e Hilbeck, 2004). Os efeitos dessas plantas no ambiente do solo ainda são pouco estudados, havendo possibilidade de a toxina Bt afetar os organismos edáficos.

Podendo a biota do solo, especialmente os representantes da meso e macrofauna, ter papel determinante em processos edáficos, tais como ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica, melhoria de atributos físicos como agregação, porosidade, infiltração de água e funcionamento biológico do solo (Sanginga *et al.*, 1992). A biodiversidade do solo está interligada com as relações agroecossistema-solo, onde os macroorganismos do solo, tais como, insetos, nematóides e minhocas, realizam uma parte vital no ciclo de nutrientes, dividindo e redistribuindo material orgânico (Birch *et al.*, 2006).

O presente estudo foi conduzido com o intuito de avaliar o impacto de plantas GM sobre alguns organismos não-alvo de solo. No capítulo I foi avaliado o efeito do algodão GM, comparando a variedade transgênica NuOpal[®] Bollgard[®] resistente a insetos e a não-transgênica DeltaOpal[®] sobre a fauna de Formicidae (Insecta: Hymenoptera) e Coleoptera (Insecta) edáficos não-alvo. No capítulo II foi avaliado o efeito do algodão transgênico NuOpal[®] Bollgard[®] comparado com o não-transgênico DeltaOpal[®] sobre a biodiversidade de importantes indicadores da qualidade do solo pertencentes a ordem Collembola (Ellipura). Assim sendo, o objetivo geral dessa dissertação foi avaliar o efeito de cultura de algodão GM resistente a insetos sobre a entomofauna de solo não-alvo da toxina Cry. Especificamente verificar se o algodão GM resistente a insetos tem algum efeito sobre a fauna de coleópteros e formigas de solo, comparativamente com o algodão não-transgênico. E analisar os efeitos da toxina Bt liberada pela planta de algodão sobre a fauna de Collembola, comparativamente com o algodão não-transgênico.

Referências Bibliográficas

- Andow, D., Hilbeck, A., 2004. Science-based risk assessment for non-target effects of transgenic crops. *Bioscience* 54, 637–649.
- Andow, D., 2008. The risk of resistance evolution in insects of transgenic insecticidal crops. *Collection of Biosafety Reviews* 4, 142-199.
- Birch, A.N.E., Wheatley, R., Anyango, B., Arpaia, S., Capalbo, D., Degaga, G., Fontes, E., Kalama, P., Lelmen, E., Løvei, G., Melo, I.S., Muyekho, F., Nigi-Song, A., Ochieno, D., Ogwang, J., Pitelli, R., Schuler, T., Sétamou, M., Sithanantham, S., Smith, J., Van Son, N., Songa, J., Sujii, E., Tan, T.Q., Wan, F.-H., Hilbeck, A., 2006. Biodiversity and non-target impacts: a case study of Bt maize in Kenya. In: Hilbeck, A.; Andow, D.A. (Eds). *Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms Volume 1: A case study of Bt maize in Kenya*. CABI Publishing, pp. 117-185.
- Garcia, M.L., Altieri, M.A., 2005. Transgenic Crops: Implications for Biodiversity and Sustainable Agriculture. *Bulletin of Science, Technology & Society* 25, 335-353.
- Hilbeck, A., 2002. Transgenic host plant resistance and non-target effects. In: Letourneau, D.K. e Burrows, B.E. (Eds) *Genetically Engineered Organisms: Assessing Environmental and Human Health Effects*. CRC Press, New York, pp. 167–185.
- Höfte, H., Whiteley, H.R., 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews* 53, 242 pp.
- Losey, J.E., Rayor, L.S., Carter, M.E., 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399, 214 pp.
- Sanginga, N., Mulongoy, K., Swift, M.J., 1992. Contribution of soil organisms to the sustainability and productivity cropping systems in the tropics. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 41, 135-152.
- Sankula, S., 2006. Crop Biotechnology in the United States: Experiences and Impacts. 29-52pp. In: Halford, N.G. (Ed). *Plant Biotechnology*. John Wiley & Sons Ltd., 303pp.
- Sanvido, O., Stark, M., Romeis, J., Bigler, F., 2006. Ecological impacts of genetically modified crops: experiences from ten years of experimental field research and commercial cultivation. *Swiss Expert Committee for Biosafety. ART-Schriftenreihe* 1, 1–84.
- Saxena, D., Flores, S., Stotzky, G. 1999. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. *Nature* 402, 480
- Saxena, D., Stotzky, G., 2000. Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic Bt corn *in vitro* and *in situ*. *FEMS Microbiology Ecology* 33, 35–39.
- Zwahlen, C., Hilbeck, A., Gugerli, P., Nentwig, W., 2003. Degradation of the Cry1Ab protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. *Molecular Ecology* 12, 765–775.

Capítulo1

Impacto do algodão Bollgard[®] sobre coleópteros e formigas edáficas.

Abstract

Genetic engineering has created genetically modified (GM) varieties of many crops that express the toxin from the bacterium Cry *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt). The Cry toxin has insecticidal properties, is synthesized during growth of the plant, and can be expressed in any part of it. To evaluate the impact of this technology on the environment, this study aimed to find the effect of GM cotton resistant to insects on the fauna of Formicidae and Coleoptera. The field sample was a commercial area located in the municipality of Maracajú, Mato Grosso do Sul, Brazil. There were two treatments: Bt cotton and non-Bt cotton, and 20 samples were taken in each treatment during the reproductive period of cotton in the 2007/2008 crop season. The samplings were done by interception pitfall traps. It was used the paired t test for each day of collection to compare the occurrence of species in both treatments. Seeking to obtain gradients of community structure of Formicidae and Coleoptera based on species composition, it was used the technique of ordering by hybrid multidimensional scaling (HMDS). The studied Bt cotton area negatively affected the fauna of Formicidae, because of the species richness in Bt cotton was lower when compared to non-Bt cotton, and the species of this family occurred in non-Bt crops were different from those presented in Bt. The fauna of Coleoptera was also affected by Bt crop, as the species that make up the community assessed in Bt crops are different from those that make the non-Bt crop. The fact that negative results were observed regarding the impact on entomofauna in an area with little time under cultivation of Bt cotton, strengthens the possibility of further changes in the long term.

Keywords: Bt cotton; *Bacillus thuringiensis*; Coleoptera; Formicidae; soil insects; genetically modified plants.

Resumo

A engenharia genética tem criado variedades geneticamente modificadas (GM) de muitos cultivos que expressam a toxina Cry da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt). Essa toxina tem propriedades inseticidas e é sintetizada durante o crescimento da planta, podendo ser expressa em qualquer parte da mesma. Visando avaliar os impactos dessa tecnologia no ambiente, neste trabalho avaliamos o efeito do algodão GM resistente a insetos sobre a fauna de Formicidae e Coleoptera de solo. O experimento foi conduzido em uma área comercial situada no município de Maracajú, Mato Grosso do Sul, Brasil. Sendo avaliados dois tratamentos: algodão Bt e algodão não-Bt. Foram realizadas 20 amostras em cada tratamento, durante o período reprodutivo do algodoeiro na safra de 2007/2008. A amostragem foi realizada através de armadilhas de interceptação do tipo “pitfall” modificada. Para a análise da riqueza de espécies utilizou-se o teste t pareado por dia de coleta para comparar a ocorrência das espécies nos dois tratamentos. Buscando obter gradientes da estrutura da comunidade de Formicidae e Coleoptera baseada na composição de espécies, foi utilizada a técnica de ordenação por escalonamento multidimensional híbrido (HMDS). O algodão Bt da área estudada afetou negativamente a fauna de Formicidae, pois a riqueza de espécies no algodão Bt foi inferior quando comparada ao algodão não-Bt. As espécies de formigas ocorrentes no cultivo não-Bt foram diferentes daquelas presentes no Bt. A fauna de Coleoptera também foi afetada pelo cultivo Bt, já que as espécies que compõe a comunidade avaliada no cultivo Bt foram diferentes daquelas que compõe a cultura não-Bt. O fato de terem sido observados resultados negativos a respeito do impacto sobre a entomofauna em uma área com pouco tempo de cultivo de algodão Bt, indica a possibilidade de efeitos ainda maiores em longo prazo.

Palavras-Chave: Algodão Bt; *Bacillus thuringiensis*; Coleoptera; Formicidae; insetos de solo; plantas geneticamente modificadas.

Introdução

O algodão *Gossypium hirsutum* Linnaeus (Malvaceae) foi modificado geneticamente ao receber endotoxina- δ (genes cry) com propriedades inseticidas de uma bactéria de solo, *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt). Estes genes produzem proteínas Cry (crystal proteins) e outras ainda não comercializadas. Após a ingestão a proteína Cry provoca uma ruptura osmótica das células epiteliais do tubo digestivo dos insetos, determinando a morte, antes que os mesmos consigam causar danos à cultura (Höfte e Whiteley, 1989; Sankula, 2006; Andow, 2008). O algodão Bt resistente a Lepidoptera, Bollgard[®] evento MON531, que expressa a proteína Cry1Ac, foi legalizado em 2005 (Mendonça-Hagler *et al.*, 2008) e tem como praga-alvo algumas lagartas de Lepidoptera, como a *Heliothis virescens* Fabricius, *Alabama argillacea* Hübner e *Pectinophora gossypiella* Saunders. O algodão Bt está sendo cultivado no Centro-Oeste brasileiro que produz cerca de 80% do algodão no país (Bélot *et al.*, 2005) em muitas partes do mundo, incluindo Argentina, Austrália, Brasil, China, Índia, África do Sul e Estados Unidos (Andow, 2008).

Os efeitos das plantas GM no solo ainda são pouco estudados, apesar de apresentar evidências de grande impacto dessas plantas na microbiota do solo que consome os produtos metabólicos liberados (Andrade e Nogueira, 2005). Sabe-se bem que as variedades do algodão Bt produzem a toxina Cry na parte aérea da planta, particularmente nas folhas e nos botões florais (Vadakattu e Watson, 2004). Plantas GM exsudam toxinas pelas raízes, que poderiam também afetar organismos responsáveis pela ciclagem de matéria orgânica, os fragmentadores e/ou decompositores, reduzindo ou impedindo a degradação de compostos como celulose, hemicelulose, quitina, lignina, com conseqüências para a produtividade das plantas (Capalbo *et al.*, 2005). Entretanto, muitos fatores podem influenciar na acumulação da proteína transgene no solo, incluindo a quantidade contida nos tecidos da planta, a resistência da proteína à degradação e os fatores químicos, físicos e ambientais do solo (Liu *et al.*, 2005; Icoz e Stotzky, 2008). Vários riscos e hipóteses sobre os impactos do algodão Bt nos ecossistemas de solos no Brasil foram identificados, o principal foi a possibilidade de toxinas Bt terem efeitos deletério na biodiversidade e dinâmica funcional dos organismos de solo (Mendonça-Hagler *et al.*, 2006).

Mais de 90% da biodiversidade nos agroecossistemas está no solo (Birch *et al.*, 2006). A fauna edáfica tem importância pelo fato de tais indivíduos influenciarem os processos do solo por meio da escavação e/ou ingestão e transporte do material mineral e orgânico (Lima *et al.*, 2007). Por exemplo, a comunidade de formigas (Formicidae), um dos grupos edáficos dominantes nos agroecossistemas (Smeding e Snoo, 2003), é de grande importância para estudos de impacto ambiental, já que estas restauram e mantêm a qualidade do solo. As formigas atuam na redistribuição das partículas, dos nutrientes e da matéria orgânica, bem como aprimoram a penetração de água e a aeração no solo através de aberturas de poros (Bruyn, 1999). As formigas também têm função protetora em plantas, como o algodoeiro, pois são importantes inimigos naturais de Lepidoptera e Coleoptera (Fowler *et al.*, 1991), sendo várias espécies predadoras generalistas de pragas do algodoeiro (Bastos e Torres, 2005). As formigas *Pheidole* e *Solenopsis* reduziram a população de bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera), que entrariam em diapausa, ao interceptar os adultos imediatamente após sua emergência dos botões florais (Fernandes *et al.*, 1994; Bastos e Torres, 2005). Espécies de Coleoptera não-alvo da proteína Bt podem ser benéficos nos cultivos, por exemplo, os decompositores e predadores (Andow e Hilbeck, 2004).

Portanto, objetivou-se verificar se o algodão GM resistente a insetos tem algum impacto sobre formigas e coleópteros edáficos, e assim discutir as implicações ecológicas deste possível impacto sobre a comunidade destes grupos na fase reprodutiva do algodoeiro.

Material e Métodos

Local de instalação dos experimentos – O estudo foi conduzido em uma área comercial em região de cerrado (latitude -21° 36' 52" S, longitude 55° 10' 06" W, altitude 384 m), situada no município de Maracaju, Mato Grosso do Sul, Brasil. O plantio foi realizado no dia 15 de novembro de 2007, compreendendo 13 hectares de algodão convencional (DeltaOpal[®]) e 50 hectares de algodão geneticamente modificado Bt (NuOpal[®] Bollgard[®]) evento MON531, que expressa a toxina Cry1Ac. Na área amostral foram realizadas duas capinas manuais, a adubação de base foi 360 kg ha⁻¹ do

formulado 11-15-15 (NPK), e uma adubação de cobertura de 150 kg ha⁻¹ de Cloreto de Potássio e 200 kg ha⁻¹ de Sulfato de Amônia. Não foi utilizada aplicação de inseticidas na área amostral.

Amostragem – A área total utilizada para realização das amostragens apresentava 40 m de largura por 100 m de comprimento, onde o delineamento experimental constituiu-se de dois tratamentos, o algodão-Bt e o algodão convencional não-Bt, sendo realizadas 20 amostras em cada tratamento (Figura 1).

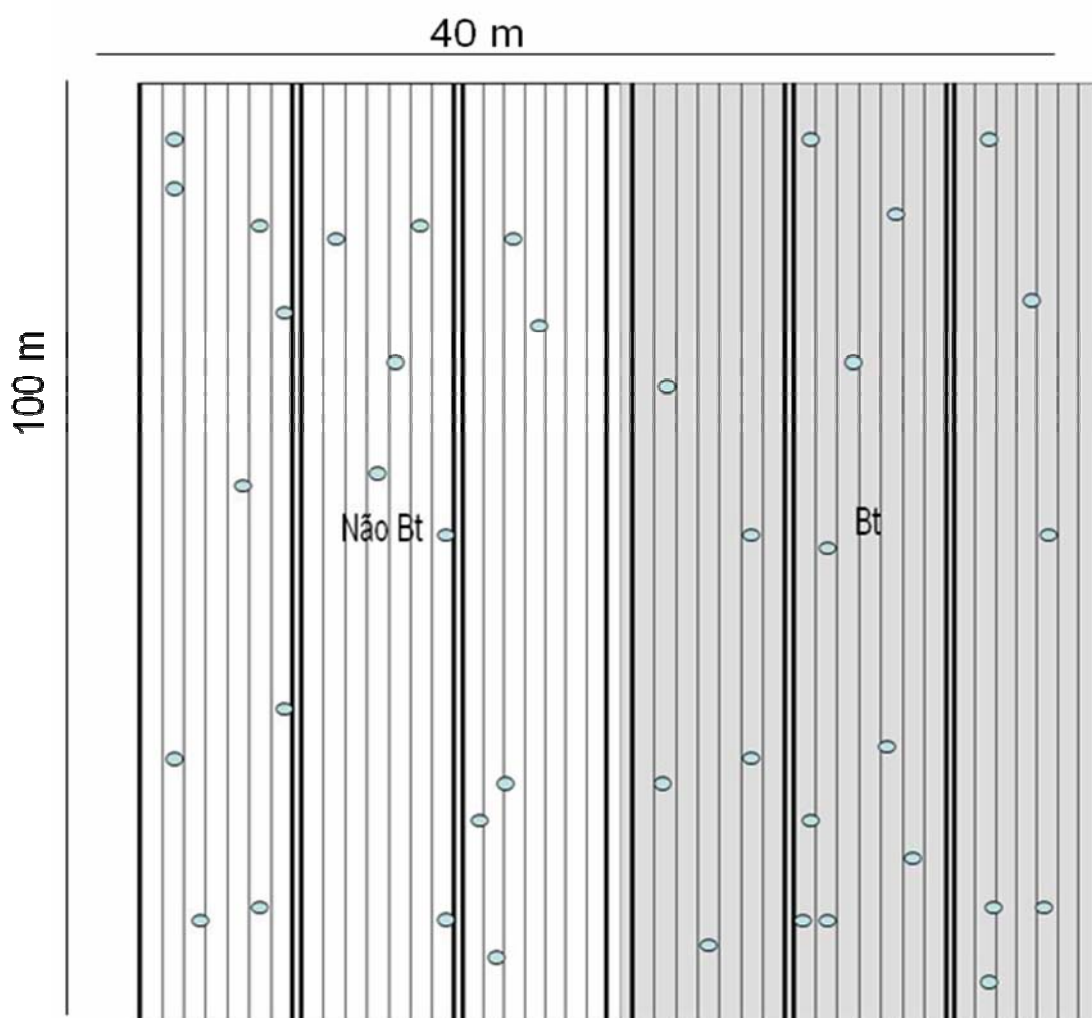


Figura 1. Esquema da área amostral em Maracaju-MS. Cada círculo representa a localização de uma armadilha “pitfall”.

Cada amostra constituiu-se de uma armadilha de interceptação do tipo “pitfall” modificada, as quais foram dispostas casualmente no campo de algodão Bt e não-Bt. Estas armadilhas eram compostas por garrafas de plástico do tipo *pet* (2 litros de capacidade volumétrica) cortadas ao meio, na qual a parte superior foi encaixada invertida formando um funil, sendo estas enterradas no solo com a borda no nível da superfície do solo. O interior de cada armadilha continha 2/3 de seu volume de água com hipoclorito de sódio a 0,1% (para conservação dos indivíduos capturados) e algumas gotas de detergente (para quebrar a tensão superficial da água). Uma cobertura de madeira (15x15cm) com haste de metal funcionando como base para manter a altura de 2,5cm em relação à superfície do solo e assim evitar o acúmulo de impurezas e água de chuva no interior das armadilhas (Figura 2).



Figura 2. Procedimento de coleta do material nas armadilhas. A) armadilha “pitfall” modificada com cobertura de madeira; B) e C) coletando.

As coletas do material nas armadilhas foram realizadas durante o período reprodutivo do algodoeiro, entre 08 de janeiro e 14 de fevereiro de 2008. As avaliações foram realizadas nesse período, pois se esperava encontrar um maior número de espécies herbívoras e carnívoras devido ao aparecimento de novas estruturas na planta. As armadilhas permaneceram no campo durante todo o período de coleta, sendo que a cada três dias era retirada a amostra e o líquido do interior da armadilha renovado, sendo totalizadas no final do período de floração nove amostragens em cada tratamento. O material coletado foi armazenado em potes plásticos contendo álcool a 70% e, em seguida, conduzido ao laboratório de Biologia Geral da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) para triagem.

Identificação das espécies – A identificação dos insetos no menor nível taxonômico possível foi realizada com auxílio de especialistas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Aqueles indivíduos os quais não foi possível realizar a identificação específica foram classificados em morfo-espécie. Exemplares de Formicidae e Coleoptera foram depositados no Museu de Entomologia da UFGD e na Coleção de Entomologia Pe. Jesus Santiago Moure da UFPR.

Análise estatística – Para a realização das análises, foram consideradas apenas as espécies de Formicidae e Coleoptera que ocorreram em pelo menos três amostras. Para a análise da riqueza de espécies utilizou-se o teste t pareado por dia de coleta para comparar o número de espécies nos dois tratamentos. Para a obtenção de gradientes da estrutura da comunidade de Formicidae e Coleoptera baseada na composição de espécies, foi utilizada a técnica de ordenação por escalonamento multidimensional híbrido (HMDS) (Faith *et al.*, 1987). Para Formicidae considerou-se a matriz de distâncias SØRENSEN, e para Coleoptera considerou-se o índice de dissimilaridade Bray-Curtis (Bray e Curtis, 1957). Posteriormente, foi feita uma análise de variância multivariada (MANOVA) considerando a estatística de Pillai Trace, para verificar as diferenças em composição de espécies entre os dois cultivos.

Resultados

Foram coletadas formigas pertencentes a 18 espécies de Formicidae representantes de nove gêneros e seis subfamílias (Tabela 1) durante o período reprodutivo do algodoeiro, das quais somente nove espécies foram utilizadas para a realização das análises sobre o impacto do algodão Bt. Estas nove espécies pertencem a seis gêneros e quatro subfamílias: *Brachymyrmex* sp.1 e *Camponotus* sp.1, *Dorymyrmex* sp.1, *Labidus* sp.1, *Pheidole* sp.1, *Pheidole* sp.2, *Pheidole oxyops* Forel, *Solenopsis* sp.1 e *Solenopsis saevissima* Smith, sendo todas predadoras generalistas.

Tabela 1. Frequência de ocorrência dos espécimes da família Formicidae coletados em armadilha “pitfall” em algodão Bt e não-Bt durante o período reprodutivo da cultura, Maracaju-MS, Brasil, safra 2007/2008.

Taxon	Tratamento	
	Bt	não-Bt
Formicinae		
<i>Brachymyrmex</i> sp.1	66,66%	88,88%
<i>Camponotus crassus</i>	11,11%	0
<i>Camponotus rufipennis</i>	11,11%	0
<i>Camponotus</i> sp.1	22,22%	11,11%
Dolichoderinae		
<i>Dorymyrmex</i> sp.1	100%	88,88%
<i>Dorymyrmex</i> sp.2	11,11%	11,11%
Ecitoninae		
<i>Labidus</i> sp.1	0	33,33%
Myrmicinae		
<i>Pheidole oxyopsis</i>	22,22%	44,44%
<i>Pheidole</i> sp.1	100%	100%
<i>Pheidole</i> sp.2	22,22%	33,33%
<i>Pheidole</i> sp.3	0	22,22%
<i>Solenopsis saevissima</i>	11,11%	66,66%
<i>Solenopsis</i> sp.1	100%	100%
<i>Solenopsis</i> sp.2	11,11%	11,11%
Ponerinae		
<i>Hypoponera</i> sp.1	11,11%	0
<i>Hypoponera</i> sp.2	0	22,22%
<i>Pachycondyla striata</i>	11,11%	0
Pseudomyrmecinae		
<i>Pseudomyrmex</i> sp.1	11,11%	0

As espécies utilizadas nas análises estatísticas estão destacadas em cinza.

Das formigas analisadas, somente *Labidus* sp.1 foi exclusiva no tratamento não-Bt, e apenas *Pheidole* sp.1 e *Solenopsis* sp.1 ocorreram em todas as amostras dos dois tratamentos.

A riqueza destas espécies diferiu significativamente entre as variedades de algodão Bt e não-Bt ($t= 3,05$; $gl= 8$; $p= 0,016$). O maior número de espécies ocorreu no tratamento não-Bt. Em apenas um dia observou-se maior riqueza no algodão Bt, quando o total de espécies de formigas coletadas foi superior aos demais dias de avaliação (Figura 3).

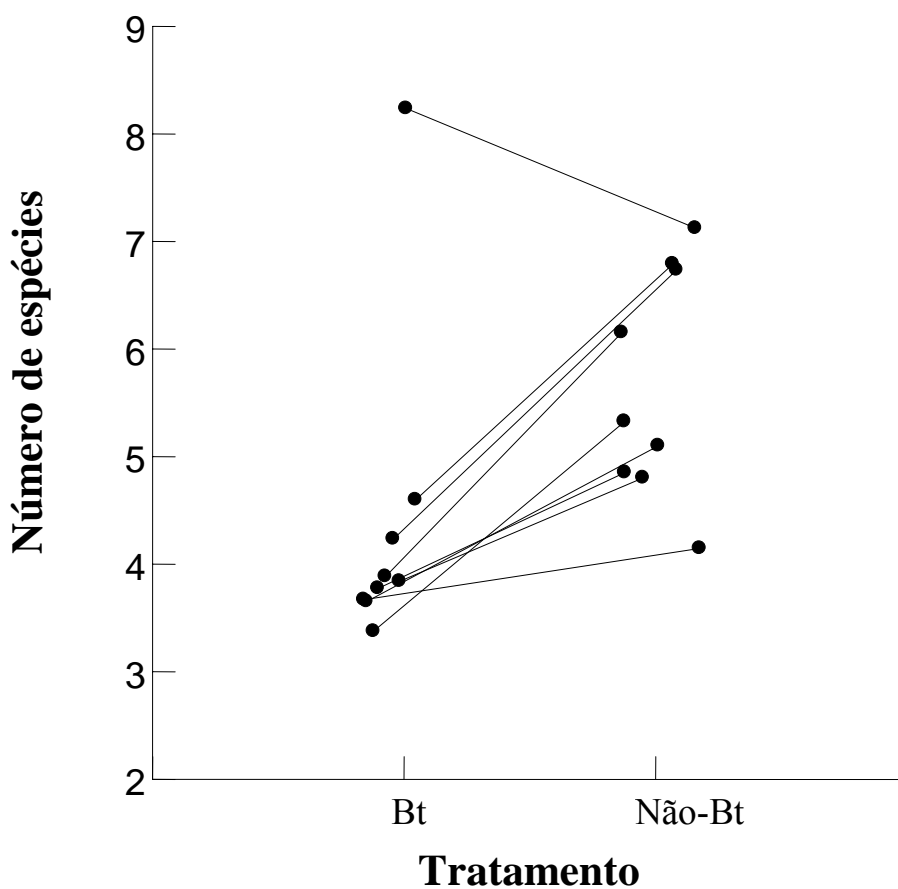


Figura 3. Riqueza de espécies de formigas nos tratamentos de algodão Bt e não Bt, em nove dias de amostragem, Maracaju-MS, Brasil, safra 2007/2008.

A diferença em composição das espécies de formigas entre os dois tratamentos foi significativa (Pillai Trace= 0,38; $F= 4,6$; $gl= 2$ e 15 ; $p=0,028$), sendo as espécies de formigas ocorrentes no cultivo não-Bt diferentes daquelas que ocorreram no Bt (Figura 4). As espécies que mais contribuíram para

essa diferença ($r > 0,5$) foram *Camponotus* sp.1, *Labidus* sp.1, *Pheidole* sp.2, *Pheidole oxyops*, *Solenopsis saevissima*, *Brachymyrmex* sp.1 e *Dorymyrmex* sp.1.

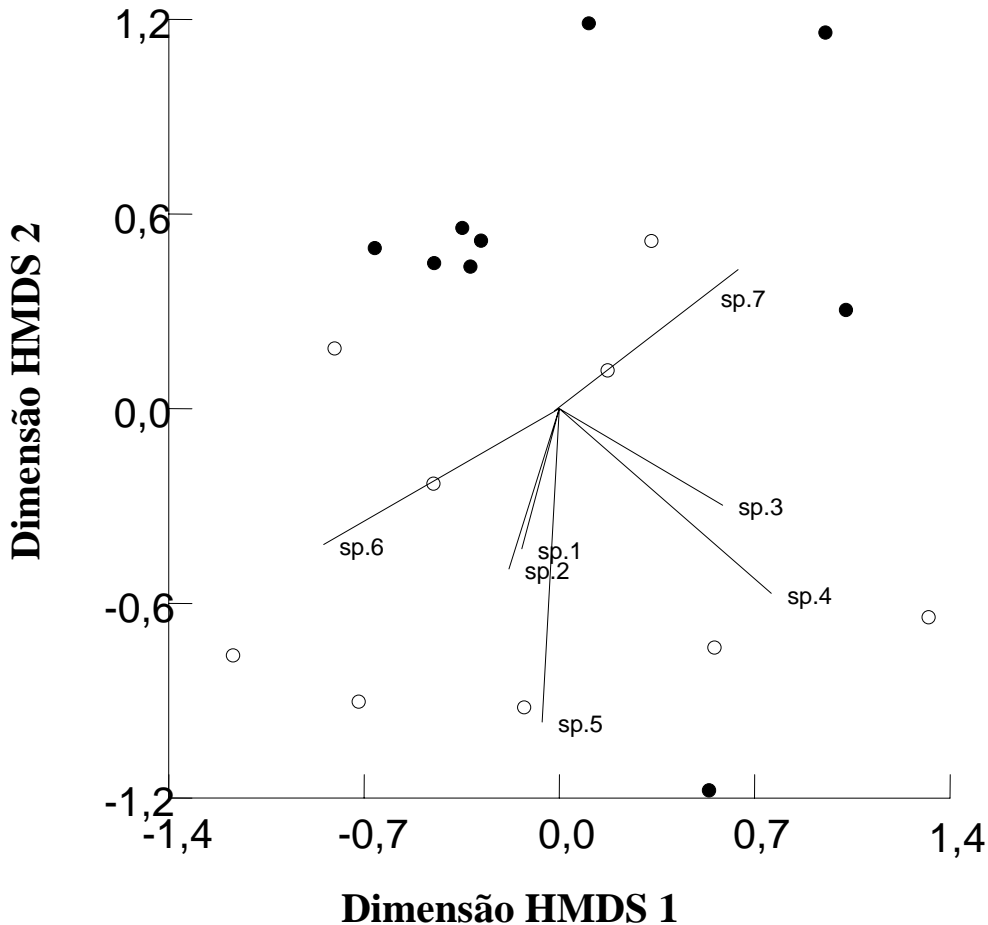


Figura 4. Composição das espécies de formigas, representada pela ordenação das amostras por escalonamento multidimensional híbrido (HMDS, stress= 0,18), correlacionadas com os tratamentos Bt (pontos preenchidos) e não Bt (pontos em branco). As linhas representam a contribuição de cada uma das espécies para esta ordenação. **sp1-** *Camponotus* sp.1, **sp2-** *Labidus* sp.1, **sp3-** *Pheidole* sp.2, **sp4-** *Pheidole oxyops*, **sp5-** *Solenopsis saevissima*, **sp6-** *Brachymyrmex* sp.1, **sp7-** *Dorymyrmex* sp.1 (*Pheidole* sp.1 e *Solenopsis* sp.1 apresentaram correlação menor que 0,5 com o plano de ordenação e não foram representadas), Maracaju-MS, Brasil, safra 2007/2008.

Com relação aos insetos coletados da ordem Coleoptera, foram constatadas 54 espécies de 15 famílias totalizando 707 indivíduos (Tabela 2).

Tabela 2. Número de indivíduos das espécies (ou morfo-espécies) de Coleoptera coletados em armadilha “pitfall” em cultivares de algodão Bt e não-Bt, Maracaju-MS, Brasil, safra 2007/2008.

Taxon	Tratamento	
	Bt	não-Bt
Anthicidae		
<i>Formicilla</i> sp.1	5	2
Carabidae		
<i>Calosoma granulatum</i>	3	29
<i>Galerita</i> sp.1	1	2
<i>Scarites</i> sp.1	1	3
<i>Tetracha</i> sp.1	1	13
sp.4	5	1
sp.5	1	2
sp.6	0	1
sp.7	0	1
sp.8	1	0
Chrysomelidae		
<i>Brasilaphthona</i> sp.	5	8
<i>Systema</i> sp.1	1	0
<i>Phaedon consimilis</i>	0	1
<i>Colaspis joliveti</i>	5	1
<i>Myochrous</i> sp.	0	1
sp.9	3	0
Coccinelidae		
<i>Cycloneda sanguinea</i>	2	2
<i>Eriopis connexa</i>	4	14
<i>Hippodamia convergens</i>	6	4
<i>Hyperaspis festiva</i>	3	4
<i>Scymnus (Scymnus)</i> sp.	4	11
Colydiidae		
<i>Phloeonemus</i> sp.1	7	0
Curculionidae		
<i>Conotrachelus</i> sp.	0	1
<i>Rhyssomatus</i> sp.	0	1
<i>Sternechus subsignatus</i>	1	0
Elateridae		
<i>Aeolus</i> sp.1	2	2
<i>Aeolus</i> sp.2	1	1
<i>Conoderus malleatus</i>	11	4
<i>Heteroderes</i> sp.1	4	0
Erotylidae		
<i>Pselaphacus</i> sp.	1	0
Histeridae		
<i>Phelister</i> sp.1	1	0
Nitidulidae		
<i>Carpophilus</i> sp.	141	143

Tabela 2 (cont.).

Taxon	Tratamento	
	Bt	não-Bt
<i>Stelidota</i> sp.	13	10
Scarabaeidae		
<i>Ataenius</i> sp.1	2	4
<i>Leucothyreus kirbyanus</i>	1	0
<i>Canthidium</i> sp.1	19	81
<i>Canthon chalybaeus</i>	2	2
<i>Canthon histrio</i>	1	0
<i>Canthon</i> sp.1	2	6
<i>Coprophanaeus cyanecens</i>	1	0
<i>Coprophanaeus horus</i>	0	3
<i>Pseudocanthon</i> sp.	1	1
<i>Eutrichillum</i> sp.	0	10
Scirtidae		
<i>Scirtes</i> sp.1	36	14
Silvanidae		
<i>Ahasverus</i> s.p	4	2
Staphylinidae		
<i>Pinophilus</i> sp.	1	0
sp.12	1	0
sp.13	0	1
sp.10	1	1
sp.11	2	7
Tenebrionidae		
<i>Ctesia hirta</i>	1	1
<i>Lagria villosa</i>	0	1
<i>Blapstinus</i> sp.1	1	1
sp.14	1	0
Total indivíduos	310	397

As espécies utilizadas nas análises estatísticas estão destacadas em cinza.

Para as análises dos dados utilizou-se 661 indivíduos distribuídos em 27 espécies que ocorreram em pelo menos três amostras. A riqueza de espécies nos dois tratamentos (Figura 5) não diferiu significativamente entre o algodão não-Bt e Bt ($t=0,496$; $gl=8$; $p=0,633$).

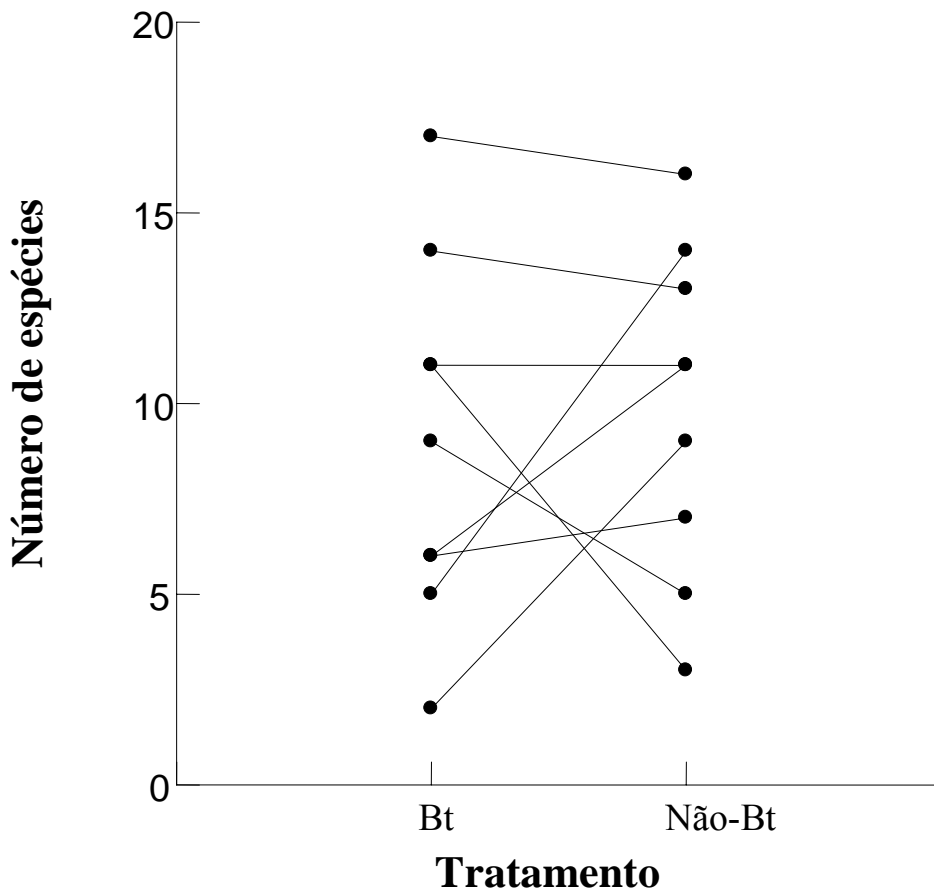


Figura 5. Riqueza de espécies de Coleoptera nos tratamentos de algodão Bt e não Bt, em nove dias de amostragem, Maracaju-MS, Brasil, safra 2007/2008.

A ordenação em duas dimensões (stress= 0,20) representou a variação na composição das espécies de Coleoptera nos tratamentos de algodão Bt e não-Bt (Figura 6). As espécies que ocorreram no algodão não-Bt são significativamente diferentes daquelas que ocorreram no Bt (Pillai trace=0,52; $F=8,12$; $gl= 2$ e 15 ; $p=0,004$). Das 27 espécies analisadas, nove foram as que mais contribuíram para essa diferença ($r>0,5$): *Canthon* sp.1; *Canthidium* sp.1; *Calosoma granulatum* Perty; *Scymnus scymnus* sp.1; *Eriopis connexa* Germar; *Brasilaphthona* sp.1; *Conoderus malleatus* Germar; *Scirtes* sp.1 e *Carpophilus* sp.1.

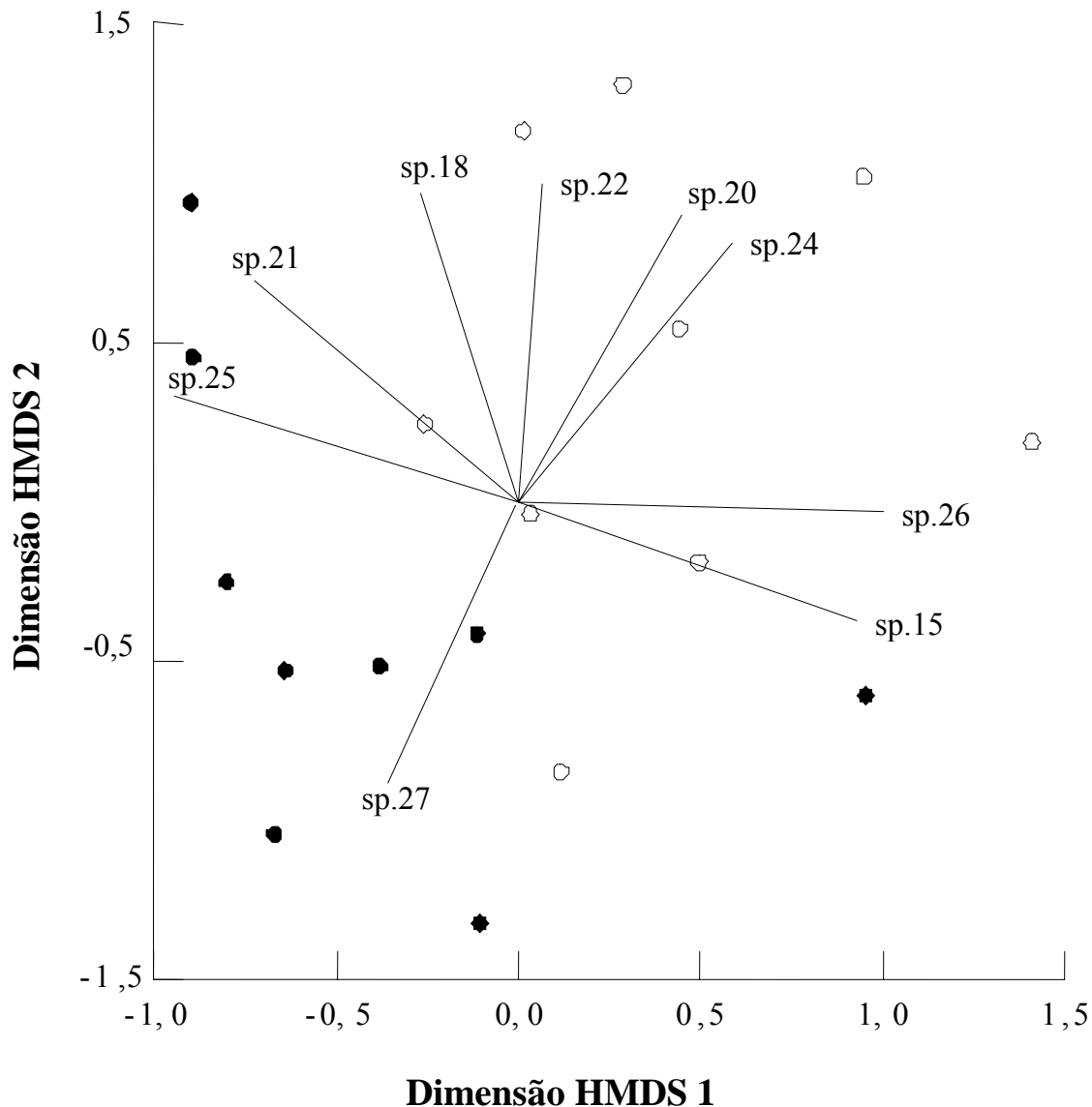


Figura 6. Composição das espécies de Coleoptera, representada pela ordenação das amostras por escalonamento multidimensional híbrido (HMDS), correlacionadas com os tratamentos Bt (pontos preenchidos) e não Bt (pontos em branco). **sp.15** – *Canthon* sp.1; **sp.26** – *Canthidium* sp.1; **sp.24** – *Calosoma granulatum*; **sp.20** – *Scymnus scymnus* sp.1; **sp.22** – *Eriopis connexa*; **sp.18** – *Brasilaphthona* sp.1; **sp.21** – *Conoderus malleatus*; **sp.25** – *Scirtes* sp.1; **sp.27** – *Carpophilus* sp.1, as demais espécies apresentaram correlação menor que 0,5 com o plano de ordenação e não foram representadas, Maracaju-MS, Brasil, safra 2007/2008.

Dos coleópteros analisados, quatro espécies predominaram no tratamento não-Bt: *C. granulatum*, *Tetracha* sp1, *E. connexa* e *Canthidium* sp.1. Assim como no tratamento Bt também predominaram outras quatro espécies: *Phloeonemus* sp.1, *Scirtes* sp.1, *C. malleatus*, *Heteroderes* sp.1, sendo as duas últimas com ocorrência exclusiva no tratamento Bt (Tabela 2)

Discussão

Os espécimes dos gêneros de formigas, *Solenopsis*, *Pheidole*, *Camponotus*, *Labidus*, *Brachymyrmex* e *Dorymyrmex*, encontradas nesse estudo são predadoras generalistas, e também foram ocorrem comumente no agroecossistema de algodoeiro no Nordeste e no Centro Oeste brasileiro (Bastos e Torres, 2003; Monteiro, 2008).

A riqueza de espécies dessas formigas no tratamento Bt foi inferior quando comparado ao não-Bt, discordando de Ramírez *et al.* (2005) que não observaram diferença na comunidade de formigas entre cultivos dessas duas cultivares de algodão. Assim como outras pesquisas também desenvolvidas em campo de algodão Bt e não-Bt indicam uma pequena ou, às vezes, nenhuma diferença na comunidade de outros artrópodes benéficos (Whitehouse *et al.*, 2005; Ramiro e Faria, 2006). Quando se comparou campos de milho Bt e não-Bt foi observada pouca diferença na abundância de predadores generalistas não-alvo da proteína Bt, porém, o parasitóide especialista *Macrocentrus cingulum* Brischke (Hymenoptera) teve menor abundância no campo transgênico (Pilcher *et al.*, 2005).

As formigas da espécie *Labidus* sp.1 ocorreram exclusivamente no tratamento não-Bt; este comportamento pode ser resultado de um efeito deletério do tratamento Bt. Também é possível que sua ocorrência exclusiva seja devido à maior abundância de alimento para essas predadoras no cultivo não-Bt. Outros trabalhos constataram no cultivo do algodão GM abundância de predadores inferior quando comparado ao cultivo não-Bt, bem como o tratamento com inseticida teve menor abundância de predadores quando comparado ao tratamento Bt (Sisterson *et al.*, 2007; Wolfenbarger *et al.*, 2008).

As espécies de formigas que compõe as amostras dos cultivos Bt e não-Bt são diferentes, embora, duas espécies tenham sido predominantes em ambos os tratamentos, ocorrendo em todas as armadilhas durante as amostragens, sendo elas *Pheidole* sp.1 e *Solenopsis* sp.1. Monteiro (2008) constatou que a partir da floração do algodoeiro estes dois gêneros de formiga predominaram no cultivo do algodão. Pode ser esta a razão da abundância dessas duas espécies de formigas no presente estudo, já que as coletas foram realizadas apenas no período reprodutivo do algodoeiro. Essas formigas estão entre as que apresentam alta riqueza de espécies em regiões tropicais (Wilson, 1976), predominantes nos ecossistemas terrestres por suas espécies possuírem ampla tolerância às condições

físicas do ambiente (Andersen, 1991), apresentando grande capacidade de colonizar habitats alterados pelo homem e com baixa complexidade estrutural (Fonseca e Diehl, 2005). As formigas destes gêneros são predadores de lagartas de Lepidoptera *A. argillacea* praga alvo do algodão Bt (Gravena e Pazetto, 1987) e *Helicoverpa armigera* Hübner não-alvo do Bt (Mansfield *et al.*, 2003), de Coleoptera não-alvo, *A. grandis* (Fernandes *et al.*, 1994) e *Hippodamia convergens* Guerin-memeville (Kaplan e Eubanks, 2002).

Para tentar compreender os motivos dos impactos do cultivo de algodão Bt sobre a fauna de formigas, é importante observar como o cultivo de plantas Bt tem influenciado outros organismos. Quando se trata de experimentos para analisar o efeito de plantas transgênicas em organismos não-alvo, os trabalhos são realizados com organismos sensíveis, como por exemplo, as minhocas (Annelida), que são sensíveis a vários tipos de toxinas no solo. Foi constatada a presença da proteína Cry1Ab no intestino de minhocas introduzidas em solos com presença de Bt, apesar disto, o número total de nematóides, culturas de protozoários e bactérias, infestantes do seu sistema digestivo, não foram afetadas pela referida toxina (Saxena e Stotzky, 2000). Posteriormente, outro experimento utilizando minhocas foi realizado em campo de milho Bt, verificando-se que os resíduos dessa cultura não afetam o crescimento ou desenvolvimento da minhoca *Aporrectodea caliginosa* Savigny (Oligochaeta) quando comparado com o milho não-Bt (Vercesi *et al.*, 2006). Também foram realizados experimentos com ácaros de solo, através de intensa ingestão de toxina Bt, verificou-se que a sobrevivência ou desenvolvimento da espécie *Scheloribates praeincisus* Berlese (Acari) não foi afetada (Oliveira *et al.*, 2007). Do mesmo modo, através de experimentos em laboratório desenvolvidos com *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera) também foi verificado que a toxina Bt não tem nenhum efeito sobre este predador (Andow e Hilbeck, 2004). Assim como as minhocas, ácaros e neurópteros, as formigas não são alvo da toxina Bt, mas ao contrário dos outros organismos, as formigas foram afetadas pela cultura transgênica.

Estudos de exposição de Coleoptera à proteína Cry foram realizados em campo de milho Bt (Cry1Ab) com sete espécies (*Agonum placidum* Say, *Bembidion ruficolle* Kirby, *Clivina impressifrons* LeConte, *Cyclotrachelus iowensis* Freitag, *Harpalus pensylvanicus* DeGeer, *Poecilus chalcites* Say e

Poecilus lucublandus Say). Através de teste ELISA foi detectado que todos os indivíduos coletados no campo continham a proteína Cry1Ab, o que significa que algumas espécies não-alvo são contaminadas quando expostas à proteína Cry, mas, as implicações desta exposição ainda não são claras (Zwahlen e Andow, 2005). Nesse sentido, o presente estudo detectou algumas implicações faunísticas (composição e riqueza) nas populações de coleópteros e formigas quando na presença da cultivar de algodão que expressa a toxina Cry. Mas, como esta é uma pesquisa pioneira no Brasil, principalmente por obter resultados em nível específico, conseqüentemente ainda não está claro o motivo da composição das espécies de Coleoptera serem diferentes entre os cultivos do algodão Bt e não-Bt.

Os coleópteros predominantes no cultivo não-Bt são na maioria predadores (*C. granulatum*, *Tetracha* sp.1, *E. connexa*). É possível que a ocorrência destes predadores em maior número neste tratamento seja devido à maior disponibilidade de presas ou até mesmo por um efeito deletério do tratamento Bt sobre estas espécies.

Já os coleópteros que predominaram no cultivo Bt são na maioria herbívoros (*Phloeonemus* sp.1, *C. malleatus* e *Heteroderes* sp.1), talvez a competição pelo alimento no tratamento Bt seja inferior ao não-Bt, ou até mesmo em função da menor ocorrência de predadores como foi constatado neste estudo.

Os resultados deste estudo indicam que o cultivo de algodão Bt afetou negativamente a fauna de formigas, já que o número de espécies no tratamento Bt foi inferior ao não-Bt. Também causou um efeito espécie-específico para alguns indivíduos de Formicidae e Coleoptera, ou seja, a composição das espécies entre os tratamentos foi diferente. É necessário, portanto, mais estudos sobre o impacto de plantas GM sobre os indivíduos da Família Formicidae e da Ordem Coleoptera, pois estes insetos têm grande importância para a qualidade do solo, proteção da planta atuando como predadores de insetos praga, dentre outras interações ecológicas. O fato de terem sido observados impacto negativos sobre a entomofauna de solo em uma área com pouco tempo de cultivo de algodão Bt, existe a possibilidade de modificações ainda maiores em longo prazo.

Agradecimentos

À equipe da UFPR: Professor Dr Germano H. Rosado Neto, aos doutorandos Paschoal Coelho Grossi e Geovan Henrique Corrêa, e aos mestrados Angelico F. Asenjo Flores e Fernando Leivas pela identificação dos insetos da ordem Coleoptera. À Stela de Almeida Soares (UFGD) pela identificação das formigas. À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela concessão bolsa de estudos.

Referências Bibliográficas

- Andersen, A. N., 1991. Responses of ground-foraging ant communities to three experimental fire regimes in a savanna forest of tropical Australia. *Biotropica* 23, 575-585.
- Andow, D., Hilbeck, A., 2004. Science-based risk assessment for non-target effects of transgenic crops. *Bioscience* 54, 637-649
- Andow, D., 2008. The risk of resistance evolution in insects of transgenic insecticidal crops. *Collection of Biosafety Reviews* 4, 142-199.
- Andrade, G., Nogueira, M.A., 2005. Bioindicadores para uma análise de risco ambiental: organismos geneticamente modificados e grupos funcionais de microorganismos do solo. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* 34, 13-21.
- Bastos, C.S., Torres, J.B., 2003. Controle Biológico como opção no manejo de pragas do algodoeiro. *Embrapa CNPA Circular técnica 72, Campina Grande, 29 pp.*
- Bastos, C.S., Torres, J.B., 2005. Controle Biológico e o manejo de pragas do algodoeiro. *Embrapa CNPA Circular técnica 72, Campina Grande, 63 pp.*
- Bélot, J.L, Carraro, I. M., Vilela, P.C. A., Pupim Jr, O., Martin, J., Silvie, P., Marquié, C., 2005. Novas variedades de algodão obtidas no Brasil: 15 anos de colaboração entre a Coodetec e o Cirad. *Cadernos de Ciência & Tecnologia* 22, 479-494.
- Birch, A.N.E., Wheatley, R., Anyango, B., Arpaia, S., Capalbo, D., Degaga, G., Fontes, E., Kalama, P., Lelmen, E., Løvei, G., Melo, I.S., Muyekho, F., Nigi-Song, A., Ochieno, D., Ogwang, J., Pitelli, R., Schuler, T., Sétamou, M., Sithanatham, S., Smith, J., Van Son, N, Songa, J., Sujii, E., Tan, T.Q., Wan, F.-H., Hilbeck, A., 2006. Biodiversity and non-target impacts: a case study of Bt maize in Kenya. In: Hilbeck, A., Andow, D.A. (Eds). *Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms Volume 1: A case study of Bt maize in Kenya*. CABI Publishing, pp. 117-185.
- Bray, J.R., Curtis, J.T., 1957. Na ordination of the upland Forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 27, 325-349.

- Bruyn, L.A.L., 1999. Ants as bioindicators of soil function in rural environments. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74, 425-441.
- Capalbo, D.M.F., Vilas-Bôas, G.T., Arantes, O.M.N., Suzuki, M.T., 2005. *Bacillus thuringiensis*: formulações e plantas transgênicas. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* 34, 78-85.
- Faith, D.P., Minchin, P.R., Belbin, L., 1987. Compositional dissimilarity as a robust measure of ecological distance. *Vegetatio* 69, 57-68.
- Fernandes, W.D., Oliveira, P.S., Carvalho, S.L., Habib, M.E.M., 1994. *Pheidole* ants as potential biological control agents of the boll weevil, *Anthonomus grandis* (Col., Curculionidae), in Southeast Brazil. *Journal of Applied Entomology* 118, 437-441.
- Fonseca, R.C., Diehl, E., 2005. Riqueza de formigas (Hymenoptera, Formicidae) epigéicas em povoamentos de *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae) de diferentes idades no Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia* 48, 95-100.
- Fowler, H.G., Forti, L.C., Brandão, C.R.F., Delabie, J.H.C., Vasconcelos, H.L., 1991. Ecologia nutricional de formigas. In: Panizzi, A.R., Parra, J.R.P. (Eds), *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. São Paulo, Editora Manole & CNPq, 359 pp.
- Gravena, S., Pazetto, J.A., 1987. Predation and parasitism of cotton leafworm eggs, *Alabama argillacea* (Lep.: Noctuidae). *Entomophaga* 32, 241-248.
- Höfte, H., Whiteley, H.R., 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews* 53, 242-255.
- Icoz, I., Stotzky, G., 2008. Fate and effects of insect-resistant Bt crops in soil ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry* 40, 559-586.
- Kaplan, I., Eubanks, M.D., 2002. Disruption of Cotton Aphid (Homoptera: Aphididae) – Natural Enemy Dynamics by Red Imported Fire Ants (Hymenoptera: Formicidae). *Environmental Entomology* 31, 1175-1183.
- Lima, H.V., Oliveira, T.S., Oliveira, M.M., Mendonça, E.S., Lima, P.J.B.F., 2007. Indicadores de qualidade do solo em sistemas de cultivo orgânico e convencional no semi-árido cearense. *Revista Brasileira Ciências do Solo* 31, 1085-1098.

- Liu, B., Zeng, Q., Yan, F., Xu, H., Xu, C., 2005. Effects of transgenic plants on soil microorganisms. *Plant and Soil* 271, 1-13.
- Mansfield, S., Elias, N.V., Lytton-Hitchins, J.A., 2003. Ants as egg predators of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australian cotton crops. *Australian Journal of Entomology* 42, 349-351.
- Mendonça-Hagler, L.C., Melo, I.S. De, Valadares-Inglis, M.C., Anyango, B.M., Siqueira, J.O., Toan, P. V., Wheatley, R.E., 2006. Non-target and biodiversity impacts in soil. In: Hilbeck, A., Andow, D.A., Fontes, E.M.G. (Eds) *Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms Volume 2: Methodologies for Assessing Bt Cotton in Brazil*. CABI Publishing, pp. 225-260.
- Mendonça-Hagler, L.C., Souza, L., Aleixo, L., Oda, L., 2008. Trends in biotechnology and biosafety in Brazil. *Environmental Biosafety Research* 7, 115-121.
- Monteiro, A.F.M., 2008. Diversidade de formigas (Hymenoptera: Formicidae) em sistemas de cultivo de algodoeiro no Distrito Federal. Brasília: Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ecologia, Universidade de Brasília, (on line) http://bdtd.bce.unb.br/tesesimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=3432
- Oliveira, A.R., Castro, T.R., Capalbo, D.M.F., Delalibera Jr, I., 2007. Toxicological evaluation of genetically modified cotton (Bollgard®) and Dipel® WP on the non-target soil mite *Scheloribates praeincisus* (Acari: Oribatida). *Experimental and Applied Acarology* 41, 191-201.
- Pilcher, C.D., Rice, M.E., Obrycki, J.J., 2005. Impact of Transgenic *Bacillus thuringiensis* Corn and Crop Phenology on Five Nontarget Arthropods. *Environmental Entomology* 34, 1302-1316.
- Ramírez, M., Rodríguez, J., Mazo, A., Peck, D.C., 2005. Evaluation of the ant community (Hymenoptera: Formicidae) in conventional (DP5415) and Bt-modified (NuCotn 33B) cotton in the Cauca Valley, Colombia. *CITA Annual Reporte* 166-113.
- Ramiro, Z.A., Faria, A.M., 2006. Levantamento de insetos predadores nos cultivares de algodão Bollgard® DP90 e convencional Delta Pine Acala 90. *Arquivos do Instituto Biológico* 73, 119-121.

- Sankula, S., 2006. Crop Biotechnology in the United States: Experiences and Impacts. In: Halford, N.G. (Ed). Plant Biotechnology. John Wiley & Sons Ltd., 29-52pp.
- Saxena, D., Stotzky, G., 2000. Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic *Bt* corn *in vitro* and *in situ*. FEMS Microbiology Ecology 33, 35-39.
- Sisterson, M.S., Biggs, R.W., Manhardt, N.M., Carrière, Y., Dennehy, T.J., Tabashnik, B.E., 2007. Effects of transgenic Bt cotton on insecticide use and abundance of two generalist predators. Entomologia Experimentalis et Applicata 124, 305-311.
- Smeding, F.W., Snoo, G.R., 2003. A concept of food-web structure in organic arable farming systems. Landscape and Urban Planning 65, 219-236.
- Vadakattu, G., Watson, S., 2004. Ecological impacts of GM cotton on soil biodiversity: Below ground production of Bt by GM cotton and Bt cotton impacts on soil biological processes. Consultancy report by CSIRO Land and Water, 72 pp.
- Vercesi, M.L., Krogh, P.H., Holmstrup, M., 2006. Can *Bacillus thuringiensis* (Bt) corn residues and Bt-corn plants affect life-history traits in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*? Applied Soil Ecology 32, 180-187.
- Wilson, E. O., 1976. Which are the most prevalent ant genera? Studia Entomologica 19, 187-200.
- Whitehouse, M.E.A., Wilson, L.J., Fitt, G.P., 2005. A Comparison of Arthropod Communities in Transgenic Bt and Conventional Cotton in Australia. Environmental Entomology 34, 1224-1241.
- Wolfenbarger, L.L., Naranjo, S.E., Lundgren, J.G., Bitzer, R., Watrud, L.S., 2008. Bt Crop Effects on Functional Guilds of Non-Target Arthropods: A Meta-Analysis. PLoS ONE 3, e2118.
- Zwahlen, C., Andow, D.A., 2005. Field evidence for the exposure of ground beetles to Cry1Ab from transgenic corn. Environmental Biosafety Research 4, 113-117.

Capítulo 2

**Impacto de algodão geneticamente modificado sobre Collembola
(Ellipura).**

Abstract

Genetically modified (GM) plants that express the toxin from the bacterium *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) are developed for the control of insect pests in different crops. However, it is not clear if the cultivation of GM plants on a large scale can cause any changing in the soil ecosystem. Although, there are few studies about the risks of GM plants on the biodiversity. In this work, it was evaluated the impact of GM *Gossypium hirsutum* Linnaeus (Malvaceae) on the fauna of Collembola non target of the Bt technology in the field. For this, samples from soil under the cultivation of Bt and non-Bt cotton were monthly collected in Berlese-Tullgren funnels. Aiming the assessment of ecological impacts, individuals from the order Collembola (Ellipura) were studied due to the importance they have as indicators of soil quality. The results indicate that Bt cotton compared to non-Bt cotton had an impact on the fauna of Collembola after the reproductive period of the crop, and the richness of species was lower in Bt cotton after flowering. However, the species collected in both treatments presented the same composition, but it was noticed a reduction in the number of individuals in the Bt crop, showing that the whole community of Collembola was sensitive to Bt treatment.

Keywords: Cotton; *Bacillus thuringiensis*; non-target organisms; Cry1Ac.

Resumo

Plantas geneticamente modificadas (GM) que expressam a toxina da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) são desenvolvidas visando o controle de insetos-pragas em diferentes cultivos. No entanto, não está claro o que o cultivo de plantas GM em larga escala pode ocasionar no ecossistema do solo. Ainda são poucos os estudos sobre o risco de plantas GM realizados em campo. Neste trabalho, foi avaliado o efeito de plantas GM de algodoeiro *Gossypium hirsutum* Linnaeus (Malvaceae) sobre a fauna de Collembola não-alvo da tecnologia Bt, em condições de campo. Para tanto, foram coletadas amostras de solo na cultura de algodão Bt e não-Bt e depositadas mensalmente em funil de Berlese-Tullgren. Para a avaliação de impacto, foram avaliados os indivíduos da ordem Collembola (Ellipura) devido sua importância como indicadores da qualidade do solo. Os resultados indicaram que o algodão Bt comparado ao algodão não-Bt causou impacto na fauna de Collembola após o seu período reprodutivo, sendo a riqueza de espécies inferior no tratamento com algodão Bt após a floração do algodão. Todavia, as espécies coletadas em ambos os tratamentos foram as mesmas. Como houve redução do número de indivíduos no cultivo Bt, demonstra-se que a comunidade de Collembola foi sensível ao tratamento Bt.

Palavras-Chave: Algodoeiro; *Bacillus thuringiensis*; organismos não-alvo; plantas Bt; Cry1Ac.

Introdução

O uso de plantas geneticamente modificadas (GM) resistentes a insetos é uma estratégia de manejo de pragas agrícolas, recentemente desenvolvida. Através da tecnologia do DNA recombinante, um gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) tem sido introduzido no genoma de plantas (Armstrong *et al.*, 1995), conferindo alto padrão de resistência das plantas a algumas espécies de insetos pragas especialmente da ordem Lepidoptera (Flores *et al.*, 2005).

Atualmente existem dois tipos de algodão GM resistente a insetos, o primeiro a ser lançado comercialmente foi o Bollgard[®] I que expressa a endotoxina Cry1Ac, e posteriormente, o Bollgard[®] II que expressa os genes Cry1Ac e Cry2Ab (Sankula, 2006). No Brasil, apenas o Bollgard[®] I evento 531 (Monsanto) foi liberado para comercialização (Mendonça-Hagler *et al.*, 2008).

A introdução de plantas GM tem ocasionado uma série de questões, uma delas é o impacto ecológico dessas plantas no agroecossistema. As toxinas Bt são sintetizadas durante o crescimento da planta, podem se expressar em qualquer tecido vegetal, podendo esta toxina ser liberada no solo através dos exsudados das raízes da planta. A consumação, inativação e degradação dessa toxina dependem dos microorganismos edáficos e de fatores como temperatura e tipo de solo (Tapp e Stotzky, 1995; Stotzky, 2000; Shelton *et al.*, 2002; Sanvido *et. al.*, 2006). Se a toxina acumular no solo, pode afetar organismos não-alvo tais como o da microbiota do solo e insetos benéficos (Mendonça-Hagler *et al.*, 2008).

Exemplo de organismos benéficos são os Collembola (Ellipura), pois estes desempenham um papel importante no processo de decomposição de matéria orgânica, influenciando a ecologia microbiana e a fertilidade do solo (Hopkin, 1997). Estes pequenos artrópodes têm como predadores os ácaros, coleópteros e aranhas. Vivem em lugares úmidos, próximos à superfície do solo (Daly *et al.*, 1998) e em solo humoso, entre musgos, sobre ou sob folhas caídas, na bainha de folhas de plantas e no meio de detritos vegetais em decomposição. Dependendo da espécie, estes organismos podem viver na superfície de lagos de água doce ou ao longo de praias marinhas, sobre a neve ou em formigueiros e termiteiros. São raros em regiões secas e muitos são transportados pelo vento (Buzzi, 2002). Também são encontrados na região das raízes das plantas, podendo assim serem expostos as proteínas liberadas

no solo pelos exsudados das plantas (O'Callaghan *et al.*, 2005). Uma vez que são os artrópodes mais abundantes do solo, os indivíduos de Collembola desempenham um importante papel como decompositores na cadeia alimentar (Petersen, 2002). São Hexapoda e ápteros, com aproximadamente 7500 espécies descritas, sendo que no Brasil existem 199 espécies descritas em 80 gêneros de 19 famílias, com 127 espécies constatadas apenas no Brasil (Culik e Zeppelini Filho, 2003). Podem ser saprófagos, fungívoros, fitófagos e raramente predadores (Gillott, 2005). A preferência alimentar depende da espécie, e a composição de espécies e estrutura da comunidade de Collembola influencia os processos de decomposição de matéria orgânica e mineralização de nutrientes (Chahartaghi *et al.*, 2005).

Vários riscos e hipóteses sobre os impactos do algodão Bt nos ecossistemas de solos no Brasil foram determinados. O principal tema abordado foi a possibilidade da toxina Bt ter efeitos adversos na biodiversidade e dinâmica funcional dos organismos de solo. Mesmo quando se comprovou a ausência de evidências de impactos negativos sobre a entomofauna, não pode ser descartada a possibilidade de algum efeito em longo prazo, o que somente com o plantio de transgênicos em ampla escala e em longo prazo poderão ser identificados e quantificados os seus respectivos impactos (Mendonça-Hagler *et al.*, 2006). A maioria dos estudos de análise de risco foi desenvolvida em laboratório e não foram sujeitos às variações naturais, como por exemplo, tipo de solo, idade da planta, cultivares, rotação de culturas e práticas agrícolas (Sanvido *et al.*, 2006). Portanto, ainda não está claro o nível de impacto ecológico de culturas GM. Devido a importância dos Collembola como indicadores da qualidade do solo e a carência de estudos sobre os efeitos de culturas GM nesses organismos, objetivou-se analisar o efeito da toxina Bt liberada pela planta de algodão GM, sobre a fauna de Collembola.

Material e Métodos

Local de instalação dos experimentos – O experimento foi conduzido na área experimental da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD (latitude 22° 14'S, longitude de 54° 49'W e altitude de 458 metros). Apresenta clima Mesotérmico Úmido, verões quentes e invernos secos e o

solo predominante na região é o Latossolo Vermelho Distroférico e Eutriférico, apresentando-se com textura argilosa e o relevo é normalmente plano e suavemente ondulado (Mato Grosso do Sul, 1990).

A instalação da área para produção das plantas seguiu os padrões normais de produção da cultura. Realizou-se o preparo de solo através de subsolagem + grade intermediária + grade niveladora. A semeadura da cultura foi feita utilizando 14 sementes por metro linear. Nas áreas semeadas com algodão *Gossypium hirsutum* Linneaus, onde foram demarcadas quatro áreas com 100m² (10 m x 10 m) cada um. Os tratamentos nesse campo experimental foram: o algodão-Bt (NuOpal[®] Bollgard[®]) que expressa a proteína Cry1Ac, e o algodão convencional não-Bt (DeltaOpal[®]).

O delineamento amostral constituiu-se de dois tratamentos e 40 repetições. Foram semeados quatro campos experimentais, sendo dois campos de algodão convencional e dois campos de algodão Bt, intercalados. Cada campo tinha 10 m x 10 m, representados por 12 linhas com espaçamento de 90 cm entre linhas, com aproximadamente 10 plantas por m² (Figura 1).

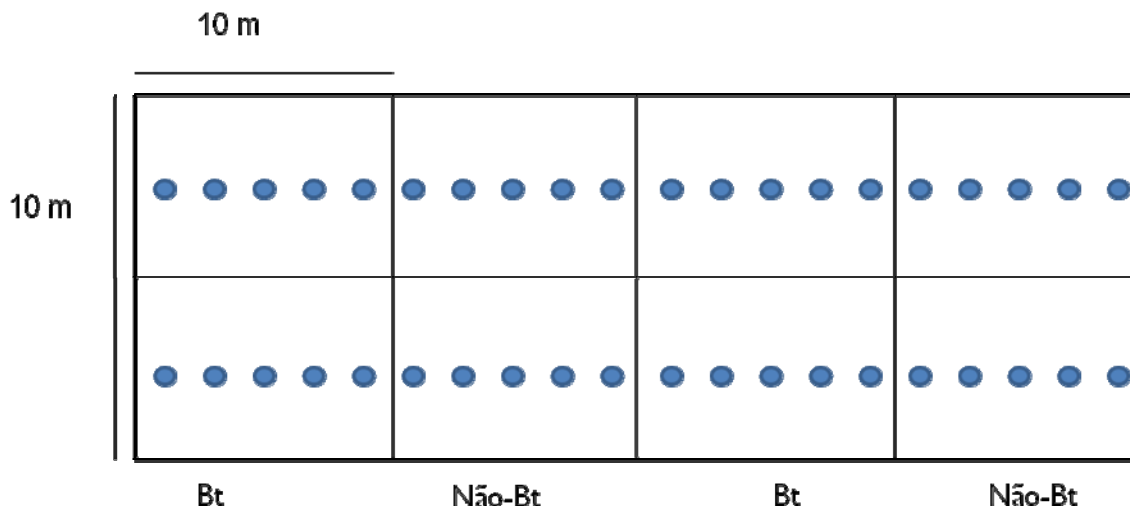


Figura 1. Disposição da área amostral de coleta de colêmbolos nos campos de algodão Bt e não-Bt intercalados. Os círculos representam o local de coleta do solo. Dourados-MS, safra 2007/2008.

Amostragem e identificação de Collembola – A primeira coleta foi realizada antes da semeadura e as demais aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a semeadura. As amostras foram realizadas através de um anel de metal com capacidade de 250 cm³ de solo, sendo realizadas 20 amostras de solo para o algodão Bt e outras 20 para o não-Bt. O solo coletado em cada um dos anéis foi armazenado em saco plástico e, posteriormente encaminhado para o Laboratório de Entomologia do Núcleo Experimental de Ciências Agrárias da UFGD. Estas amostras foram instaladas em uma bateria de funis de Berlese-Tullgren, em uma mesa expositora de metal de 2,20 m de comprimento x 2,00 m de altura e 0,40 m de largura, permanecendo nos funis por um período de sete dias. Este funil consiste de metal com 20 cm de altura, com uma tela de metal de malha fina localizada a aproximadamente 10 cm da abertura maior do funil. Sob cada funil havia um frasco coletor com líquido conservante (solução de 75% de álcool, 22% de água destilada, 2% de glicerina e 1% de formol). Para impelir a migração dos organismos do funil para o frasco coletor, instalaram-se lâmpadas 25 watts sobre os funis a uma distância de 30 cm da superfície do solo (Figura 2).



Figura 2. Procedimento de coleta de solo. A) anel de metal utilizado para coleta de solo; B) procedimento de coleta de solo com trado; C) bateria de funis na mesa expositora. Dourados-MS, safra 2007/2008.

Posteriormente com a utilização de lupa estereoscópica foi feita a triagem do material e em seguida a clarificação dos indivíduos para visualizar suas estruturas taxonômicas. Para a clarificação, foram utilizadas lâminas escavadas contendo ácido láctico onde foram submergidos os indivíduos de cada amostra por um período de cinco dias em estufa a 50°C. Depois de clarificados foram individualizados e identificados em nível de gênero utilizando microscópio de luz e chave taxonômica de Jordana e Arbea (1989), sendo todas as identificações confirmadas por especialistas da UFGD.

Análise estatística – Para a análise de riqueza de espécies foi utilizada a análise de variância hierárquica na qual os tratamentos (Bt e não-Bt) foram aninhados nos períodos pré e pós-floração. Para a análise de composição de espécies foi utilizada a técnica de ordenação por escalonamento multidimensional híbrido (HMDS) (Faith *et al.*, 1987). Considerou-se a distância Bray-curtis (Bray e Curtis, 1957) pela abundância relativa das espécies e uma análise de variância multivariada (MANOVA) considerando a estatística de Pillai Trace, para verificar as diferenças em composição de espécies entre os dois cultivos.

Resultados

Foram coletados 89 indivíduos de sete espécies e quatro famílias de Collembola: *Entomobryoide* sp., *Heteromurus* sp., *Lepidocyrtus* sp., *Seira* sp. (Entomobryidae), *Sminthurides* sp. (Sminthurididae), *Sminthurus* sp. (Sminthuridae) e *Dicyrtona* sp. (Dicyrtomidae), nos cultivares de algodão Bt e não-Bt (Tabela 1).

Tabela 1. Indivíduos de Collembola presentes nos cultivares de algodão Bt e não-Bt durante todo o ciclo do algodoeiro, safra 2007/2008, Dourados-MS, Brasil.

Taxon	Tratamento	
	Bt	não-Bt
Entomobryomorpha		
Entomobryidae		
<i>Entomobryoides</i> sp.	7	2
<i>Heteromurus</i> sp.	0	1
<i>Lepidocyrtus</i> sp.	6	4
<i>Seira</i> sp.	23	19
Symphyleona		
Sminthurididae		
<i>Sminthurides</i> sp.	1	0
Sminthuridae		
<i>Sminthurus</i> sp.	5	14
Dicyrtomidae		
<i>Dicyrtona</i> sp.	4	3
Total de indivíduos	46	43

Ao se comparar as amostragens de Collembola antes e após o início da floração das plantas, verificou-se que o número de espécies que ocorreu nos tratamentos Bt e não-Bt foram significativamente diferentes ($F=4,09$; $gl=2$; $p=0,05$), sendo que antes da floração o número de espécies foi maior no Bt; e após o início da floração mais espécies foram coletadas no tratamento não-Bt (Figura 3).

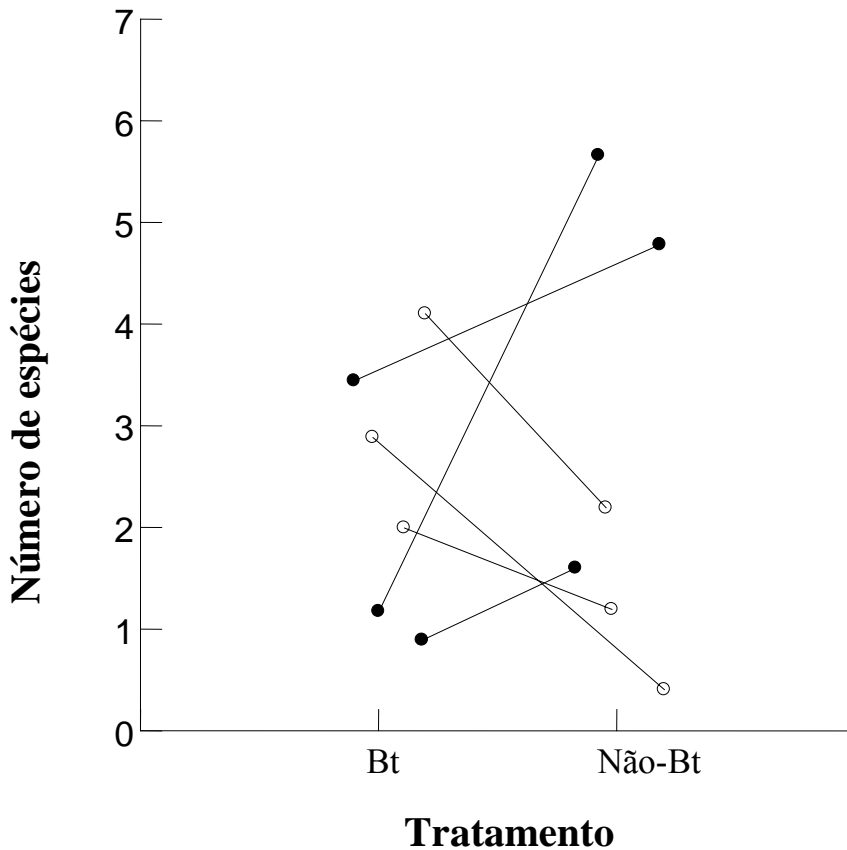


Figura 3. Riqueza de espécies de Collembola nos tratamentos de algodão Bt e não Bt, durante todo o ciclo do algodoeiro. Antes da floração – pontos em branco; Depois da floração – pontos preenchidos.

A composição de espécies foi representada pela ordenação em duas dimensões por escalonamento multidimensional híbrido (stress= 0,09) (Figura 4). Não houve variação significativa por tratamento ou por período (Pillai trace=0,06; $F=0,255$; $gl=2$ e 8 ; $p=0,781$), ou seja, as espécies presentes no tratamento Bt foram as mesmas presentes no não-Bt, até mesmo quando comparado o período pré e pós floração das plantas; sendo as espécies que mais contribuíram para tal resultado ($r>0,05$) foram *Dicyrtona* sp., *Entomobryoides* sp., *Seira* sp. e *Sminthurus* sp.

Colêmbolos da espécie *Heteromurus* sp. ocorreram exclusivamente do cultivo não-Bt, e apenas um indivíduo e *Sminthurides* sp. ocorreu somente no cultivo Bt e também somente um indivíduo.

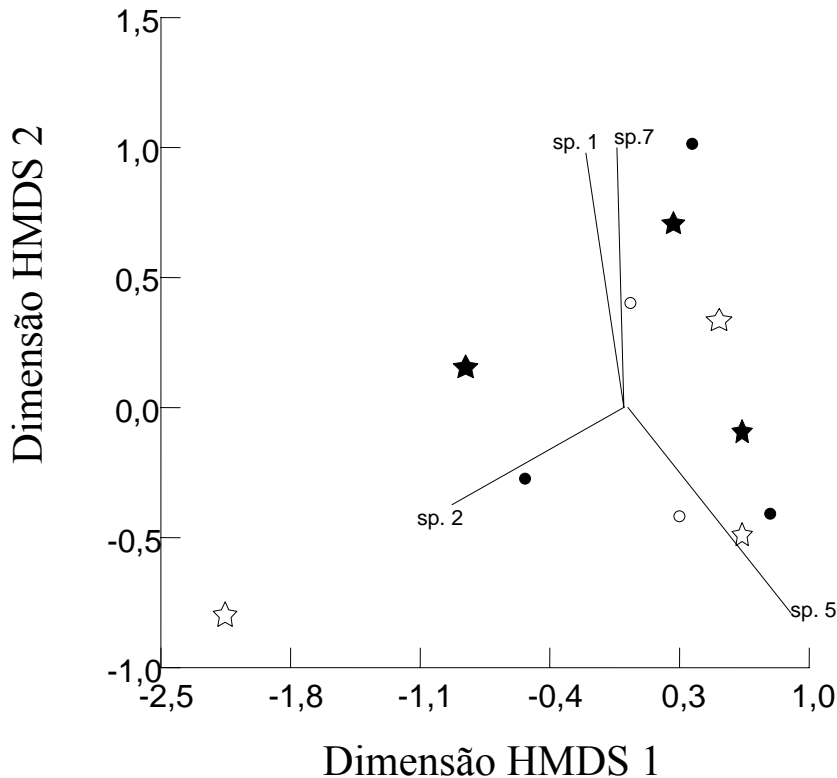


Figura 4. Composição das espécies de Collembola representada pela ordenação das amostras por escalonamento multidimensional híbrido (HMDS), correlacionadas com os tratamentos Bt (pontos preenchidos) e não Bt (pontos em branco) durante o ciclo da planta, sendo o período anterior à floração (círculos) e pós-floração (estrelas). **Sp.1** - *Dicyrtona* sp.; **sp.2** - *Entomobryoides* sp.; **sp.5** - *Seira* sp.; **sp.7** - *Sminthurus* sp. Dourados-MS, safra 2007/2008.

Discussão

O algodão Bt causou um efeito negativo na comunidade de Collembola após o início do período reprodutivo das plantas. E isto é bem nítido, pois, no período anterior a floração da planta havia maior número de colêmbolos no tratamento Bt, e após a floração os colêmbolos diminuíram no cultivo Bt e aumentaram no não-Bt. Este comportamento dos colêmbolos pode ser devido à algum efeito deletério do cultivo Bt, o qual seria expressado apenas após o período reprodutivo.

Outro fato interessante é a ocorrência de *Heteromurus* sp. ter ocorrido apenas no tratamento não-Bt e *Sminthurides* sp. somente no Bt. Este comportamento pode ser considerado espécie-específico, indicando a possibilidade de o cultivo Bt afetar negativamente apenas indivíduos de algumas espécies. E por outro lado, a possibilidade de favorecer a ocorrência de outras espécies. Este padrão espécie-específico também foi verificado por Bitzer *et al.* (2005) quando compararam a

abundância de Collembola em campos de milho Bt e não-Bt, onde a abundância total dos colêmbolos não foi diferente entre os tratamentos. Diferentemente do que foi verificado na presente pesquisa, Bitzer *et al.* (2005) constataram que *Sminthurides* sp. foi significativamente mais abundante no cultivo não-Bt.

Além disso, Bakonyi *et al.* (2006) testaram a preferência alimentar de três espécies de colêmbolos, *Heteromurus nitidus* Templeton, *Sinella coeca* Schött e *Folsomia candida* Willen, no milho Bt (MON810) comparando com sua isolinha (não-Bt). Os autores verificaram que apenas *F. candida* apresentou diferença significativa para a opção de alimento, sendo nítida sua preferência pelo milho convencional, em relação ao milho Bt.

Alguns experimentos foram conduzidos em laboratório a fim de testar os efeitos da proteína Cry em organismos não-alvo. No entanto, não foi detectado nenhum efeito negativo sobre o tempo de oviposição, produção de ovos ou tempo de vida dos colêmbolos tanto no algodão Bt quanto na batata Bt (Yu *et al.*, 1997) ou no milho Bt (Cry1Ab) (Clarck e Coats, 2006). Igualmente outros dois trabalhos avaliaram a adição de proteínas purificadas (Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2A e Cry3A) da bactéria Bt, as quais, do mesmo modo, não afetaram a sobrevivência ou reprodução de colêmbolos durante o período dos experimentos (Sims e Martin, 1997; Heckmann *et al.*, 2006). Resultados semelhantes foram verificados para indivíduos da ordem Isopoda (Crustacea), que também são organismos decompositores importantes para o solo, onde se testou em laboratório o efeito do milho Bt e foi verificado que a toxina não afeta o crescimento e sobrevivência desses indivíduos (Clark *et al.*, 2006).

Outros trabalhos em campo não detectaram diferença no número de colêmbolos entre o cultivo de milho Bt e não-Bt (Cry3Bb1) (Al-Deeb *et al.*, 2003; Lang *et al.*, 2006), e também quando comparado o milho Bt e sua isolinha (convencional) com e sem aplicação de inseticida também não foi verificado nenhum efeito da cultura Bt sobre os organismos não-alvo, incluindo colêmbolos (Eckert *et al.*, 2006). Posteriormente, Wolfenbarger *et al.* (2008) compararam a plantação de algodão, milho e batata Bt e não-Bt, e também não foi observado nenhum impacto na população de colêmbolos, mas ao comparar o tratamento Bt e não-Bt com e sem aplicação de inseticida, verificaram que a abundância desses organismos não-alvo foi maior nos tratamentos Bt quando comparados aos tratamentos não-Bt

com a aplicação de inseticida. Quando se trata de inseticidas, os colêmbolos são muito sensíveis, sendo sua densidade extremamente reduzida em locais onde há aplicação desse agroquímico (Edlweber *et al.*, 2006) e o mesmo também é verificado quando há tratamento com herbicida (Lins *et al.*, 2007), ou seja, o tratamento Bt causa menos impacto aos colêmbolos do que tratamentos com inseticidas e herbicidas.

O número reduzido de pesquisa realizada a respeito dos impactos das plantas Bt sobre populações de colêmbolos pode explicar a discordância dos resultados obtidos nessa pesquisa com grande parte citados neste trabalho. Apesar disso, através do presente estudo foi possível verificar que o algodão Bollgard[®] GM comparado ao algodão convencional só causou impacto na fauna de Collembola após o início do seu período reprodutivo, sendo a riqueza de espécies inferior no tratamento Bt. Contudo, não houve diferença significativa na composição das espécies coletadas nos tratamentos Bt e não-B. Sabe-se que os colêmbolos desempenham papéis importantes para a saúde do solo, são decompositores de importância para o ciclo de nutrientes e significantes bioindicadores de ecossistemas do solo. Uma vez que, algum efeito não definido da cultivar Bt está agindo sobre a fauna destes, é necessário mais pesquisas sobre os impactos de transgênicos no Brasil, principalmente referente aos organismos edáficos que têm importância na qualidade deste e, conseqüentemente, importância para a produção agrícola.

Agradecimentos

À Dr Maria Helena Pereira Vieira da UFGD e a MSc Vilma da Silva Lins do Núcleo de Tecnologia Educacional (NTE), pela ajuda na identificação dos indivíduos de Collembola. E à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela bolsa de estudos.

Referências Bibliográficas

- Al-Deeb, M.A., Wilde, G.E., Blair, J.M., Todd, T.C., 2003. Effect of Bt corn for corn rootworm control on nontarget soil microarthropods and nematodes. *Environmental Entomology* 32, 859–865.
- Armstrong, C. L., Parker, G. B., Pershing, J. C., Brown, S. M., Sanders, P. R., Duncan, D. R., Stone, T., Dean, D. A., DeBoer, D. L., Hart, J., Howe, A. R., Morrish, F. M., Pajeau, M. E., Petersen, W. L., Reich, B. J., Rodriguez, R., Santino, C. G., Sato, S. J., Schuler, W., Sims, S. R., Stehling, S., Tarochione, L. J., Fromm, M. E., 1995. Field evaluation of European corn borer control in progeny of 173 transgenic corn events expressing an insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. *Crop Science* 35, 550-557.
- Bakonyi, G., Szira, F., Kiss, I., Villányi, I., Seres, A., Székacs, A., 2006. Preference tests with collembolas on isogenic and Bt-maize. *European Journal of Soil Biology* 42, S132–S135.
- Bitzer, R.J., Rice, M.E., Pilcher, C.D., Pilcher, C.L., Lam, W.-K.F., 2005. Biodiversity and community structure of epedaphic and euedaphic springtails (Collembola) in transgenic rootworm bt corn. *Environmental Entomology* 34, 1346-1376.
- Buzzi, Z.J., 2002. Ordem Collembola. *Entomologia Didática*. Editora UFPR, Paraná, pp. 125-127.
- Bray, J.R., Curtis, J.T., 1957. Na ordination of the upland Forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 27, 325-349.
- Chahartaghi, M., Langel, R., Scheu, S., Ruess, L., 2005. Feeding guilds in Collembola based on nitrogen stable isotope ratios. *Soil Biology Biochemistry* 37, 1718-1725.
- Clark, B.W., Coats, J.R., 2006. Subacute effects of Cry1Ab Bt corn litter on the earthworm *Eisenia fetida* and the springtail *Folsomia candida*. *Environmental Entomology* 35, 1121–1129.
- Clark, B.C., Pihoda, K.R., Coats, J.R., 2006. Subacute effects of transgenic Cry1Ab *Bacillus thuringiensis* corn litter on the Isopods *Trachelipus rathkii* and *Armadillium nasatum*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, 2653-2661.

- Culik, M.P., Zeppelini Filho, D., 2003. Diversity and distribution of Collembola (Arthropoda: Hexapoda) of Brasil. *Biodiversity and Conservation* 12, 1119-1143.
- Daly, H.V., Doyen, J.T., Purcell, A.H., 1998. *The Parainsecta: Protura and Collembola. Introduction to Insect Biology and Diversity*. Editora Oxford University Press, New York, 680pp.
- Eckert, J., Schuphan, I., Hothorn, L.A., Gathmann, A., 2006. Arthropods on Maize Ears for Detecting Impacts of Bt Maize on Nontarget Organisms. *Environmental Entomology* 5, 554-560.
- Endlweber, K., Schädler, M., Scheu, S., 2006. Effects of foliar and soil insecticide applications on the collembolan community of an early set-aside arable field. *Applied Soil Ecology* 31, 136-146.
- Faith, D.P.; Minchin, P.R., Belbin, L., 1987. Compositional dissimilarity as a robust measure of ecological distance. *Vegetatio* 69, 57-68.
- Flores, S., Saxena, D., Stotzky, G., 2005. Transgenic Bt plants decompose less in soil than non-Bt plants. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 1073-1082.
- Gillott, C., 2005. Apterygote Hexapods. In: *Entomology*. Springer, Netherlands, pp. 113-118.
- Heckmann, L.H., Griffiths, B.S., Caul, S., Thompson, J., Pusztai-Carey, M., Moar, W.J., Andersen, M.N., Krogh, P.H., 2006. Consequences for *Protaphorura armata* (Collembola: Onychiuridae) following exposure to genetically modified *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize and non-Bt maize. *Environmental Pollution* 142, 212–216.
- Hopkin, S.P., 1997. *Biology of Springtails (Insecta: Collembola)*. Oxford University Press, New York, 330pp.
- Jordana, R., Arbea, J.I., 1989. Clave de identificación de los gêneros de Colémbolos de España (Insecta: Collembola). *Serviços de Publicações de La Universidad de Navarra S.A, Pamplona*, 19, 1-16.
- Lang, A., Arndt, M., Beck, R., Bauchhenss, J., Pommer, G., 2006. Monitoring of the environmental effects of the Bt gene. *Schriftenreihe, Freising-Weihenstephan*, 111pp.
- Lins, V.S., Santos, H.R., Gonçalves, M.C., 2007. The Effect of the Glyphosate, 2,4-D, Atrazine e Nicosulfuron Herbicides upon the Edaphic Collembola (Arthropoda: Ellipura) in a No Tillage System. *Neotropical Entomology* 36, 261-267.

- Mato Grosso do Sul, 1990. Secretaria de Planejamento e Coordenação Geral. Atlas Multireferencial. Campo Grande, 28pp.
- Mendonça-Hagler, L.C., Melo, I.S. De, Valadares-Inglis, M.C., Anyango, B.M., Siqueira, J.O., Toan, P. V., Wheatley, R.E., 2006. Non-target and biodiversity impacts in soil. In: Hilbeck, A., Andow, D.A.; Fontes, E.M.G. (Ed), Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms Volume 2: Methodologies for Assessing Bt Cotton in Brazil. CABI Publishing, pp. 225-260.
- Mendonça-Hagler, L.C., Souza, L., Aleixo, L., Oda, L., 2008. Trends in biotechnology and biosafety in Brazil. Environmental Biosafety Research 7, 115-121.
- O'Callaghan, M., Glare, T.R., Burgess, E.P.J., Malone, L.A., 2005. Effects of plants genetically modified for insect resistance organisms. Annual Review of Entomology 50, 271-292.
- Petersen, H., 2002. General aspects of collembolan ecology at the turn of the millennium: Proceedings of the Xth international Colloquium on Apterygota, České Budějovice 2000: Apterygota at the Beginning of the Third Millennium. Pedobiologia 46, 246–260.
- Sankula, S., 2006. Crop Biotechnology in the United States: Experiences and Impacts. In: Halford, N.G. (Ed). Plant Biotechnology: current and future uses of genetically modified crops. John Wiley & Sons Ltd, pp. 29-52.
- Sanvido, O., Stark, M., Romeis, J., Bigler, F., 2006. Ecological impacts of genetically modified crops: experiences from ten years of experimental field research and commercial cultivation. Swiss Expert Committee for Biosafety. ART-Schriftenreihe 1, Zurich, pp. 1–84.
- Shelton, A. M., Zhao, J.-Z., ROUSH, R. T., 2002. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. Annual Review of Entomology 47, 845–881.
- Sims, S.R., Martin, J.W., 1997. Effect of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins Cry1A(b), Cry1A(c), CryIIA, and CryIIIA on *Folsomia candida* and *Xenylla grisea* (Insecta: Collembola). Pedobiologia 41, 412–416.

- Stotzky G., 2000. Release, persistence, and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*. In: Letourneau, D.K., Burrows, B.E. (Eds.), *Genetically Engineered Organisms: Assessing Environmental and Human Health Effects*. CRC Press, Boca Raton, pp. 187-222.
- Tapp, H., Stotzky, G., 1995. Insecticidal Activity of the Toxins from *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* and *tenebrionis* Adsorbed and Bound on Pure and Soil Clays. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 1786-1790.
- Wolfenbarger, L.L., Naranjo, S.E., Lundgren, J.G., Bitzer, R., Watrud, L.S., 2008. Bt Crop Effects on Functional Guilds of Non-Target Arthropods: A Meta-Analysis Arthropods: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 3, e2118. 2008
- Yu, L., Berry, R.E., Croft, B.A., 1997. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic cotton and potato on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Oribatida). *Journal of Economic Entomology* 90, 113–118.

Considerações Finais

Os resultados deste estudo indicam que o cultivo de algodão Bt causou efeito sobre a fauna de Coleoptera, Formicidae e Collembola. Pode-se afirmar que esse efeito é negativo, já que a fauna de formigas apresentou menor número de espécies no tratamento Bt comparado ao não-Bt. Também causou um efeito espécie-específico para alguns indivíduos de Formicidae e Coleoptera, ou seja, a composição das espécies entre os tratamentos foi diferente. O algodão Bt comparado ao algodão não-Bt só apresentou efeito sobre a fauna de Collembola após o início do seu período reprodutivo, sendo a riqueza de espécies inferior no tratamento Bt, no entanto, não houve diferença na composição das espécies coletadas nos dois tratamentos.

É necessário, portanto, mais pesquisas no Brasil sobre o efeito de plantas GM sobre formigas, coleóptera e colêmbolos, pois estes têm grande importância para a qualidade do solo. Formigas e coleópteros protegem a planta atuando como predadores de insetos praga, dentre outras interações ecológicas, enquanto os colêmbolos são decompositores de importância para o ciclo de nutrientes e significantes bioindicadores de solo. O fato de terem sido observados impactos sobre estes organismos em uma área com pouco tempo de cultivo de algodão Bt pode indicar a possibilidade de impactos ainda maiores em longo prazo.

Anexos

Instruções para o envio dos manuscritos à revista científica

Soil Biology & Biochemistry

Guide for Authors

This journal is a forum for research on soil organisms, their biochemical activities and their influence on the soil environment and plant growth. It publishes original work on quantitative, analytical and experimental aspects of such research. Soil biology and soil biochemistry cover many scientific disciplines but a single journal brings together the results and views of research workers working in a wide variety of research areas. The scope of this journal is wide and embraces accounts of original research on the biology, ecology and biochemical activities of all forms of life that exist in the soil environment. Some of the subjects which have proved to be prominent are the biological transformations of plant nutrients in soil, nitrogen fixation and denitrification, soil-borne phases of plant parasites, the ecological control of soil-borne pathogens, the influence of pesticides on soil organisms, the biochemistry of pesticide and pollution decomposition in soil, microbial aspects of soil pollution, the composition of soil populations, modelling of biological processes in soil systems, the biochemical activities of soil organisms, soil enzymes and the interactions of soil organisms with plants and the effects of tillage on soil organisms and soil biochemistry.

Types of contribution

1. *Regular papers*. Original full-length research papers which have not been published previously, except in a preliminary form, may be submitted as regular papers.

2. *Short communications*. These should not exceed 1200 words (three printed pages) or their equivalent, excluding references and legends. Submissions should include a short abstract not exceeding 10% of the length of the communication and which summarizes briefly the main findings of the work to be reported. The bulk of the text should be in a continuous form that does not require numbered sections such as Introduction, Materials and methods, Results and Discussion. However, a Cover page, Abstract and a list of Keywords are required at the beginning of the communication and Acknowledgements and References at the end. These components are to be prepared in the same format as used for full-length research papers. Occasionally authors may use sub-titles of their own choice to highlight sections of the text.

3. *Review articles**. Review articles are welcome but should be topical and not just an overview of the literature. Before submission please contact one of the Chief Editors.

4. *News and Views*. Authors may submit comments and views on any subject covered by the Aims and Scope. The article should be about 1200 words, and submitted to a Chief Editor.

5. *Letters to the Editor*. Letters are published from time to time on matters of topical interest. These should be submitted directly to one of the Editors-in-Chief

REVIEW ARTICLES FOR SOIL BIOLOGY and BIOCHEMISTRY

Readers of Soil Biology and Biochemistry may submit reviews on any topic that falls within the scope of this journal. Authors of Review Articles should aim to provide facts as well as qualified ideas and opinions derived from reliable and relevant publications. Then, from such material develop reasoned arguments and questions for future evaluation and research. Reviewers should provide a list of relevant and appropriate references. They should avoid introducing new facts in the form of unpublished data or personal communications. Thus, the reader will be able to assess the interpretations and evaluate the methodology employed in the publications that are cited in the review.

The Introduction should outline the scope of the review and set the limits to the field it covers. The overall objective of the review may be posed as a question or a series of questions.

The bulk of the review should aim to present or introduce new ideas to the reader, review the literature relevant to these ideas and be specific. The authors of a Review Article might be able to provide alternative and reasoned interpretations or opinions to those advanced in the articles cited in the review.

The review might conclude with a set of hypotheses for future work that could be tested either using available technology or for which current technology could be improved.

Instructions for Authors of Review Articles

Review Articles should consist of the following sections; Cover page, Abstract, Keywords, Introduction, Review per se, Conclusions, Acknowledgements, References and any essential Tables or Figures.

The Introduction, Review and Conclusions should be numbered 1, 2 and 3, respectively. The Review section may be divided into numbered sub-sections, e.g., 2.1., 2.2., etc and sub-sections, e.g., 2.1.1., 2.1.2., etc.

The Reference section must be accurate and complete. It may include references to the more useful databases consulted.

The authors should provide the names and email addresses of no more than three scientists who are experts in the relevant field and who might be willing to provide open reviews of the submitted Review Article. The Editor will also submit the manuscript to experts for blind reviews.

Submission of Manuscripts

Papers for consideration should be submitted to Elsevier Editorial System which can be accessed at <http://authors.elsevier.com/journal/soilbio>

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the Publisher.

Electronic manuscripts

Submission to this journal proceeds totally online. Use the following guidelines to prepare your article. Via the homepage of this journal (<http://www.elsevier.com/locate/sbb>) you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. The system automatically converts source files to a single Adobe Acrobat PDF version of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail and via the author's homepage, removing the need for a hard-copy paper-trail.

Electronic format requirements for accepted articles

We accept most wordprocessing formats, but Word, WordPerfect or LaTeX is preferred. Always keep a backup copy of the electronic file for reference and safety. Save your files using the default extension of the program used.

Wordprocessor documents

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed 'graphically designed' equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/wps/find/authorshome.authors/howtosubmitpaper>). Do not import the figures

into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Preparation of electronic illustrations.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spellchecker' function of your wordprocessor.

Preparation of manuscripts

The Chief Editors request that papers submitted for publication should be written concisely and clearly. Manuscripts should be written in English. Authors whose native language is not English are strongly advised to have their manuscripts checked by an English-speaking colleague prior to submission. Either the Concise Oxford Dictionary or Webster's New International Dictionary may be used as a standard for English spelling.

English language help service: Upon request, Elsevier will direct Authors to an agent who can check and improve the English of their paper (*before submission*). Please contact <www.elsevier.com/locate/elsevierpublishing> for further information.

A poorly prepared manuscript often produces a negative reaction in reviewers, irrespective of the quality of the science. The Chief Editors will return to the authors submissions that do not conform to journal style and format or are poorly written.

English language help service:

1. Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit

<<http://www.elsevier.com/wps/find/authorhome.authors/languagepolishing>> or contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions http://www.elsevier.com/wps/find/termsconditions.cws_home/termsconditions

2. Manuscripts should be prepared **with all lines of text throughout the manuscript numbered consecutively from page to page, with wide margins and double spacing throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc. should be numbered.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive use of italics to emphasize part of the text.

3. **Authors should provide a separate cover page including:**

Type of contribution

Date of preparation, number of text pages, number of tables, figures etc.

Title (should be clear, descriptive and not too long)

Names of authors

Complete postal address(es) or affiliations

Full telephone, Fax No. and E-mail address of the corresponding author

Present addresses of authors if applicable

Complete correspondence address to which the proofs should be sent as a footnote indicated with an asterisk

Special instructions to the printer such as: (a) magnification of photographs, (b) layout of figures, (c) unusual positioning of Figures and Tables in relation to text; (d) if the submitted paper is one of a series of papers to be published in the journal the order in which the papers are to appear should be indicated.

4. **Manuscripts should be organised in the following sequence:**

Cover page (see above)

Abstract

Keywords

Introduction

Materials and methods

Results

Discussion (including Conclusions)

Acknowledgements and any additional information concerning research grants, etc

References

Tables

Figure captions

5. In typing the manuscript, titles and subtitles should not be run within the text. They should be typed on a separate line, without indentation. Use lower-case letter type. First and second order headings should be numbered.

6. SI units should be used, but authors may include conversions for unfamiliar units (1 bar=0.1 MPa). Do not include periods. Note the following conventions: e.g. not eg., rev min⁻¹ not rpm, mg kg⁻¹ or l⁻¹ not ppm, 1 bar equals 0.1 MPa, round off units to eliminate unnecessary decimal places, e.g. 124 µm not 0.124 mm (note space between number and unit), l not L for litre, kg not Kg, s not sec, min not mins, h not hr, d for day, y not yr, 25 t ha⁻¹ not 25 tonnes/ha, 3 mg cm⁻³ not three mg per cubic cm, 23°C and 23% (no spaces), (Keating et al., 1996) not (Keating et al, 1996), al. is an abbreviation of alii (others - Latin). Molar concentrations should appear in small caps.

7. Abbreviations may be used for unwieldy names which occur frequently and such abbreviations must be defined the first time they occur in the text. Conventional abbreviations, e.g. EDTA, ATP, 2,4-D should be used in preference to freshly coined ones.

8. Elsevier reserves the privilege of returning to the author for revision accepted manuscripts and illustrations which are not in the proper form given in this guide. Upon submission, papers will be checked to determine if they conform to the style and format for *Soil Biology & Biochemistry*. Papers that do not comply may be returned to the corresponding author with a check list detailing faults and omissions.

Avoid new or uncommon acronyms. Use single letters (Greek, Roman, italic) for variables with subscripts as appropriate.

Title

This should be clear, descriptive and brief. Avoid non-specific phrases such as "A study of..." or "The effects of...". Do not give the title a numbered subtitle or series number.

Abstract

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words.

Keywords

Keywords are index terms or descriptions for information retrieval systems, normally 6 to 10 items. Words selected should reflect the essential topics of the article and may be taken from both the title and the text. Do not select "soil"

Introduction

This should give the reasons for doing the work. **As this is a specialist journal a detailed review of the literature is not necessary.** The Introduction should preferably conclude with a final paragraph stating concisely and clearly the Aims and Objectives of the investigation.

Materials and methods

A full technical description of a method should be given in detail only when the method is new.

Results

This need only report results of representative experiments illustrated by Tables and Figures. Use well-known statistical tests in preference to obscure ones. Consult a statistician or a statistics text for detailed advice.

Discussion

This section must not recapitulate results but should relate the authors' experiments to other work and give their conclusions, which may be given in a subsection headed **Conclusions.**

Acknowledgements

Do not include grant numbers or institutional journal publication numbers.

Tables

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.
2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.
3. Drawn tables, from which blocks need to be made, should not be folded.
4. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.
5. Each table should be typewritten on a separate page of the manuscript. Tables should never be included in the text.
6. Tables and their footnotes should be typed using a readable uniform font of the same size as that used in the text. Each text should have a brief and self-explanatory title.
7. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.
8. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.
9. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.
10. Zero results must be represented by 0 and no determination by ND; the dash sign (-) is ambiguous. Report data in such a way that readers can assess the degree of experimental variation and estimate the variability or precision of the findings. Use the standard deviation SD and the mean to summarise data and to show the variability among individuals. Use the standard error of the mean SEM to show the precision of the sample mean. Always state the number of measurements on which means are based. In tables and figures use asterisks to indicate probability values (P). In footnotes or text show the degree of significance of P , e.g. $P < 0.05$ *

Electronic Illustrations

Submitting your artwork in an electronic format helps us to produce your work to the best possible standards, ensuring accuracy, clarity and a high level of detail.

1. Always supply high-quality printouts of your artwork, in case conversion of the electronic artwork is problematic.
2. Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
3. Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
4. Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Helvetica, Times, Symbol.
5. Number the illustrations according to their sequence in the text.
6. Use a logical naming convention for your artwork files, and supply a separate listing of the files and the software used.
7. Provide all illustrations as separate files.
8. Provide captions to illustrations separately.
9. Produce images near to the desired size of the printed version.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website: <http://authors.elsevier.com/artwork>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (Note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below.):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: Colour or greyscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (colour or greyscale): a minimum of 500 dpi is required.

DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

Please do not:

- • Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document;
- • Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- • Supply files that are too low in resolution;
- • Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Colour illustrations

If, together with your accepted article, you submit usable colour figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in colour on the web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version.

For colour reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://authors.elsevier.com/artwork>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting colour figures to grey scale (for the printed version should you opt to not pay for colour in print) please submit in addition usable black and white prints corresponding to all the colour illustrations.

As only one figure caption may be used for both colour and black and white versions of figures, please ensure that the figure captions are meaningful for both versions, if applicable.

References

Note: Authors are strongly encouraged to check the accuracy of each reference against its original source.

1. All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of author's names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.
2. In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed if necessary by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that...". "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12-16)".
3. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "*et al.*". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.
4. References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates - publications of the same author with one co-author - publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 1974a, 1974b, etc.
5. **Use the following system for arranging your references, please note the proper position of the punctuation:**

a. *For periodicals*

Zelles, L., Bai, Q.Y., Beck, T., Beese, F., 1992. Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry* 24, 317-323.

b. *For edited symposia, special issues, etc., published in a periodical*

Rice, K., 1992. Theory and conceptual issues. In: Gall, G.A.E., Staton, M. (Eds.), *Integrating Conservation Biology and Agricultural Production*. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 42, 9-26.

c. *For books*

Gaugh, Jr., H.G., 1992. *Statistical Analysis of Regional Field Trials*. Elsevier, Amsterdam, 278 pp.

d. *For multi-author books*

DeLacy, I.H., Cooper, M., Lawrence, P.K., 1990. Pattern analysis over years of regional variety trials: relationship among sites. In: Kang, M.S. (Ed.), *Genotype by Environment Interaction and Plant Breeding*. Louisiana State University, Baton Rouge, LA, pp. 189-213.

e. *For website (WWW) entires*

Citations must be confined to peer-reviewed material or official publications, such as annual reports.

CAN/BNQ, 1996. Amenderments organiques-composts. Norme nationale du Canada. CAN/BNQ 0413-200. Conseil canadien des normes. Ottawa, Ont. (on line) <http://www.scc.ca/> (11 July, 2004).

6. In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Roman alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

7. Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press". Authors should provide evidence (such as a copy of the letter of acceptance).

8. Higher degree dissertations (Ph.D., M.Sc etc.) unpublished data and personal communications should be referred to as 'unpublished observations' in the text and not cited in the References.

Formulae

1. Formulae should be typewritten, if possible. Leave ample space around the formulae.
2. Subscripts and superscripts should be clear.
3. Greek letters and other non-Roman or handwritten symbols should be explained in the margin where they are first used. Take special care to show clearly the difference between zero (0) and the letter O, and between one (1) and the letter l.
4. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.
5. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.
6. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.
7. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Also powers of e are often more conveniently denoted by exp.
8. Levels of statistical significance which can be mentioned without further explanation are **P* < 0.05, ***P* < 0.01 and ****P* < 0.001.
9. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g., Ca²⁺, not as Ca⁺⁺.
10. Isotope numbers should precede the symbols, e.g., ¹⁸O.

Articles in Special Issues: Please ensure that the words 'this issue' are added (in the list and text) to any references to other articles in this Special Issue.

Footnotes

Footnotes should only be used to provide addresses of authors or to provide explanations essential to the understanding of Tables.

Nomenclature

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature.

2. All organisms should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals. The authority of a species should only be given in the Materials and Methods section.

3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

4. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

Supplementary data

Elsevier now accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data is provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file.

Copyright

1. An author, when quoting from someone else's work or when considering reproducing an illustration or table from a book or journal article, should make sure that he is not infringing a copyright.

2. Although in general an author may quote from other published works, he should obtain permission from the holder of the copyright if he wishes to make substantial extracts or to reproduce tables, plates, or other illustrations. If the copyright-holder is not the author of the quoted or reproduced material, it is recommended that the permission of the author should also be sought.

3. Material in unpublished letters and manuscripts is also protected and must not be published unless permission has been obtained.

4. A suitable acknowledgement of any borrowed material must always be made.

Proofs

When your manuscript is received at the Publisher it is considered to be in its final form. Proofs are not to be regarded as 'drafts'.

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post.

Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

1. Twenty-five offprints for regular papers will be supplied free of charge.
2. Additional offprints can be ordered on an offprint order form, which is included with the proofs.
3. UNESCO coupons are acceptable in payment of extra offprints.

Soil Biology & Biochemistry does not have page charges.

Author Services

Authors can keep a track on the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track a Paper" feature at <http://authors.elsevier.com>. For privacy, information on each article is password-protected. The author should key in the "Our Reference" code (which is in the letter of acknowledgement sent by the publisher on receipt of the accepted article) and the name of the corresponding author. In case of problems or questions, authors may contact the Author Service Department, E-mail: authorsupport@elsevier.com. Information about Soil Biology & Biochemistry is available on the World Wide Web at the following addresses:
<http://www.elsevier.com/locate/soilbio>

Copyright © 2008 Elsevier B.V. All rights reserved

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)