

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Efeitos do algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard®) em organismos  
não-alvo**

**Daiane Heloisa Nunes**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor  
em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba  
2010**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Daiane Heloisa Nunes  
Engenheiro Agrônomo

**Efeitos do algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard®) em organismos não-alvo**

Orientador:  
Prof. Dr. ITALO DELALIBERA JÚNIOR

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em  
Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba  
2010**

À minha mãe, Jacira Lago Nunes, dedico.



## AGRADECIMENTOS

A Jesus, que me deu forças, fé e me fez alcançar mais esta vitória em minha vida. Eu sou tudo que sou porque o Senhor me amou!

Ao Prof. Dr. Italo Delalibera Júnior, pela oportunidade para a realização deste trabalho, orientação, compreensão e amizade, e por todos os ensinamentos.

Ao prof. Dr. Gilberto José de Moraes pelos primeiros ensinamentos de acarologia, que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao prof. Dr. Carlos Flechtmann por todas as explicações taxonômicas de acarologia (independente do dia da semana), por todo o apoio, pelas conversas “conselheiras”, pelos “puxões de orelha”, enfim, por sua amizade e carinho.

Aos professores do departamento de Entomologia e Acarologia, pelos ensinamentos das disciplinas cursadas, que contribuíram para o crescimento do meu conhecimento entomológico.

Ao professor Dr. Silval Silveira Neto, pelo auxílio na identificação dos insetos.

À professora Maria Cleide de Mendonça e toda a sua equipe, do Museu Nacional da Universidade do Rio de Janeiro, pela identificação dos Collembola.

À professora Dra. Clarisse Garcia Borges Demetrio e a doutoranda Mariana Ragassi Urbano, do Departamento de Estatística e Experimentação Agronômica, e a Dra. Marineia de Lara Haddad, por toda a ajuda nas análises dos dados.

Aos funcionários do departamento de Entomologia e Acarologia: Marta Colletti, Regina Botequio, Carlos Judeci, João Batista, Maria Edilene, Vera Lúcia, José Luiz, Daniela, Marinalda, Rosângela, Claudete, Rodiney, Lásaro e Joaquim, por toda cooperação, carinho e amizade.

Aos amigos, estagiários e funcionários que, ajudaram na instalação do experimento em campo, realização das coletas no campo ou acompanhamento, em campo: Aníbal Ramadan de Oliveira, Douglas, Willians, Dino, Renata Simões, Vinícius, Guilherme, Fernando, John Saldarriaga, Samuel Roggia, Geraldo Vasconcelos, Elenilson (Barganha), Vitalis Wekesa e Vanessa Duarte.

Ao Josenilton Mandro, por toda a ajuda nos experimentos, nas horas intermináveis e ensolaradas de campo e no departamento de Acarologia. Obrigada também por sua amizade e companheirismo.

Aos funcionários da Fazenda Areão (Luis Fernando e Celso) por cederem as áreas para a instalação do experimento nos anos agrícolas 2006/2007 e 2007/2008.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, pela oportunidade.

À Monsanto, por ceder a área para o experimento e em especial, ao Eng. Agrônomo Sérgio, por toda a assistência, no primeiro ano agrícola deste estudo (2005/2006).

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e à FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo suporte financeiro.

Aos estagiários que ajudaram para o desenvolvimento desta tese: Eveline Calderan, Thiago Castro, Diogo Carneiro de Melo, Simael Rosim e Leticia Grigolon Reis.

A todos os colegas da Zoologia: Renan Silva, Guilherme Micai, Fernando Rodrigues, Daniel Oliveira, Alberto Guanilo, Geraldo Vasconcelos, Sheila Spongski, Tatiane Castro, Renata Freire, Erika Britto, Rafael Castilho, Edmilson Silva, Vitalis Wekesa, Vanessa Duarte, John Saldarriaga, Ana Elizabete e Ralf Araújo.

A todos os colegas de trabalho do laboratório de Controle Microbiano: Daian Guilherme, Gabriel Mascar, Giuliano Pauli, Janaína Lamezon, Viviane Santos, Janayne Rezende, Anderson Ramos, Julia Feliciano e Nijima Rumenos. E à técnica do laboratório, Solange Vieira, por todo auxílio e compreensão.

Aos amigos distantes: Marcos Rocha, Marc'Antônio Queiroz, Norton Polo, Wagner Westin, Tienne Rezende, Cristiane Laurenti, Enio Sasaki, Edgar Luduvico e Marco Aurélio, por todo carinho e apoio nas horas difíceis.

Aos amigos mais presentes: Renata Simões, Samuel Roggia e Cleiton Mendonça. Muito obrigada pelo companheirismo, amizade, por dividirem os momentos felizes, divertidos, tensos, tristes e preocupantes durante estes quatro anos.

Aos amigos do início do doutorado: Newton Cavalcante, José W. Pereira, Nádia Cararin e Danielle Thomazoni. Obrigada pela amizade!

Aos meus vizinhos e queridos amigos, Lucia Takami e Renato Takami que me ajudaram no começo do doutorado. Sou muito grata a vocês dois, por tudo!

Às minhas amigas Cláudia, Rosangela, Giselle, Thaís, Rafaela, Monise e Kátia.

A todos os meus tios, primos e avós, que me apoiaram e acreditaram em mim.

Ao meu pai, Elizeu Nunes, ao meu irmão, Elizeu Nunes Júnior e ao meu namorado, André Machi, por todo carinho, amor, apoio e compreensão.

À minha mãe (Dona Jacira!), que não mediu esforços: viajou noites e noites para me socorrer nos momentos difíceis, conversou horas e mais horas pelo telefone, aturou meu mau humor, minhas preocupações e minhas lágrimas, e que me deu conselhos durante estes quatro anos de doutorado.





## SUMÁRIO

RESUMO .....	11
ABSTRACT .....	13
LISTA DE FIGURAS .....	15
LISTA DE TABELAS .....	17
1 INTRODUÇÃO .....	19
2 DESENVOLVIMENTO .....	21
2.1 Revisão Bibliográfica .....	21
2.2 Material e Métodos .....	35
2.2.1.1 Amostragem de organismos de parte aérea (folhas) .....	39
2.2.1.2 Coleta dos artrópodes da superfície do solo .....	42
2.2.1.3 Amostragem da mesofauna edáfica .....	43
2.2.2 Estudos em laboratório sobre os efeitos do algodoeiro Bollgard® em organismos não-alvo .....	46
2.2.2.1 Biologia comparada de <i>Mononychellus planki</i> no algodoeiro transgênico Bollgard® e na sua isolinha .....	46
2.2.2.2 Avaliação dos efeitos diretos e indiretos do algodoeiro Bt (Bollgard®) sobre o ácaro predador <i>Neoseiulus californicus</i> alimentado com o ácaro fitófago <i>Tetranychus urticae</i> .....	48
2.3. Resultados e Discussão .....	51
2.3.1 Experimento em campo .....	51
2.3.1.1 Organismos de folhas .....	51
2.3.1.1.1 Resultados .....	51
2.3.1.1.2 Discussão .....	63
2.3.1.2 Organismos da superfície do solo .....	66
2.3.1.2.1 Resultados .....	66
2.3.1.2.2 Discussão .....	75
2.3.1.3 Organismos edáficos .....	76
2.3.1.3.1 Resultados .....	76
2.3.1.3.2 Discussão .....	89
2.3.2 Efeitos do algodoeiro Bollgard® sobre organismos não-alvo, em laboratório .....	91
2.3.2.1 Biologia comparada de <i>Mononychellus planki</i> no algodoeiro transgênico Bollgard® e na sua isolinha .....	91
2.3.2.1.1 Resultados .....	91
2.3.2.1.2 Discussão .....	93
2.3.2.2 Avaliação dos efeitos indiretos do algodoeiro Bt (Bollgard®) sobre o ácaro predador <i>Neoseiulus californicus</i> pela alimentação com ácaros <i>Tetranychus urticae</i> criados em planta GM e em sua isolinha .....	94
2.3.2.2.1 Resultados .....	94
2.3.2.2.2 Discussão .....	97
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	99
REFERÊNCIAS .....	101



## RESUMO

### Efeitos do algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard®) em organismos não-alvo

Os efeitos do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard®, que expressa a toxina Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* (Bt), em artrópodes não-alvo, foram avaliados através de estudos conduzidos em laboratório e em campo. Avaliações da abundância de artrópodes em algodoeiro Bollgard® (Delta Pine 90) e em sua isolinha (Acala 90) foram conduzidas durante três anos agrícolas consecutivos, sendo o primeiro estudo conduzido em Leme-SP (2005/2006) e os dois anos seguintes em Piracicaba-SP (2006/2007 e 2007/2008). Foram realizadas amostragens dos organismos da superfície do solo, através de armadilhas do tipo “pitfall” (14 coletas), e de artrópodes da mesofauna dos cinco centímetros superficiais do solo coletados com cilindros metálicos e extraídos em equipamento do tipo Berlese-Tullgren modificado (16 coletas) e de organismos da parte aérea presentes nas folhas (17 amostragens de folhas apicais e 12 de folhas medianas). Foram processados 27.420 organismos das armadilhas do tipo “pitfall” e 297.696 extraídos por Berlese-Tullgren modificado. Os principais grupos de organismos coletados nos dois tipos de armadilhas foram Acari (Oribatida, Mesostigmata, Prostigmata, Astigmata e outros), Collembola e Formicidae. Chilopoda, Diplura e outros artrópodes (Aranae e larvas de insetos) também foram comuns nas extrações por Berlese-Tullgren modificado, enquanto Coleoptera (Nitidulidae, Carabidae, Staphylinidae, Mycetophagidae e outros) foram abundantes em “pitfall”. Embora em algumas amostragens tenham sido observadas diferenças significativas na abundância de alguns grupos de organismos edáficos, entre as parcelas com algodoeiro Bt e parcelas com a isolinha, estas diferenças não foram constantes em datas de amostragem de um mesmo ano e/ou não foram detectadas em diferentes anos agrícolas. A dinâmica de quatro espécies de oribatídeos foi monitorada durante os três anos agrícolas e revelou uma maior prevalência de *Scheloribates praeincisus*, seguido de *Galumna glabra*, *Protoribates* sp. e *P. praeoccupatus*, sendo que a proporção destas últimas três espécies variou em função do ano de coleta. As densidades populacionais de mosca-branca (Aleyrodidae) e de tripes (Thysanoptera) foram semelhantes entre as áreas com algodoeiro Bt e com sua isolinha. A densidade populacional de pulgões (Aphidoidea) foi maior no algodoeiro Bt do que na isolinha somente em cinco das 29 coletas. A abundância de ácaros predadores fitoseídeos foi menor no algodoeiro Bt do que na isolinha em três coletas enquanto a abundância de ácaros fitófagos da família Tetranychidae foi maior no algodoeiro Bt em seis coletas. Uma espécie de Tetranychidae, *Mononychellus planki*, e outra de Phytoseiidae, *Neoseiulus californicus*, foram selecionadas para análise comparativa da biologia destes em algodoeiro Bt e na sua isolinha. Não foram detectadas diferenças na duração da fase imatura de *M. planki* e na biologia de *N. californicus* no algodoeiro Bt em relação à isolinha. Em geral, não há evidências de que a abundância de artrópodes nos três anos agrícolas tenha sido alterada pelo cultivo do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard®.

**Palavras-chave:** Ácaros; Algodão; Bactérias entomopatogênicas; Fauna edáfica; Plantas transgênicas; Pulgão



## ABSTRACT

### Effects of genetically modified cotton (Bollgard®) on non-target organisms

The effects of the genetically modified cotton (Bollgard®) expressing *Bacillus thuringiensis* (Bt) Cry1Ac toxin on non-target arthropods was evaluated under laboratory and field studies. Evaluations of arthropod abundance on Bollgard® cotton (Delta Pine 90) and on its isoline (Acala 90) were carried out during three consecutive field seasons. The first study was conducted in Leme-SP (2005/2006) and the following two field seasons were conducted in Piracicaba-SP (2006/2007 and 2007/2008). Soil surface organisms were collected using pitfall traps (14 samples). Mesofauna arthropods from the 5-cm soil surface were collected with metallic cylinders and extracted with modified Berlese-Tullgren equipment (16 samples). From the aerial portion of the plant, arthropods were sampled from leaves (17 samples from apical leaves and 12 samples from median leaves). From the pitfall traps and from the modified Berlese-Tullgren 27,420 and 297,696 organisms, respectively, were collected. The main arthropod groups collected in both types of traps were Acari (Oribatida, Mesostigmata, Prostigmata, Astigmata among others), Collembola and Formicidae. Chilopoda, Diplura and other arthropods (Araneae and insect larvae), were also common in extractions of the modified Berlese-Tullgren, while the pitfall traps revealed also abundance of Coleoptera (Nitidulidae, Carabidae, Staphylinidae, Mycetophagidae and others). Although, among some samples, we had observed significant differences in abundance of some soil organisms between Bt-cotton and isoline plots, these differences were not constant among sample dates from the same year and/or were not detected among different field seasons. Population dynamics of four oribatidae species was monitored during all field seasons and revealed major prevalence of *Scheloribates praeincisus*, followed by *Galumna glabra*, *Protoribates* sp. and *P. praeoccupatus*. However, the proportion of these last three species varied among field seasons. Population density of whiteflies (Aleyrodidae) and thrips (Thysanoptera) were not different between Bt-cotton and isoline plots. In five out of 29 sample dates, population density of aphids (Aphidoidea) was lower on Bt-cotton than on its isoline. Abundance of Phytoseiidae predatory mites was smaller on Bt cotton than on its isoline in three samples, while the abundance of Tetranychidae phytophagous mites was higher on Bt cotton in six samples. The biology of one species of Tetranychidae, *Mononychellus planki*, and one species of Phytoseiidae, *Neoseiulus californicus*, was investigated on Bt cotton and on its isoline. We did not detect any significant differences in duration of immature phase of *M. planki* and on the biology of *N. californicus* between cotton genotypes. In general, throughout three field seasons, there was no evidence that the abundance of arthropods has been altered by genetically modified Bollgard® cotton.

**Keywords:** Mites; Cotton; Entomopathogenic bacteria; Soil fauna; Transgenic plants; Aphid



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Campo experimental da Fazenda Areão, Piracicaba – SP. A) Experimento montado no ano agrícola 2006/2007; B) Local em que o experimento foi montado em 2007/2008. Fonte: Google Earth (programa disponível em: <http://earth.google.com>. Acesso em: 10/07/09)..... 39
- Figura 2 – Passos para coleta de organismos em folhas. A) Planta de algodão com folha apical no 1º ramo, antes de ser coletada; B) Folhas coletadas para contagem de organismos não-alvo; C) Parte da folha abaxial com círculos marcados para contagem de ácaro-branco. .... 41
- Figura 3 - Armadilhas de queda (“pitfall”). A) Armadilha entre as linhas do algodoeiro; B) Solução de detergente (2%) sendo colocada na armadilha de solo. Piracicaba- SP, julho de 2008. .... 43
- Figura 4 - Passos seguidos na extração da mesofauna edáfica. A) Cilindro de ferro sobre local a ser amostrado, em Piracicaba - SP; B) Amostra de solo recém-retirada do solo; C) Amostra de solo com gaze, no laboratório; D) Caixa extratora com amostras de solo e luzes à 35° C; E) Detalhe do funil com copo coletor contendo solução de formol (4%). .... 45
- Figura 5 - Curvas de sobrevivência de *Mononychellus planki* criados em algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard) e em sua isolinha (Acala), a  $26 \pm 2^\circ \text{C}$ ,  $60 \pm 5\%$ , e 12 horas de fotofase..... 92





## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Inseticidas utilizados o controle de <i>Anthonomus grandis</i> (bicudo-do-algodoeiro), <i>Polyphagotarsonemus latus</i> (ácaro-branco), <i>Aphis gossypii</i> (pulgão-do-algodoeiro) e <i>Tricoplusia ni</i> (lagarta-medede-palmo) em todas as parcelas de algodoeiro. Leme-SP, ano agrícola 2005/2006. ....	38
Tabela 2 - Quantidade e tipo de amostragem de artrópodes conduzida em plantios de algodoeiro em dois locais e três anos de experimentação. ....	42
Tabela 3 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas apicais, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso I e II), em campo experimental. Leme-SP, ano agrícola 2005/2006. ....	57
Tabela 4 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas medianas, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso I e II), em campo experimental. Leme-SP, ano agrícola 2005/2006. ....	58
Tabela 5 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas apicais, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso I), em campo experimental. Piracicaba-SP, ano agrícola 2006/2007. ....	59
Tabela 6 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas medianas, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso), em campo experimental. Piracicaba-SP, ano agrícola 2006/2007. ....	60
Tabela 7 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas apicais, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso), em campo experimental. Piracicaba-SP, ano agrícola 2007/2008. ....	61
Tabela 8 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas medianas, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso), em campo experimental. Piracicaba-SP, ano agrícola 2007/2008. ....	62
Tabela 9 - Artrópodes não-alvo coletados em armadilhas de queda (“pitfall traps”), durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na	

isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2006/2007 .....	69
Tabela 10 – Artrópodes não-alvo coletados em armadilhas de queda (“pitfall traps”), durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso), em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2007/2008.....	72
Tabela 11 – Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Leme-SP no ano agrícola 2005/2006.....	81
Tabela 12 - Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2006/2007. ....	83
Tabela 13 - Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2007/2008. ....	86
Tabela 14 - Duração das fases imaturas (média ± erro padrão) do ácaro fitófago <i>Mononychellus planki</i> alimentado em algodão geneticamente modificado Bollgard® e em sua isolinha (Acala) a 25 ± 2°C, 60 ± 5% UR e 12 horas de fotofase. ....	93
Tabela 15 - Duração das fases do ciclo de vida e oviposição (média ± erro padrão) do ácaro predador <i>Neoseiulus californicus</i> alimentado com o ácaro fitófago <i>Tetranychus urticae</i> criado em algodão geneticamente modificado Bollgard® e em sua isolinha (Acala) a 25 ± 2°C, 60 ± 5% UR e 12 horas de fotofase. ....	96
Tabela 16 - Médias estimadas (± erro padrão) da tabela de vida e fertilidade de <i>Neoseiulus californicus</i> alimentado com <i>Tetranychus urticae</i> , mantido em algodoeiro transgênico (Bollgard®) e não-transgênico (Isolinha). Temperatura: 25 ± 2°C, umidade relativa: 60 ± 5% e 12 horas de fotofase.....	96

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o quinto maior produtor de algodão herbáceo, com produção estimada de 2.047 mil toneladas métricas de algodão em pluma e aproximadamente 4 milhões de toneladas de algodão em caroço, em uma área cultivada total de 1,1 milhões de hectares, em 2008 (FNP, 2009). É esperado nos próximos anos, aumento de área e de produtividade de algodão no país.

O ataque de pragas é um dos principais entraves para a produtividade do algodoeiro, as quais exigem numerosas aplicações de inseticidas e/ou acaricidas durante o desenvolvimento da cultura, o que aumenta os custos de produção, prejudica o meio ambiente e a saúde dos cotonicultores. Fontes et al. (2006) mencionaram que os cotonicultores do centro-oeste do Brasil realizam em média 12 pulverizações de inseticidas por ciclo da cultura, mas podem realizar até 20 aplicações de inseticidas durante o desenvolvimento do algodoeiro.

O desenvolvimento de variedades geneticamente modificadas que apresentam resistência ao ataque de determinados insetos-praga surgiu como uma alternativa para a aplicação de inseticidas. A resistência destas variedades é determinada pela especificidade das toxinas que cada variedade transgênica apresenta. Por exemplo, existem variedades que são resistentes ao ataque de certos Lepidoptera, outras resistem ao ataque de determinados Coleoptera, etc. Nas culturas comercializadas até o momento, a resistência ao ataque de insetos-praga é conferida por genes da bactéria *Bacillus thuringiensis*. As plantas GM começaram a ser cultivadas em 1996 e hoje são amplamente utilizadas em diversos países (JAMES, 1996).

Com a exploração de algodoeiros geneticamente modificados com genes provenientes de *B. thuringiensis*, a China e a Índia, por exemplo, diminuíram o uso de inseticidas em 60% e 39%, respectivamente (JAMES, 2008). Além disso, o uso das culturas geneticamente modificadas tem sido responsável pela redução do número de ocorrências de intoxicações dos aplicadores e aumento do número de espécies de insetos benéficas (SHELTON; ZHAO; ROUSH, 2002; PRAY et al., 2001; WU; GUO, 2003).

Apesar das vantagens da utilização dos algodoeiros geneticamente modificados resistentes a certos insetos, ainda existem algumas preocupações sobre os efeitos negativos que possam estar associados a esta tecnologia. O uso em larga escala desta tecnologia pode representar um risco para a biodiversidade, pelos possíveis efeitos negativos sobre os organismos não-alvo. Dentre estes organismos estão as espécies de inimigos naturais (predadores e parasitóides), polinizadores

e decompositores, e as que contribuem para o equilíbrio e funcionamento dos agroecossistemas (ANDOW; HILBECK, 2004). Esta questão assume uma maior magnitude no Brasil por ser um país detentor de uma mega-biodiversidade.

O Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança de Organismos Modificados, a Convenção de Biodiversidade e outros fóruns internacionais indicam a necessidade de avaliações dos possíveis impactos ambientais destes organismos geneticamente modificados (CAPALBO et al., 2003). As avaliações de riscos ambientais devem ser feitas caso a caso, considerando a modificação genética que a planta transgênica apresenta e avaliando os possíveis efeitos na biodiversidade e no ambiente em que a variedade transgênica foi liberada (KUIPER et al., 2001).

O algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® foi a primeira variedade de algodoeiro transgênico a ser cultivada no país. A liberação desta variedade foi feita com base em estudos de análise de risco realizados em países com condições climáticas e biodiversidade diferente da encontrada no Brasil. Portanto, são necessários estudos de avaliação dos possíveis efeitos do algodoeiro Bollgard® sobre organismos não-alvo associados à cultura do algodão nos diferentes biomas brasileiros.

Diante disso, objetivou-se verificar em campo, durante três anos agrícolas, se o algodoeiro Bollgard® tem efeitos sobre organismos não-alvo da tecnologia avaliando-se a densidade populacional dos organismos presentes nas folhas (organismos de parte aérea), dos organismos que permanecem sobre a superfície do solo e nas espécies que habitam a camada sub-superficial do solo (mesofauna edáfica). Os organismos foram separados em diferentes níveis taxonômicos, dependendo da viabilidade de identificação em cada tipo de amostragem, sendo que no caso dos ácaros oribatídeos (Acari: Oribatida), as 3 espécies mais prevalentes, *Scheloribates praeincisus*, *Galumna glabra* e *Protoribates* sp., foram quantificadas em cada amostragem. Os dados de campo inicialmente indicaram haver diferenças nas populações de ácaros predadores fitoseídeos e dos ácaros fitófagos tetraniquídeos entre as plantas geneticamente modificadas e sua isolinha. Para esclarecer se estas variações poderiam estar associadas às variedades foram estudados em laboratório, os efeitos do algodoeiro Bollgard® na biologia de *Mononychellus planki* (Acari: Prostigmata), e no desenvolvimento e capacidade predatória de *Neoseiulus californicus* (Acari: Mesostigmata).

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Revisão Bibliográfica

#### A atividade inseticida das proteínas Cry de *Bacillus thuringiensis*

As proteínas Cry da bactéria *B. thuringiensis* possuem ampla atividade inseticida e são específicas para insetos de diferentes ordens. Por exemplo, foram relatadas que, as proteínas Cry das classes Cry1, Cry2 e Cry9 têm efeito tóxico para Lepidoptera, as Cry3 são ativas contra Coleoptera e as da classe Cry2 e Cry4 possuem atividade contra Diptera (CLARK; PHILLIPS; COATS, 2005). Vários níveis de suscetibilidade ao Bt também foram relatados em insetos das ordens Hymenoptera, Homoptera, Diptera, Ortoptera, Mallophaga, além de nematóides (Strongylida, Tylenchida), protozoários (Diplomonadida) e ácaros (Acari) (SCHNEPF et al., 1998). Algumas toxinas Cry apresentam toxicidade para mais de uma ordem de insetos. A CryII é tóxica para Coleoptera e Lepidoptera (TAILOR et al., 1992) e a proteína Cry1B possui atividade contra Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (ZHONG et al., 2000).

*Bacillus thuringiensis* produz durante o processo de esporulação, inclusões cristalinas que contêm uma ou várias proteínas, que são responsáveis pelas suas propriedades patogênicas a insetos. Por causa destas propriedades, biopesticidas baseados na ação destas toxinas têm sido desenvolvidos há mais de 40 anos (SCHNEPF et al., 1998) e amplamente utilizados para o controle de pragas (GLARE; O'CALLAGHAN, 2000). Só no Brasil, cerca de 30 pragas de importância agrícola são controladas com produtos a base de Bt (POLANCZYK; ALVES, 2003).

Após a ingestão da bactéria pelo inseto, os cristais são solubilizados em pH alcalino, no intestino médio do inseto, liberando as protoxinas. Estas, na presença de enzimas digestivas (proteínases), são convertidas em polipeptídeos tóxicos (endotoxinas). Essas toxinas ativadas ligam-se a receptores específicos localizados no epitélio do intestino médio do inseto alvo. Ocorre assim, uma interferência no gradiente iônico e balanço osmótico, resultando na formação de poros que aumentam a permeabilidade da membrana e ocorre a desintegração das células do intestino. A morte do inseto pode ocorrer por inanição, uma vez que logo após a infecção o inseto cessa a alimentação ou pela infecção generalizada.

A aplicação de biopesticidas a base de Bt pode causar efeitos adversos em insetos não-alvo, como por exemplo, os inimigos naturais (HASSAN et al., 1987; CHAPMAN; HOY, 1991; DUTTON et al., 2003). Chapman e Hoy (1991) verificaram que a aplicação de Dipel 2X (*B. thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1) resultou em alto nível de mortalidade de fêmeas do ácaro predador *Metaseiulus occidentalis* após 48 h de exposição ao produto. A redução na taxa de oviposição pela utilização de Dipel<sup>®</sup> foi observada em duas outras espécies de ácaros predadores, *Amblyseius potentillae* e *Typhlodromus pyri*, por Hassan et al. (1987).

O modo de ação dos inseticidas biológicos difere do das plantas transgênicas. Os biopesticidas possuem a protoxina inativa na forma cristalina, enquanto que as plantas transgênicas possuem um ou mais genes do Bt que codificam as toxinas ativas na forma solúvel, não necessitando de pH apropriado e de proteases específicas do intestino médio dos hospedeiros para clivagem da protoxina em subunidades tóxicas (STOTZKY, 2000). Por causa desta característica, o único fator de especificidade existente para as toxinas Bt produzidas por plantas transgênicas são os receptores na membrana peritrófica aonde as toxinas devem se ligar. Desta forma, teoricamente um maior número de insetos poderia ser afetado pelas toxinas Cry.

### **Algodoeiros geneticamente modificados com gene de *B. thuringiensis***

Em 1995 ocorreu a liberação comercial do algodoeiro Bollgard<sup>®</sup> evento MON 531 nos EUA, após ensaios em campo entre 1986 e 1995 (JAMES, 1996). Nos anos seguintes, o Bollgard<sup>®</sup> MON531 foi liberado e/ou comercializado em vários países; na Austrália (conhecido com INGARD<sup>®</sup>), no México e no Canadá, em 1996, na China, África do Sul e Japão, em 1997, na Argentina em 1998, na Nova Zelândia, em 2000, na Indonésia em 2001, na Colômbia e Índia, União Européia (com 27 estados membros) em 2002, Filipinas e Coréia do Sul, em 2004 (SHELTON; ZHAO; ROUSH, 2002; JAMES, 2007). Atualmente, além do evento MON531, existem outros eventos, que possuem a característica de resistência a insetos combinada ou não com tolerância a determinados herbicidas e são cultivados e/ou comercializados em mais de 14 países.

No Brasil, o algodoeiro Bollgard<sup>®</sup> Evento MON531 foi o primeiro a ser liberado para exploração comercial. Aprovado em 2005, o algodoeiro Bollgard<sup>®</sup> começou a ser cultivado no ano agrícola 2005/2006, dez anos após o início da comercialização nos EUA. Esta variedade de

algodão foi geneticamente modificada por meio da transformação da variedade comercial Coker 312 com o vetor PV-GHBK04, através do sistema mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. Foram inseridos os genes *cry1Ac*, *nptII* e *aad* no genoma dessa variedade de algodão. A proteína NPTII é produzida por vários microrganismos procarióticos encontrados de forma ubíqua no meio ambiente, tanto no habitat aquáticos e terrestres, como na microflora intestinal humana e animal. A proteína AAD não é expressa nos tecidos do algodão Bollgard® e a toxina Cry1Ac confere resistência à cultura contra o ataque dos seguintes insetos: o curuquerê-do-algodão (*Alabama argillacea*), a lagarta-rosada (*Pectinophora gossypiella*) e a lagarta-da-maçã (*Heliothis virescens*), que são algumas das principais pragas que afetam a cultura do algodão no país. No algodoeiro Bollgard® a toxina Cry1Ac é expressa nas folhas, sementes (CTNBio, 2005), pólen (ARPIA et al., 2006) e nas raízes (MENDONÇA HAGLER et al., 2006).

Outras variedades que apresentam resistência ao ataque de determinados insetos e/ou tolerância a determinados herbicidas, foram liberadas e estão sendo comercializadas no país recentemente. A variedade algodão Bollgard II Evento MON 15985 apresenta resistência contra o ataque de *A. argillacea*, *H. virescens* e *P. gossypiella*, e tem baixa eficiência para *Spodoptera frugiperda*. Já o objetivo do evento WideStrike é conferir à cultura resistência a um maior número de espécies de insetos (*Heliothis virescens*, *Helicoverpa zea*, *Spodoptera* spp., *A. argillacea*, *Pectinophora gossypiella*, *Pseudoplusia includens* e *Trichoplusia ni*) e tolerância ao herbicida glufosinato de amônio.

Além disso, outras variedades de algodão estão sendo desenvolvidas em vários centros de pesquisa. Por exemplo, a EMBRAPA está em processo de transformação do algodoeiro para a expressão da proteína Cry1Ac que confere resistência as lagartas *A. argillacea*, *P. gossypiella*, *H. virescens*, presentes no algodoeiro Bollgard®, e da proteína Cry1Ia12, que confere resistência ao bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) (MAGALHÃES, 2006), que é a principal praga desta cultura no Brasil.

### **Avaliação de efeitos adversos de plantas geneticamente modificadas sobre organismos não-alvo**

Vários cientistas e agências regulatórias têm afirmado a necessidade de análise de risco de plantas transgênicas caso-a-caso, de maneira que cada variedade geneticamente modificada deve



ser individualmente analisada porque as plantas Bt variam no tipo e na quantidade de proteína Bt produzida em função do ambiente (MARVIER, 2002).

Considerando grande diversidade nos agroecossistemas brasileiros e a impossibilidade de se testar todas as espécies existentes, foi proposta metodologia para selecionar espécies de organismos não-alvo do algodoeiro Bt. A metodologia foi elaborada para permitir a seleção das espécies ou processos ecológicos mais relevantes para o estudo de análise de risco do algodoeiro transgênico. As espécies ou processos ecológicos são priorizados de acordo com o potencial de associação com a cultura e o agroecossistema e a significância do possível efeito adverso em suas funções ecológicas. As populações que não estão altamente associadas com a cultura ou aquelas que possuem funções ecológicas de “menor” importância para a produção do agroecossistema têm baixa possibilidade de sofrerem efeitos ambientais adversos comparadas às espécies amplamente associadas ou que possuem uma função importante (HILBECK et al., 2006).

Os grupos funcionais devem ser priorizados e dentro destes, uma ou poucas espécies que possuem maior importância ecológica e relação com a produção da cultura e as que possuem maior grau de associação com a mesma devem ser selecionadas para a realização de estudos de análise de risco de plantas transgênicas, em laboratório (HILBECK et al., 2006). O grau de exposição das espécies de organismos não alvo a referida variedade transgênica também deve ser considerado, pois as espécies que desenvolvem durante todo o ciclo do algodoeiro são mais expostas às toxinas do Bt e, portanto, podem sofrer maiores impactos (ANDOW; ZWAHLEN, 2006). Vários trabalhos de efeitos de plantas transgênicas são feitos em laboratório. No entanto, os resultados obtidos somente em laboratório nem sempre podem ser extrapolados em nível de campo. Estes estudos apresentam certas restrições, tais como: 1) as doses da toxina utilizadas em laboratório podem ser mais altas do que àquelas que os organismos não-alvo estão expostos no ambiente; 2) espécies altamente móveis podem viver por pouco tempo durante o ciclo de desenvolvimento do algodão; e 3) considerando as relações tritróficas, as interações interespecíficas estudadas em laboratório podem não ocorrer em campo.

O exemplo clássico de que a conclusão de efeitos de plantas transgênicas obtida de trabalhos em laboratório deve ser feita com cautela é o caso da borboleta Monarca. Losey, Rayor e Carter (1999) afirmou que a borboleta Monarca (*Danaus plexippus*) seria afetada negativamente pelo pólen do milho Bt com base em experimentos laboratoriais. Porém, Sears et

al. (2001) consideraram as formas reais de exposição deste inseto a toxina Bt em campo e mostraram que o risco de efeitos negativos era muito baixo.

### **Efeitos de plantas transgênicas sobre organismos não-alvo que habitam as folhas**

De acordo com Andow e Hilbeck (2004) e Snow et al. (2005), dentre as espécies que habitam as folhas e a parte aérea das plantas existem os polinizadores e inimigos naturais das pragas-alvo e/ou de outros herbívoros, como as joaninhas, os parasitóides, crisopídeos e ácaros predadores; pragas não-alvo da cultura transgênica, como por exemplo, os ácaros fitófagos, e/ou as espécies que contribuem para a biodiversidade local ou são de interesse cultural, como é o caso da borboleta Monarca para os Estados Unidos.

Os organismos não-alvo podem estar expostos às toxinas presentes no algodoeiro Bt de forma direta (bitrófica), quando estes entram em contato direto com a proteína Bt através do consumo da planta ou de produtos da mesma. Entre as interações bitróficas que podem resultar em efeitos adversos na cultura do algodoeiro, podem ser listadas: artrópodes que se alimentam do néctar, pólen e/ou folhas. Pela forma indireta (tritrófica), os artrópodes podem adquirir a proteína Bt através da alimentação de herbívoros, ou ainda, pelo consumo do “honeydew” de Homoptera que se alimentou no algodão transgênico (FARIA et al., 2006; GROOT; DICKE, 2002).

Com relação à herbivoria, o algodão é uma cultura que é atacada por um complexo de insetos-pragas. As pragas que ocorrem no início da cultura são: pulgões (*Aphis gossypii* e *Myzus persicae*), broca-da-raíz (*Eutinobothrus brasiliensis*), tripses (*Frankliniella schultzei*), percevejo-castanho (*Scaptocoris castanea* e *Atarsocoris brachiariae*) e lagarta-rosca (*Agrotis ipsilon*). E, as pragas consideradas tardias são: broca-da-haste (*Conotrachelus denieri*), lagartas (*Spodoptera frugiperda* e *S. eridania*), bicudo (*A. grandis*), percevejo-rajado (*Horcias nobilellus*), manchadores (*Dysdercus* spp.) e vaquinha (*Costalimaita ferruginea*) (GALLO et al., 2002). A mosca-branca (*Bemisia tabaci*, Raça B.) é considerada como uma praga em expansão na cultura do algodão no Cerrado (SANTOS, 2007).

Os efeitos adversos de plantas transgênicas, incluindo o algodão Bollgard®, sobre os organismos não-alvo da tecnologia podem ocasionar mudanças no “status” das pragas atuais e/ou o surgimento de novas pragas, através das toxinas Cry ou através de efeitos pleiotrópicos, ou seja, aqueles que não são devidos aos genes inseridos, mas surgiram na planta geneticamente

modificada por causa da transformação genética de forma não intencional. Como exemplo, variedades de milho Bt apresentaram maiores teores de aminoácidos que as variedades não-transgênicas, contribuindo assim, para o aumento significativo da densidade populacional do pulgão *Rhopalosiphum maidis* (FARIA et al., 2007). O aumento significativo destes pulgões foi consequência da maior concentração de aminoácidos encontrado no milho Bt. Esse trabalho mostra que insetos, às vezes considerados de importância secundária para a cultura, como pragas ocasionais, por exemplo, podem ser tornar pragas primárias, podendo ser maléficas para o agroecossistema e demandar o uso de mais inseticidas na cultura, anteriormente não utilizados.

Além dos insetos fitófagos, mais de 45 espécies de predadores e mais de 15 espécies de parasitóides estão associadas à cultura do algodão no Brasil (FONTES et al., 2006; PALLINI et al., 2006). Os inimigos naturais também estão entre os organismos não-alvo da tecnologia que podem ser afetados pelo algodoeiro Bollgard®. Além do efeito adverso direto ocasionado pela toxina Bt e indireto, ocasionado pela toxina adquirida das presas, os predadores e parasitóides podem ser afetados, indiretamente, pela qualidade nutricional de suas presas (DUTTON et al., 2002; LIU et al., 2005).

A maioria dos estudos realizados em laboratório e em campo mostra que não há efeitos de plantas geneticamente modificadas, no entanto, alguns estudos mostram que ocorreram efeitos em determinadas espécies de insetos expostos direto ou indiretamente a determinadas plantas transgênicas. Baur e Boethel (2003) mostraram, sob condições laboratoriais, que o algodoeiro Bt NuCotn 33B (evento 531), comparado ao algodoeiro convencional DPL 5415, afetou os parasitóides *Cotesia marginiventris* e *Copidosoma floridanum* que se alimentaram de larvas da espécie *Pseudoplusia includens*. Neste caso, foram afetados significativamente o desenvolvimento, a longevidade e o número de ovos/fêmea de *C. marginiventris*. E o algodão Bt NuCotn 33B afetou o número de *C. floridanum* que emergiu de *P. includens*.

Liu et al. (2005) verificaram em estudos de laboratório que, *Microplitis mediator* (Haliday), um importante endoparasitóide da lagarta *Helicoverpa armigera* (Hübner), apresentou menores taxas de parasitismo, de emergência de adultos e maior aumento de pupas anormais quando alimentados da lagarta que previamente havia consumido dieta contendo pó de folhas de algodão transgênico. Isto devido à redução de peso da praga alvo do algodão Bt, ou seja, a uma menor qualidade nutricional do hospedeiro.

A espécie predadora *Chrysoperla carnea* teve efeitos adversos quando alimentada por insetos suscetíveis à proteína Bt. Os insetos presas que se alimentaram de dietas contendo a proteína Bt apresentaram maior mortalidade e desenvolvimento lento, fazendo com que *C. carnea* fosse afetada pela qualidade nutricional mais pobre dos insetos-presa suscetíveis ao *B. thuringiensis* (DUTTON et al., 2002).

Outro estudo mostrou que a longevidade de dois importantes percevejos predadores (*Orius tristicolor* e *Geocoris punctipes*) foi reduzida quando estes se alimentaram de *S. exigua* mantida em algodoeiro Bt (Delta Pine Nucleon-33B), em laboratório (PONSARD; GUTIERREZ; MILLS, 2002).

Efeitos da exposição indireta foram relatados também por Hilbeck et al. (1998) alimentando *C. carnea* com *S. littoralis* e *Ostrinia nubilalis* que haviam ingerido milho Bt. Embora tenham observado uma maior mortalidade dos predadores alimentados com presas oriundas de plantas Bt, os autores ressaltaram que é impossível prever se tais resultados seriam replicáveis em condições de campo.

Naranjo (2005), em um estudo de cinco anos, em campo, verificou que o algodoeiro Bt (Deltapine NuCOTN 33B), comparado com a cultivar não-transgênica Deltapine 5415, causou efeitos nos predadores *Nabis alternatus* (Heteroptera) e *G. punctipes* (Heteroptera), *Hippodamia convergens* (Coleoptera) e *Drapetis nr. divergens* (Diptera). *N. alternatus* e *G. punctipes* podem ter sido afetados indiretamente pela redução da praga-alvo (*P. gossypiella*) ou pela ingestão direta da toxina Bt. *H. convergens* pelo consumo de néctar e pólen. *D. nr. divergens* teria sido afetada na fase de larva, pela ingestão da proteína Bt de presas que habitam o solo, considerando que os adultos de *D. nr. divergens* se alimentam de *Bemisia tabaci*, que não possui a proteína Bt e cuja abundância não diferiu entre os campos com algodoeiro Bt e não-Bt.

### **Efeitos de plantas transgênicas sobre ácaros fitófagos**

Os ácaros apresentam uma considerável diversidade em relação ao comportamento e habitat que ocupam. Na parte aérea de plantas podem ocorrer ácaros fitófagos, que estão expostos de forma direta às toxinas Cry do algodão transgênico, considerando que estes organismos se alimentam do conteúdo celular das folhas.

Na cultura do algodão são encontrados ácaros fitófagos principalmente das famílias Tetranychidae, Tarsonemidae e Eriophyidae. Dentre os tetraniquídeos, os ácaros mais comumente encontrados no algodoeiro são: ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*), ácaro-verde (*Mononychellus planki*) e ácaros-vermelhos (*T. ludeni*, *T. desertorum*, *T. neocaledonicus*, *T. mexicanus*, *T. bastosi*). Da família Eriophyidae podem ser encontrados o ácaro-da-erinoze-do-algodoeiro (*Acalytus gossypii*) e o ácaro-do-bronzeamento-do-algodoeiro-mocó (*Heterotergum gossypii*). E da família Tarsonemidae, o que ocorre com mais frequência é o ácaro-branco (*Polyphagotarsonemus latus*) (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Chiavegato (1975) fez levantamento das flutuações populacionais de ácaros no algodoeiro nos anos agrícolas 1967/1968, 1968/1969 e 1969/1970 em seis cidades do estado de São Paulo e verificou a ocorrência de *T. urticae*, *M. planki*, e das espécies vermelhas de Tetranychidae (*T. ludeni*, *T. mexicanus* e *T. desertorum*), e *P. latus*. A localidade teve grande influência na densidade populacional de ácaros, havendo predominância de *T. urticae* em Ribeirão Preto e Campinas, em anos secos, *P. latus* em Pindorama, Campinas e em Tatuí, nos anos chuvosos, das espécies vermelhas em Mococa e em Tatuí (em anos secos), e houve baixa ocorrência de *M. planki* e *Brevipalpus phoenicis* em Jaú. Os principais ácaros considerados como pragas importantes para o algodoeiro foram *T. urticae*, *T. desertorum* e *T. ludenii* e *P. latus* (FLECHTMANN, 1979).

Os ácaros *T. urticae* e *P. latus* podem causar danos consideráveis ao algodoeiro. O ácaro-rajado é considerado como uma das espécies mais importantes de ácaros-praga do mundo. Trata-se de uma espécie cosmopolita, que ataca plantas cultivadas ou não. No algodoeiro, este ácaro pode provocar redução de até 11% na produção de algodão em caroço. Já o ácaro-branco, *P. latus*, é uma espécie cosmopolita, que pode causar reduções significativas no número de maçãs (4-16%), na produção do algodão em caroço (17-25%) e no peso das fibras (8-12%) (OLIVEIRA, 1972).

O ácaro *M. planki* é polífago e ocorre em mais de 49 hospedeiros, além do algodoeiro (BOLLAND; GUTIERREZ; FLECHTMANN, 1998). Este ácaro foi considerado uma praga em potencial para o algodoeiro por Chiavegato (1971). E mais recentemente, nos anos agrícolas 2002/2003 e 2003/2004, o ácaro-verde foi encontrado em soja (*Glycine max*), no Rio Grande do Sul, em cinco das 11 regiões amostradas, enquanto que *T. urticae*, o principal ácaro fitófago desta cultura, não foi encontrado em nenhum dos locais amostrados (GUEDES et al., 2007).

As toxinas Cry de plantas geneticamente modificadas podem ser adquiridas e concentradas pelos ácaros fitófagos. Dutton et al. (2002) verificaram que, comparado a outros herbívoros mastigadores e sugadores alimentados com milho Bt (N4640Bt), *T. urticae* (KOCH, 1836) apresentou a maior quantidade da proteína Cry1Ab. A toxina permanece biologicamente ativa dentro do ácaro (OBRIST et al., 2006a), em concentrações maiores do que as encontradas na planta geneticamente modificada. Obrist et al. (2006b) verificaram que a toxina Cry1Ab foi quase três vezes maior neste ácaro fitófago que a encontrada nas folhas do milho Bt (Evento 176, Compa CB®). Torres e Ruberson (2008) detectaram uma concentração de Cry1Ac 16,8 vezes maior no ácaro rajado que a concentração original do próprio algodoeiro Bt (Deltapine 555 BB/RR, Bollgard<sup>R</sup>).

Não se sabe ainda se ácaros possuem receptores para as toxinas Cry, no entanto, Dutton et al. (2002) verificaram que ocorreu decréscimo na taxa de crescimento da população de *T. urticae* criada em milho Bt, que expressava a proteína Cry1Ab, comparada à da população mantida na variedade de milho não transgênica.

As plantas transgênicas podem afetar o comportamento dos ácaros fitófagos. Quando submetidas a estudos de preferência, fêmeas adultas de *T. urticae* preferiram a variedade de berinjela (*Solanum melongena*) que expressava a toxina Cry3Bb que a convencional. Além disso, *T. urticae* também apresentou maior taxa de oviposição nesta variedade transgênica (ROVENSKÁ et al., 2005).

*Rhizoglyphus robini* (Claparède), conhecido como ácaro dos bulbos, é encontrado em plantas da família Liliaceae, mas também ataca outras plantas, como por exemplo, este ácaro afeta a cultura da batata (DÍAZ et al., 2000). *R. robini* foi submetido a teste de preferência e houve diferença significativa entre variedades de milho, sendo que este ácaro preferiu atacar as raízes de milho Bt, que possuía a toxina Cry3Bb1, do que as raízes de milho convencional (CARTER et al., 2004).

### **Efeitos de plantas geneticamente modificadas sobre ácaros predadores**

A predação é considerada um hábito primitivo dos ácaros, a partir do qual evoluíram espécies com outros hábitos alimentares. Os ácaros Phytoseiidae pertencem à ordem Mesostigmata e são predadores de tetraniquídeos e de outros pequenos ácaros e insetos de

plantas, como por exemplo, os tripes. Algumas espécies também podem se alimentar de nematóides, esporos de fungos, pólen e exudatos de plantas (ZHANG, 2003).

As espécies de Phytoseiidae estão amplamente distribuídas pelo mundo. Mais de 1.600 espécies distribuídas em mais de 70 gêneros são conhecidas mundialmente. A família Phytoseiidae consiste de três subfamílias, que são: Amblyseiinae, Phytoseiinae e Typhlodrominae (ZHANG, 2003). Várias espécies de ácaros fitoseídeos têm recebido considerável atenção, nos últimos 40 anos, pela possibilidade do uso no controle biológico de ácaros fitófagos. Algumas espécies têm sido utilizadas em programas de controle biológico de ácaros fitófagos e insetos-pragas em cultivos de morango, citros, algodão, milho, mandioca, uva, maçã, entre outras (McMURTRY; CROFT, 1997; PEÑA; OSBORNE, 1996).

Os ácaros da família Phytoseiidae podem ser classificados em quatro categorias de acordo com seus hábitos alimentares. O tipo I é constituído por ácaros fitoseídeos especializados em espécies de ácaros do gênero *Tetranychus*, representado pelas espécies de *Phytoseiulus*. Os predadores do tipo II se alimentam de espécies de Tetranychidae ou de outras espécies que produzem teia, representado principalmente por espécies dos gêneros *Galendromus* e *Neoseiulus*, como por exemplo, *G. occidentalis*, *N. californicus* e *N. idaeus*. O tipo III é composto por predadores generalistas que se alimentam de ácaros e insetos, mas podem consumir pólen e fungos. Exemplos de fitoseídeos desta categoria são *Typhlodromalus aripo* e *Metaseiulus arboreus*. Os fitoseídeos do tipo IV são generalistas com preferência por pólen, mas se alimentam de presas de várias famílias de ácaros, constituído pela maioria das espécies de *Euseius* e *Amblyseius*. Espécies do gênero *Euseius* podem se alimentar de ácaros de várias famílias, incluindo Tetranychidae, Tarsonemidae e Eriophyidae, além de mosca-branca e tripes (Insecta), e pólen. *E. concordis* pode adquirir as toxinas Cry pelo consumo direto na planta (néctar extrafloral e exudatos) ou indireto pela alimentação de outros ácaros e insetos (exposição tritífica), pelo fato de ser um predador generalista (MCMURTRY; CROFT, 1997).

Poucos estudos foram conduzidos para determinar os efeitos de plantas transgênicas em ácaros predadores. Obrist et al. (2006c) avaliaram os possíveis efeitos de milho Bt (NT4640Bt) em *N. cucumeris* e não foram encontradas diferenças significativas no ciclo biológico deste predador, que foi alimentado com *T. urticae* criado nas plantas de milho transgênico Bt, comparado a sua isolinha (NT4640). Mas o tempo de desenvolvimento das fêmeas foi 9% mais longo e a fecundidade foi reduzida em 17% quando as fêmeas foram alimentadas com pólen do

milho Bt. Os autores concluíram que esses efeitos foram possivelmente causados por alterações na qualidade nutricional do pólen do milho Bt e não propriamente da toxina Cry1Ab, presente nesta variedade transgênica.

Em outro estudo, observando a preferência alimentar do predador *Phytoseiulus persimilis*, Rovenská et al. (2005) verificaram que este ácaro predador consumiu menos *T. urticae* mantido em berinjela transgênica do que os da isolinha. Isto mostra a possibilidade de ocorrer uma interferência na atuação do predador sobre a praga e, conseqüentemente, prejudicar determinadas espécies predadoras que promovem o controle biológico no agroecossistema da cultura transgênica.

Há uma carência de literatura sobre predadores chaves associados ao algodoeiro brasileiro e a relativa importância destes, o que dificulta a seleção de espécies para estudos sobre análise de risco de algodoeiros transgênicos. Baseado nas informações disponíveis na literatura e opinião dos cientistas, Faria et al. (2006) priorizaram as espécies de inimigos naturais que ocorrem nas áreas com algodão geneticamente modificado e que deveriam ser testadas na avaliação da toxina Cry1Ac. Dentre as espécies mencionadas foram relacionados os ácaros predadores da família Phytoseiidae. Estes organismos devem ser priorizados, pois têm grande importância no manejo de herbívoros-praga não-alvo nos agroecossistemas brasileiros. A ocorrência de uma possível interferência negativa das variedades de algodoeiros Bt em ácaros predadores pode promover uma redução da eficiência do controle biológico.

### **Efeitos das proteínas Cry de *B. thuringiensis* sobre organismos edáficos**

No solo, as proteínas Bt estão sujeitas a processos de adsorção, degradação e desnaturação, bem como a ingestão por representantes da fauna edáfica. Estas proteínas podem permanecer ativas por muito tempo no sistema edáfico. Tapp e Stotky (1998) observaram que a proteína purificada de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* manteve a atividade inseticida por mais de 6 meses em solos caulíníticos. Stotzky (2000) observou que a atividade inseticida da toxina de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* foi detectada até 234 dias após ter sido adicionada em solos não estéreis. E quando o algodoeiro Bollgard® foi incorporado ao solo, a proteína Bt teve uma meia vida de 41 dias (REAM; SIMS; LEACH, 1994).



No processo de decomposição da biomassa da cultura, parte das toxinas Bt é liberada no solo e liga-se às partículas de argila, sendo que a mesma foi detectada após 40 dias em solos não estéreis. A toxina ligada às partículas de argila se tornou mais resistente à degradação pelos microrganismos em comparação à toxina livre (TAPP; STOTKY, 1995). O pH do solo influencia na adsorção da proteína de Bt às partículas de solo, sendo que com pH baixo ocorre maior adsorção da mesma, e com o aumento do pH a adsorção decresce (VENKATESWERLU; STOTZKY, 1992). Os ácidos húmicos (matéria orgânica) também possuem grande afinidade com as proteínas Bt. Estas se ligam rapidamente, mantêm-se ligadas firmemente e permanecem ativas quando estão unidas aos ácidos húmicos, o que aumenta a exposição dos organismos não-alvo (CRECCHIO; STOTKY, 1998).

O sistema de manejo do algodoeiro pode influenciar nas formas de exposição dos organismos à proteína Cry1Ac. No sistema de semeadura direta (“plantio direto”), os resíduos da cultura são deixados sobre a superfície do solo e os macrorganismos que vivem nas camadas superficiais são os mais expostos às toxinas Bt (MENDONÇA HAGLER et al., 2006). No sistema convencional, em que as plantas são incorporadas ao solo após a colheita, a concentração da proteína Bt é distribuída numa profundidade maior do solo e desta forma, um maior número de espécies de organismos edáficos são expostos.

Os organismos edáficos podem ingerir a toxina Cry1Ac do algodoeiro Bollgard®, diretamente, através de partes das plantas que caem no solo (folhas, maçãs e pólen), raízes, material em decomposição e sementes que permanecem no campo após a colheita (MENDONÇA HAGLER et al., 2006).

Outra forma que as toxinas de plantas geneticamente modificadas alcançam o sistema edáfico é através de excrementos de organismos edáficos. Desta forma, foi observado que a toxina Cry1Ab da variedade de milho Bt N4640Bt (evento Bt11) é excretada pelo Isopoda *Porcellio scaber*, sendo potencialmente perigosa para os organismos edáficos que se alimentam de excrementos de organismos que habitam o solo (WANDELER; BAHYLOVA; NENTWIG, 2002).

Em trabalhos com esporos de *B. thuringiensis* e com plantas geneticamente modificadas foram encontrados efeitos em artrópodes não-alvo que habitam o solo. Saleh, Kelada e Shaker (1991), em condições de laboratório, constataram que esporos de *Bacillus* spp. (*B. sphaericus* e *B. thuringiensis* var. *israelensis*) afetaram e atrasaram o desenvolvimento de tritofídeos de

*Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart) (Acari: Sarcoptiformes: Astigmata), que é um grupo de ácaros filogeneticamente relacionado aos Oribatida (NORTON, 1998).

Outro estudo foi feito em laboratório por Bakonyi et al. (2006), que estudaram o efeito do milho transgênico DK-440 BTY “YieldGard” (event MON810) na preferência e no consumo alimentar (medido através de pellets fecais) de três espécies de Collembola (*Folsomia candida*, *Heteromurus nitidus* e *Sinella coeca*). Doze horas após o início do experimento, um menor número de *H. nitidus* foi encontrado nos resíduos de folhas do milho Bt, não diferenciando para as demais espécies. Menos pellets fecais foram deixados por *F. candida* que consumiram milho Bt, comparados a isolinha. Os autores mencionaram que o milho Bt foi menos preferido por *H. nitidus* e que o teor de lignina pode ser diferente na variedade Bt, e que por isto esta foi provavelmente, uma fonte de alimento menos utilizável por *F. candida*.

Wandeler, Bahylova e Nentwig (2002) estudaram, também em laboratório, os possíveis efeitos da toxina Cry1Ab de milho Bt sobre *Porcellio scaber*, um Isopoda considerado um importante decompositor pertencente à macrofauna do solo. *P. scaber* consumiu menos folhas secas do milho Bt variedade N4640Bt (evento Bt11) que sua isolinha N4640. A variedade geneticamente modificada Max88 (evento 176) foi mais consumida que a variedade N4640Bt, mas não houve diferença com relação à isolinha N4640. Os autores afirmaram que, com base na diferença de consumo alimentar entre N4640Bt e N4640, a toxina Bt possui efeito negativo sobre *P. scaber*, e que o maior consumo de folhas de Max88 em comparação ao de N4640Bt foi por causa da menor concentração da toxina Cry1AB na Max88, que não foi suficiente para prejudicar o Isopoda.

Em campo, a maioria dos trabalhos não revelou efeitos de plantas transgênicas em organismos não-alvo edáficos e que habitam a superfície do solo. Bitzer et al. (2005), por exemplo, estudando os efeitos de milho Bt (MON 863) que expressa a toxina Cry3Bb1 em Collembola, observou menor abundância de algumas espécies de colêmbola em apenas algumas coletas em um dos anos agrícolas estudados e afirmaram que não houve indicação de que os resultados foram devido ao milho Bt. Por outro lado, o milho Bt (MON 810) resultou em menor abundância de Collembola e de Oribatida, antes da colheita do milho, em Varois (na França), comparada à variedade isogênica, que ocorreu possivelmente devido à biodisponibilidade da toxina nos solos mais argilosos de Varois (43% de argila) em comparação aos solos das outras duas localidades estudadas (13,1% e 8,7% de argila) (CORTET et al., 2007).

No Brasil, pouco foi pesquisado sobre os possíveis impactos de plantas transgênicas sobre organismos edáficos, especialmente em campo. Existe a necessidade de estudos que abordem os possíveis efeitos do algodoeiro Bt sobre espécies nativas de colêmbolas, ácaros, Isopoda, Diplopoda, nematóides, formigas, minhocas, entre outros (MENDONÇA HAGLER et al., 2006).

Dentre os organismos do solo, os ácaros da subordem Oribatida ou Cryptostigmata constituem um grupo cosmopolita e diversificado, representando geralmente um dos grupos de artrópodos mais abundante e diversificado da mesofauna edáfica, no horizonte orgânico na maioria dos solos (NORTON, 1990). De acordo com Petersen e Luxton (1982), os Oribatida constituem o grupo mais abundante entre os macrorganismos, contribuindo com mais de 80% da comunidade de artrópodes do solo. Composta por aproximadamente 6000 espécies descritas, distribuídas em 1000 gêneros e em mais de 150 famílias (TRAVÉ et al., 1996; NORTON, 1990), estes organismos estão envolvidos ativamente na decomposição da matéria orgânica, na ciclagem de nutrientes, na formação e manutenção da estrutura do solo (BEHAN-PELLETIER, 1999). Alimentam-se preponderantemente de vegetais em decomposição e fungos no solo, embora também existam espécies bacteriófagas, ficófagas, liquenófagas, filófagas, polínívoras, entomófagas e nematófagas (TRAVÉ et al., 1996). Muitas espécies ao se alimentarem de partes vegetais incorporadas ao solo, promovem uma fragmentação da matéria orgânica, aumentando a área total das partículas. O aumento relativo da área dos fragmentos amplia a ação de bactérias e fungos que aceleram a decomposição da matéria orgânica. Os peletes fecais têm uma área superficial considerável, que formam um componente integral da estrutura do solo nos horizontes orgânicos (BEHAN-PELLETIER, 1999).

Dentro da subordem Oribatida, as três espécies mais abundantes encontradas por Oliveira et al. (2001) foram *Scheloribates praeincisus* (Berlese), *Galumna glabra* Pérez-Iñigo & Baggio e *Berlesezetes braziozetoides* J. Balogh & Mahunka, em Jaguariúna, SP, correspondendo as três espécies juntas, a 63% do total de Oribatida.

Outros organismos de solo, componentes da fauna edáfica são os colêmbolas, que possuem mais de 9.000 espécies descritas, distribuídas em 27 famílias, no mundo todo. No Brasil, são conhecidas 199 espécies, em 19 família e 80 gêneros, sendo que a maioria das espécies de colêmbolas foram reportadas nos estados do Rio de Janeiro e Amazonas, com 69 e 56 espécies, respectivamente, em função de haver nestes estados dois grandes centros de estudos de Collêmbola (CULIK; ZEPPELINI FILHO, 2003).

A maioria das espécies de Collembola se alimenta de hifas de fungos ou de material vegetal morto, algumas espécies comem outros pequenos invertebrados e poucas são prejudiciais para as plantas. Os Collembola são ecologicamente importantes por favorecerem os processos de decomposição, pois fragmentam os restos vegetais, adicionam nutrientes ao solo através de suas fezes, contribuindo para a fertilidade química e para a estruturação do solo e têm influência sobre a ecologia microbiana do solo (GULLAN; CRANSTON, 2007; LOPES ASSAD, 1997).

A exploração do algodoeiro Bt pode ter implicações significativas sobre os organismos que habitam o solo. Efeitos negativos sobre a fauna do solo, a qual desempenha funções de ciclagem de nutrientes e contribui para estruturação física e biológica dos solos, pode afetar a sustentabilidade do solo. Por isso são necessários estudos dos efeitos do algodoeiro Bollgard® sobre estes organismos não-alvo.

## **2.2 Material e Métodos**

### **2.2.1 Estudos em campo sobre os efeitos do algodoeiro Bollgard® em organismos não-alvo**

O experimento de campo foi realizado em 3 anos agrícolas consecutivos (2005/2006, 2006/2007 e 2007/2008), iniciado em dezembro de 2005 e finalizado em agosto de 2008. No ano agrícola 2005/2006, o experimento foi conduzido em Leme-SP (latitude: 22° 11' 08"; longitude: 47° 23' 25"), em uma propriedade particular onde eram conduzidos experimentos da Monsanto. Nas safras 2006/2007 e 2007/2008, devido à impossibilidade de repetir o experimento em Leme-SP, o estudo foi conduzido na Fazenda Areão, pertencente a ESALQ/USP, em Piracicaba-SP (22°42'S e 47°38'W latitude: 22° 43' 31"; longitude: 47° 38' 57") (Figura 1). Durante os três anos agrícolas de experimentação foram feitas amostragens de organismos de parte aérea (folhas), edáficos e da superfície do solo (somente em 2006/2007 e 2007/2008).

#### **Ano agrícola 2005/2006 em Leme – SP**

A semeadura foi realizada em 02/12/2005 com as variedades Delta Pine 90 (Bollgard®) (tratamento Bt) e Delta Pine Acala 90 (Isolinha) (isolinhas I e II). A isolinha I foi utilizada como

controle sendo semelhante em todos os aspectos ao tratamento Bt. Já a isolinha II foi concebida para estimar o ganho de rendimento da tecnologia Bollgard e desta forma este deveria receber aplicações de pesticidas específicas para controle de lagartas *A. argillacea* (Hübner), *H. virescens* (Fabricius) (Noctuidae) e *P. gossypiella* (Saunders) (Gelechiidae). Entretanto, como as pragas alvos não atingiram altos níveis populacionais e as aplicações de pesticidas para as pragas foram feitas em todas as parcelas, este tratamento não se diferenciou da isolinha I, sendo os dois tratados como controle. O solo foi preparado de forma convencional, com aração e gradagem e foram realizadas adubações de semeadura e cobertura com o adubo NPK, na fórmula 18-00-36.

As práticas culturais e as aplicações de pesticidas foram as mesmas para todas as parcelas. Durante o desenvolvimento da cultura foram realizadas quatro aplicações de herbicidas com os produtos Staple, Verdict e Diuron, 10 aplicações para o controle do bicudo-do-algodoeiro, 5 aplicações para o controle de pulgões e ácaro-branco (*P. latus*) e uma para *Pseudoplusia* sp. (Tabela 1). Houve também uma aplicação de Piori Xtra (300 ml/ha) para o controle de ramulária e duas aplicações do regulador de crescimento Tuval (100 ml/ha).

O delineamento experimental usado foi o de blocos ao acaso com três repetições. Cada parcela foi constituída por 11 linhas com plantas, com espaçamento de um metro entre linhas. O perímetro externo de um metro de largura em cada lateral das parcelas (incluindo a primeira e a última linha) foi deixado como bordadura e não foi utilizado para as coletas. Cada bloco possuía os três tratamentos citados anteriormente.

### **Anos agrícolas 2006/2007 e 2007/2008 em Piracicaba – SP**

O experimento foi conduzido na Fazenda Areão da ESALQ, localizada em Piracicaba-SP, nos anos agrícolas 2006/2007 e 2007/2008 (Figura 1). A semeadura do ano agrícola de 2006/2007 foi efetuada em 23/01/2007, com as mesmas variedades de algodoeiro utilizadas em Leme - SP.

O preparo do solo foi efetuado pela maneira convencional, utilizando apenas o sulcador e foram realizadas adubações de plantio (350 Kg/ha de NPK, na fórmula 4-20-20) e duas adubações de cobertura, sendo que na 2ª foram colocados 200 Kg/ha de Nitrato de Amônia (NH<sub>3</sub>OH) e na 3ª, 200 Kg deste adubo mais 70 Kg/ha de Cloreto de Potássio (KCl). Foram realizadas duas aplicações com o herbicida Karmex®, duas aplicações com o inseticida

Thiodan® para o bicudo-do-algodoeiro e duas aplicações com o fungicida Cabrio Top® para a Mancha de Ramulária.

A semeadura do ano agrícola 2007/2008 foi realizada em 12/12/2007 após uma aração e gradagem do solo. A semeadura, os adubos e a adubação também foram semelhantes do ano anterior, diferenciando do mesmo por não ter sido realizada a 2ª adubação de cobertura.

Neste ano agrícola houve muita chuva, que resultou em rápido crescimento das plantas daninhas, exigindo capinas no início da cultura. O maior problema encontrado neste ano foi a alta densidade populacional de bicudo-do-algodoeiro, no entanto, o fechamento das entrelinhas pelas folhas das plantas impossibilitou a realização de pulverizações. Foi utilizado o herbicida Roundup Ready® para o controle de plantas daninhas ao redor do campo experimental e entre as parcelas.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Cada parcela constou de 11 linhas com plantas, com espaçamento de um metro entre linhas e aproximadamente 0,10 m na linha. O perímetro externo de um metro de largura em cada lateral das parcelas (incluindo a primeira e a última linha) foi deixado como bordadura. Cada bloco possuiu dois tratamentos: algodão Bollgard® e isolinha.

Tabela 1 - Inseticidas utilizados o controle de *Anthonomus grandis* (bicudo-do-algodoeiro), *Polyphagotarsonemus latus* (ácaro-branco), *Aphis gossypii* (pulgão-do-algodoeiro) e *Tricoplusia ni* (lagarta-mede-palmo) em todas as parcelas de algodoeiro. Leme-SP, ano agrícola 2005/2006

Aplicação	Praga-alvo (nome comum)	Produto comercial (PC)	Dose do PC/hectare
1 <sup>a</sup>	Ácaro-branco	Vertimec	400 ml
2 <sup>a</sup>	Bicudo-do-algodoeiro	Cipermetrina Nortox	250 ml
	Ácaro-branco	Vertimec	250 ml
3 <sup>a</sup>	Bicudo-do-algodoeiro	Decis 50	50 ml
	Pulgão-do-algodoeiro	Calypso	100 ml
4 <sup>a</sup>	Ácaro-branco	Abamectin Nortox	400 ml
	Bicudo-do-algodoeiro	Decis 50	50 ml
5 <sup>a</sup>	Ácaro-branco	Abamectin Nortox	500 ml
	Bicudo-do-algodoeiro	Cipermetrina Nortox	250 ml
6 <sup>a</sup>	Ácaro-branco	Abamectin Nortox	250 ml
	Bicudo-do-algodoeiro	Decis 50	50 ml
7 <sup>a</sup>	Bicudo-do-algodoeiro	Cipermetrina Nortox	250 ml
	Pulgão-do-algodoeiro	Calypso	100 ml
8 <sup>a</sup>	Bicudo-do-algodoeiro	Nitrosil 600 CE	500 ml
	Pulgão-do-algodoeiro	Marshal 400 SC	500 ml
	Ácaro-branco	Abamectin Nortox	250 ml
9 <sup>a</sup>	Bicudo-do-algodoeiro	Nitrosil 600 CE	500 ml
		Decis 50	50 ml
	Ácaro-branco	Abamectin Nortox	150 ml
10 <sup>a</sup>	Lagarta-mede-palmo	Dimilin 80 WG	75 g
	Bicudo-do-algodoeiro	Endosulfan AG	2500 ml
11 <sup>a</sup>	Bicudo-do-algodoeiro	Decis 50	50 ml
		Bravik	800 ml
12 <sup>a</sup>	Bicudo-do-algodoeiro	Decis 50	50 ml
		Bravik	800 ml
13 <sup>a</sup>	Bicudo-do-algodoeiro	Nitrosil 600 CE	500 ml
		Decis 50	50 ml
	Pulgão-do-algodoeiro	Marshal 400 SC	500 ml

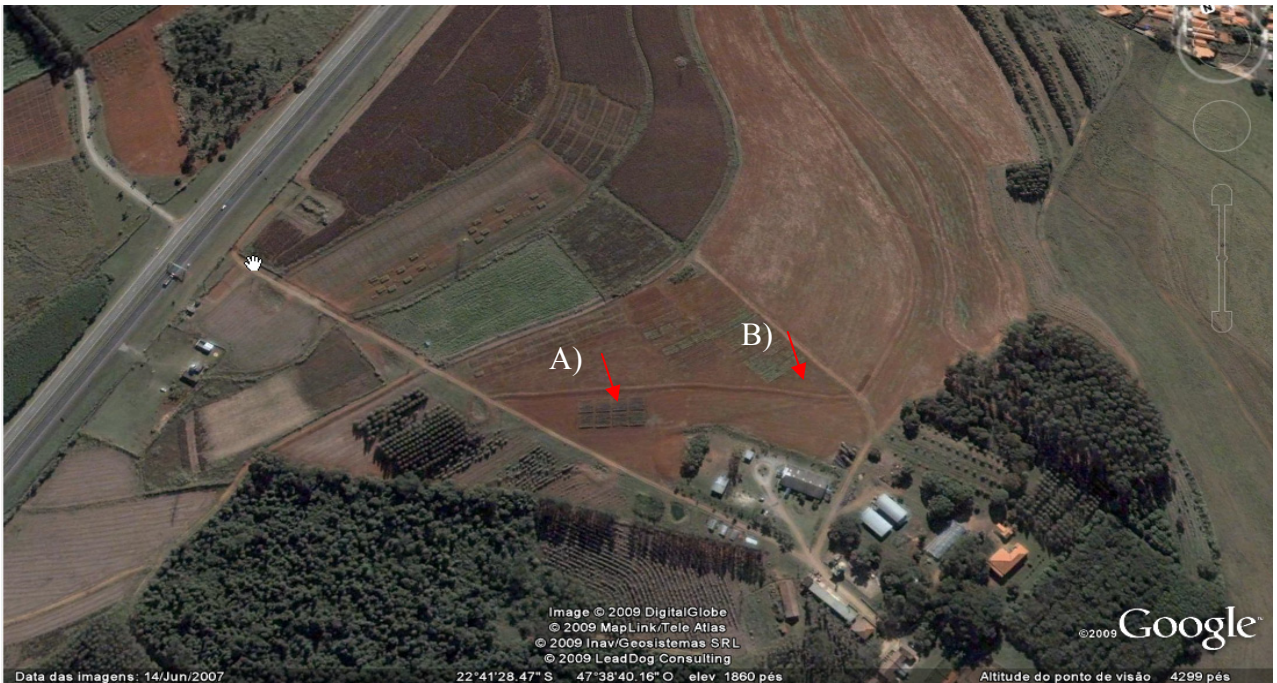


Figura 1 - Campo experimental da Fazenda Areão, Piracicaba – SP. A) Experimento montado no ano agrícola 2006/2007; B) Local em que o experimento foi montado em 2007/2008. Fonte: Google Earth (programa disponível em: <http://earth.google.com>. Acesso em: 10/07/09)

## Métodos de amostragens de organismos não-alvo utilizados nos campos experimentais

Durante os três anos agrícolas estudados foram realizadas 29 amostragens de organismos que habitam a parte aérea das plantas através da coleta de folhas apicais e medianas, 14 amostragens de organismos que caminham sobre a superfície do solo, através de armadilhas de queda (“pitfall traps”) e 16 amostragens dos organismos pertencentes a mesofauna edáfica, por meio de sondas cilíndricas.

### 2.2.1.1 Amostragem de organismos de parte aérea (folhas)

As amostragens foram conduzidas em folha do 1º ramo totalmente expandida, denominadas apicais (Figura 2A) e na 5ª folha abaixo do ramo apical, referida como mediana. As folhas foram coletadas ao acaso dentro da parcela, sendo retirada apenas uma folha apical por planta. Em todas as coletas foram amostradas 20 folhas por parcela por extrato da planta (apical e mediana) exceto nas três primeiras coletas do ano agrícola 2005/2006 e na primeira coleta dos



dois anos agrícolas seguintes quando foram amostradas somente folhas apicais, devido ao pequeno tamanho das plantas.

No ano agrícola 2005/2006, foram realizadas seis coletas de folhas apicais e três de folhas medianas. Em 2006/2007, foram feitas cinco e quatro coletas de folhas apicais e medianas, respectivamente. E em 2007/2008, foram realizadas seis coletas de folhas apicais e cinco de folhas medianas.

As folhas de cada parcela foram agrupadas (Figura 2B), colocadas dentro de sacos de papel e estes foram acondicionados em caixa de isopor contendo gelo e levados para o laboratório de Acarologia do Setor de Zoologia da ESALQ/USP.

O material coletado foi triado em laboratório, com o auxílio de um estereomicroscópio. A contagem da densidade populacional de cada espécie de ácaro foi feita na área abaxial total da folha exceto, para o ácaro-branco que, pela sua alta abundância foi contado somente os encontrados em três áreas da folha de 1,5 cm diâmetro (Figura 2C), marcados com auxílio de vazador. Os ácaros foram montados em lâminas contendo meio de Hoyer e colocados em estufa para a secagem do material. Os demais artrópodes foram contados e colocados em álcool 70%.

Foram feitas avaliações da densidade populacional de ácaros fitófagos das famílias Tetranychidae e Tarsonemidae, e predadores (Phytoseiidae), além de pulgão (Aphidoidea), mosca-branca (Aleyrodidae) e tripes (Thysanoptera), encontrados na parte abaxial de cada folha. O período de amostragem de folhas pode ser visualizado na Tabela 2.

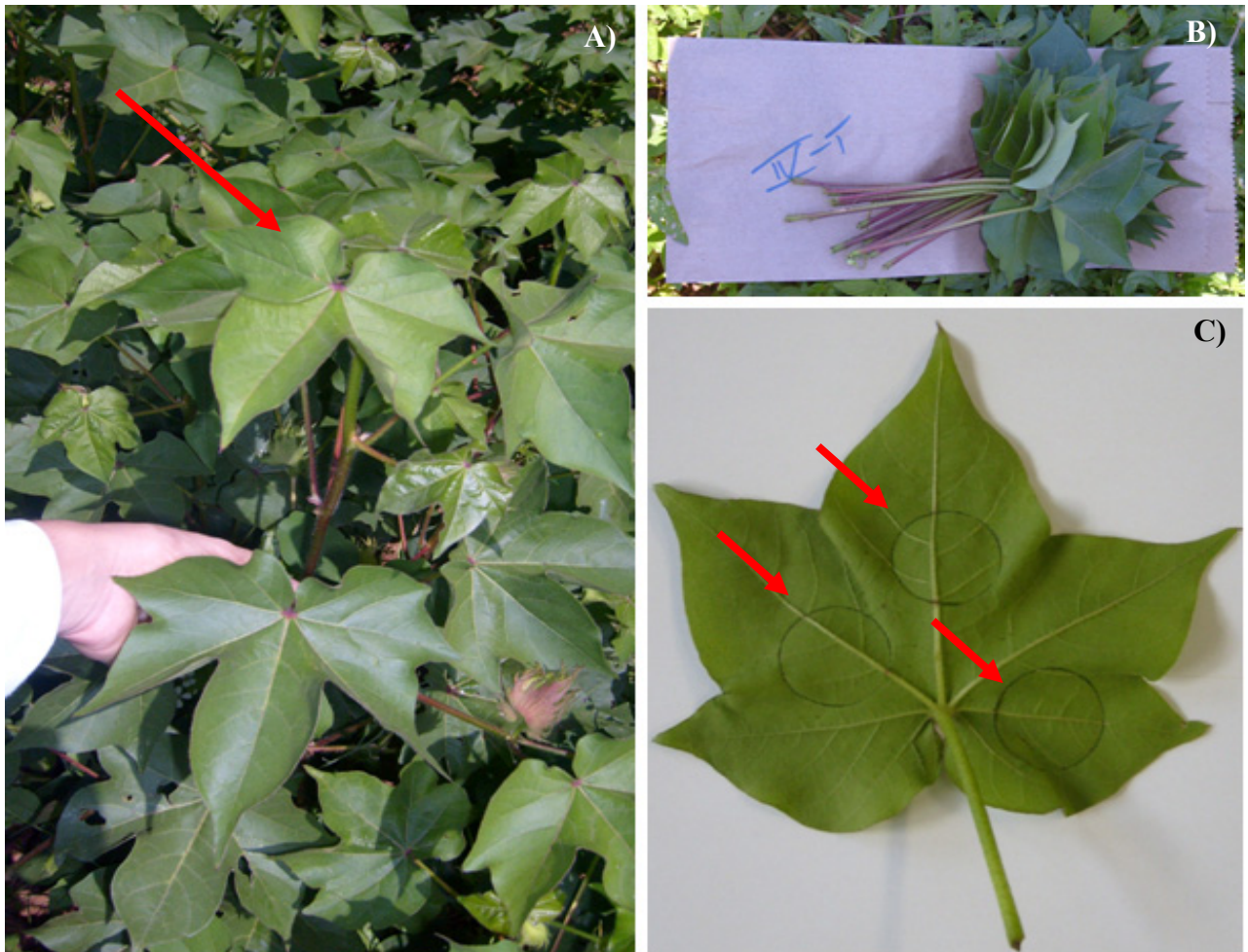


Figura 2 – Passos para coleta de organismos em folhas. A) Planta de algodão com folha apical no 1º ramo, antes de ser coletada; B) Folhas coletadas para contagem de organismos não-alvo; C) Parte da folha abaxial com círculos marcados para contagem de ácaro-branco

Tabela 2 - Quantidade e tipo de amostragem de artrópodes conduzida em plantios de algodoeiro em dois locais e três anos de experimentação

Local	Tipo de amostragem	n	Nº de coletas	Período de amostragem
Leme – SP (2005/2006)	Folhas Apicais	20	6	jan/06-mai/06
	Folhas Medianas	20	3	mar/06-mai/06
	Organismos edáficos	11	4	jan/06-jun/06
Piracicaba - SP (2006/2007)	Folhas Apicais	20	5	mar/07-mai/07
	Folhas Medianas	20	4	abr/07-jun/07
	“Pitfall traps”	5	7	abr/07-jul/07
	Organismos edáficos	13	6	jan/07-set/07
Piracicaba - SP (2007/2008)	Folhas Apicais	20	6	fev/08-abr/08
	Folhas Medianas	20	5	mar/08-mai/08
	“Pitfall traps”	5	7	mar/08-jul/08
	Organismos edáficos	13	6	dez/07-ago/08

n= número de amostras coletadas/parcela/data de coleta.

### 2.2.1.2 Amostragem dos artrópodes da superfície do solo

Armadilhas de solo do tipo “pitfall” (de queda) foram colocadas em número de cinco em cada parcela, distribuídas ao acaso. A armadilha foi composta por dois copos: o primeiro (500 ml) serviu de proteção para o copo interno e também para o escoamento de água na ocorrência de precipitações. Para isso, neste copo foram feitos quatro furos na face em que permaneceu em contato com o solo. O outro copo (300 ml) foi colocado dentro do copo maior e permaneceu com a parte superior ao nível do solo. Este copo foi perfurado (círculo com 1 cm de diâmetro) em dois lados, próximo à superfície do copo, para evitar acúmulo de água no interior do copo. Ao redor de cada furo foi colado um pedaço de tela fina de diâmetro superior ao do círculo do copo para evitar a saída dos artrópodes coletados, no caso de ocorrer precipitações e haver um aumento do

nível da solução no copo interno. Uma ilustração da armadilha no campo pode ser vista na Figura 4A. Cada armadilha de queda recebeu cerca de 50 mL de solução (água com detergente a 2%) (Figura 4B).

As armadilhas foram instaladas aproximadamente 50 dias após a emergência das plantas e as coletas dos artrópodes foram realizadas até após a queda das folhas do algodoeiro. O período de amostragem pode ser visualizado na Tabela 2.

Em cada data de coleta as armadilhas de solo permaneceram por 24 horas no campo. Os organismos coletados foram levados para o laboratório, colocados em álcool 70%, e posteriormente foram separados e quantificados de acordo com o grupo taxonômico, em esteromicroscópio.

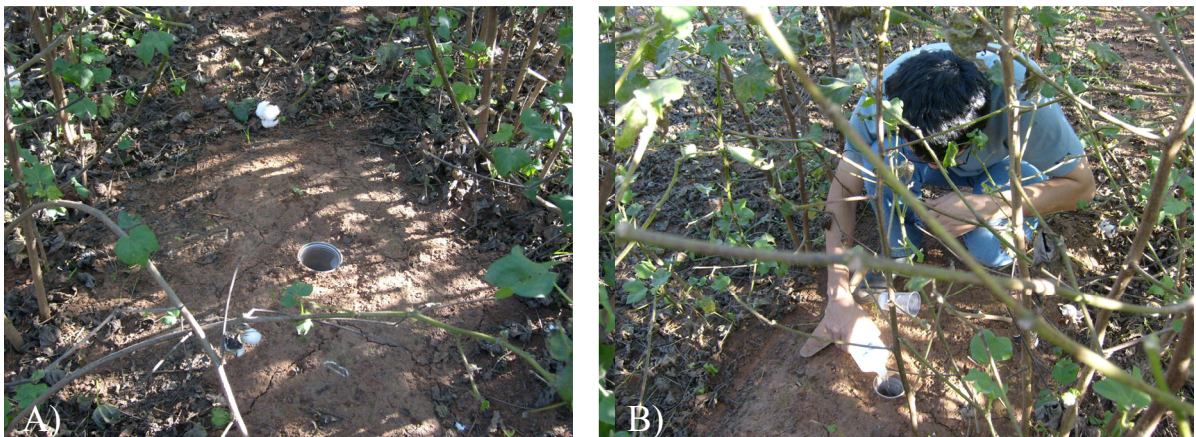


Figura 3 - Armadilhas de queda (“pitfall”). A) Armadilha entre as linhas do algodoeiro; B) Solução de detergente (2%) sendo colocada na armadilha de solo. Piracicaba- SP, julho de 2008

### 2.2.1.3 Amostragem da mesofauna edáfica

Para o levantamento da densidade e diversidade de organismos pertencentes à mesofauna do solo foram realizadas 16 coletas de solo, nas duas localidades estudadas, durante os três anos agrícolas. Em Leme-SP foram feitas quatro coletas, enquanto que, em Piracicaba-SP foram feitas seis coletas em 2006/2007 e seis em 2007/2008.

As amostras foram tomadas através de sondas de alumínio cilíndricas, com 9 cm de diâmetro interno e 5 cm de altura, introduzidas no solo (Figura 3<sup>a</sup>-B). Foram extraídas 11 amostras aleatórias em Leme-SP e 13 em Piracicaba-SP por data de coleta, nas linhas de plantio

do algodoeiro (exceto na primeira coleta de 2006/2007 e de 2007/2008, em que a amostragem foi realizada entre as linhas de plantio). O período de amostragem dos organismos edáficos pode ser visualizado na Tabela 2. Cada amostra foi retirada do solo com o auxílio de uma espátula, posteriormente etiquetada, embalada em saco de polietileno, acondicionada em uma caixa de isopor e levada para o laboratório. As amostras foram retiradas dos sacos plásticos, o excesso de solo que circundava cada cilindro foi retirado com o auxílio de estilete (Figura 3C) e um cilindro de tubo de PVC com rede de nylon e gazes foram colocados em cima de cada cilindro, sobre a parte em que estava a superfície do solo.

A extração da mesofauna foi realizada através de equipamento do tipo Berlese-Tullgren modificado (OLIVEIRA et al., 2001) (Figura 3D). Cada equipamento foi composto por uma caixa retangular (100 x 70 x 50 cm) de compensado naval, com capacidade para processar simultaneamente 21 amostras de solo, que possuía lâmpadas de 15W para aquecer e desidratar lentamente as amostras e estimular os organismos edáficos a saírem pela extremidade oposta da sonda. Abaixo de cada amostra havia um funil e acoplado a este, um pote de vidro com solução fixadora (formol a 4%) de organismos edáficos (Figura 3E). As lâmpadas permaneceram apagadas no primeiro dia da extração. A temperatura foi diariamente aumentada, através de um controlador de voltagem, de 10 para 15, 20, 25, 30 e 35V (aproximadamente 30,0; 33,5; 37,0; 40,5; 43,5 e 46,5°C) do segundo ao sétimo dia. As amostras com os organismos extraídos foram triadas em um esteromicroscópio e os organismos separados nos seguintes agrupamentos: Oribatida, Prostigmata, Mesostigmata e Astigmata, Collembola e Arthropoda (exceto Acari e Collembola). Os organismos foram quantificados e armazenados em microtubos Eppendorf contendo álcool 70%.

As principais espécies de ácaros da ordem Oribatida encontradas, *Scheloribates praeincisus*, *Galumna glabra* e *Protoribates* sp foram quantificadas para apresentação da dinâmica populacional destas espécies. Estes ácaros foram retirados do álcool 70%, colocados em microtubos (1,5 ml) com 0,5 ml de ácido láctico por 24 horas, colocados em lâmina escavada, sobrepostos com lamínula e identificados no microscópio óptico.

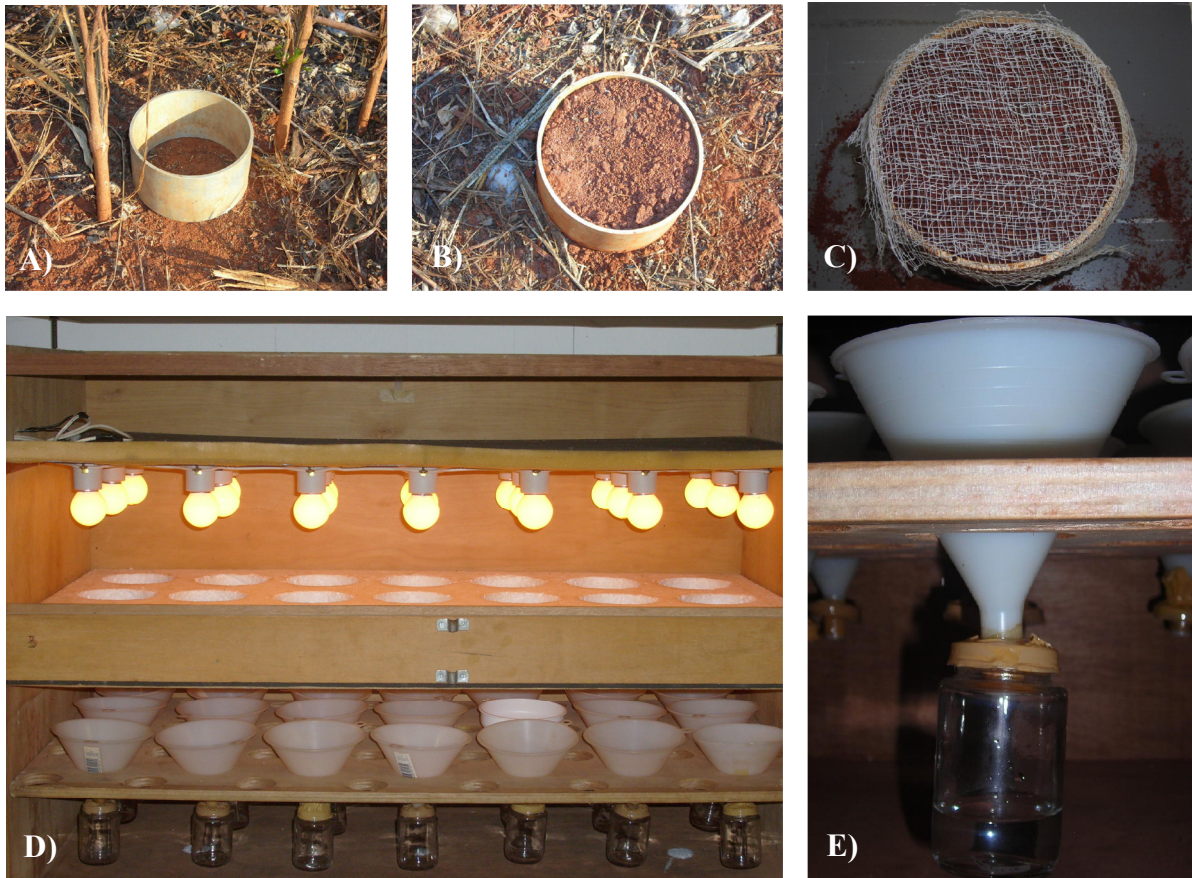


Figura 4 - Passos seguidos na extração da mesofauna edáfica. A) Cilindro de ferro sobre local a ser amostrado, em Piracicaba - SP; B) Amostra de solo recém-retirada do solo; C) Amostra de solo com gaze, no laboratório; D) Caixa extratora com amostras de solo e luzes à 35° C; E) Detalhe do funil com copo coletor contendo solução de formol (4%)

### Análise estatística

As análises foram realizadas de acordo com a distribuição dos dados e ajuste dos modelos apropriados a cada distribuição. Para os dados com distribuição normal, foi utilizado o modelo da distribuição de Poisson, em que a média e a variância são iguais, e em que o p-valor obtido é referente ao p-valor do teste Qui-Quadrado; Quando houve superdispersão dos dados, foi usado o modelo Binomial Negativo (HINDE; DEMÉTRIO, 1998), em que a variância é maior que a média; e, nos casos em que houve subdispersão, os dados foram analisados pelo modelo de Quase-Poisson, em que a variância é menor que a média. Tanto para o modelo Binomial Negativo como para o de Quase-Poisson, os p-valores obtidos se referem ao p-valor do teste F.

## **2.2.2 Estudos em laboratório sobre os efeitos do algodoeiro Bollgard® em organismos não-alvo**

### **2.2.2.1 Biologia comparada de *Mononychellus planki* no algodoeiro transgênico Bollgard® e na sua isolinha**

#### **Variedades de algodoeiro**

O experimento foi realizado com plantas do algodoeiro transgênico Delta Pine 90 B (Bollgard®) (Bt), que expressa a toxina Cry1Ac e da variedade isogênica não-transformada Acala 90 (Isolinha) que foi utilizada como controle.

As plantas foram cultivadas em telado no setor de Zoologia da ESALQ. As sementes de algodão Bt e algodão não-transgênico foram colocadas em solo, em vaso de plástico preto (volume de 15 l). As adubações foram realizadas na semeadura, o equivalente a 350 Kg/ha do adubo 4-20-20 e em cobertura: 1) 200 Kg/ha de Nitrato de Amônia aos 25 dias; e 2) 200 Kg/ha de 20-0-20 com aproximadamente 50 dias após a semeadura. Fez-se o desbaste de plantas, deixando-se duas plântulas/vaso. As plantas foram regadas duas vezes ao dia, durante todo o desenvolvimento das mesmas. Não foram aplicados inseticidas ou fungicidas nas plantas. Tanto as plantas Bt quanto as plantas da isolinha utilizadas possuíam a mesma idade, sendo utilizadas a partir de 120 dias.

#### **Origem e criação dos ácaros**

*Mononychellus planki* foi obtido de folhas de soja (*Glycine max*) coletadas no campus da ESALQ/USP, em janeiro de 2009. Os ácaros foram transferidos, com pincel, para as unidades de criação, sendo que estas foram feitas separadamente para Acala e Bollgard®. As unidades de criação consistiram de folhas apicais de algodoeiro sobrepostas sobre espuma de poliuretano (5x20x3cm) umedecida e esta foi colocada em bandeja plástica branca (26,2 x 17,7x 8,5cm). A ponta do pecíolo de cada folha foi enrolada com algodão hidrófilo umedecido e este foi mantido em contato com a espuma. A espuma foi umedecida diariamente para manter a turgidez das folhas do algodoeiro. As folhas foram substituídas periodicamente.

### **Desenvolvimento de *M. planki***

Fêmeas adultas de *M. planki* foram transferidas, com pincel fino, de plantas de soja para folhas apicais de algodão sobrepostas em espuma de poliuretano em bandeja plástica branca, e foram retiradas 12 horas após a transferência.

Os ovos deixados nas folhas foram individualizados em discos foliares (1,5 cm de diâmetro). A área que circundava cada ovo foi recortada com estilete e com o auxílio de pinça a mesma foi colocada sobre o disco foliar. Vinte e quatro discos foliares foram dispostos sobre papel filtro e espuma, ambos umedecidos diariamente e, mantidos em bandeja de plástico transparente (24,5 x 17 x 6 cm). A espuma foi umedecida diariamente para manter a turgidez dos discos foliares de algodão. Os discos foliares foram substituídos a cada 3 dias. As avaliações foram feitas a cada 12 horas. Em cada variedade foram quantificadas as durações e sobrevivência das fases de larva, protoninfa, deutoninfa e o período de larva à emergência dos adultos. Fêmeas foram mantidas nos respectivos algodoeiros e ovos (81 ovos e 61 ovos de fêmeas criadas na variedade Bollgard® e Acala, respectivamente) foram recolhidos durante o período de oviposição das fêmeas da geração F2 para a determinação da viabilidade de ovos.

O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado, com 83 e 79 repetições para o algodoeiro Bt e sua isolinha, respectivamente. O experimento foi conduzido em câmaras aclimatizadas do tipo B.O.D a  $25 \pm 2$  °C,  $60 \pm 5\%$  de umidade relativa (U.R.) e 12 horas de fotofase.

### **Análise estatística**

Para o tempo de desenvolvimento da fase imatura todos os ácaros, foi verificada a homocedasticidade da variância. Como as variâncias foram homogêneas, foi realizado o teste “t” pelo programa SAS for Windows 9.1 (2002-2003). O tempo de sobrevivência dos ácaros foi analisado pelo teste de análise de sobrevivência de Kaplan-Meier (KAPLAN; MEIER, 1958), através do programa SAS 9.1 (2003).



### **2.2.2.2 Avaliação dos efeitos diretos e indiretos do algodoeiro Bt (Bollgard®) sobre o ácaro predador *Neoseiulus californicus* alimentado com o ácaro fitófago *Tetranychus urticae*.**

#### **Cultivo das plantas de algodão**

As sementes do algodoeiro Bollgard® (Delta Pine 4049) que expressa o gene Cry1Ac e a isolinha não-transgênica (Delta Pine 404) foram semeadas em solo, em vasos de plástico preto (15 litros). Adubações foram realizadas na semeadura e em cobertura, conforme as recomendações para a cultura do algodão. Fez-se o desbaste de plantas, deixando-se duas plântulas/vaso. As plantas foram regadas duas vezes ao dia, durante todo o desenvolvimento das mesmas. Plantas com aproximadamente 100 dias foram utilizadas para a realização dos experimentos de biologia e capacidade predatória de *N. californicus*.

#### **Origem e criação de *T. urticae*.**

*Tetranychus urticae* foi obtido de plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.) mantidas no laboratório de Acarologia da ESALQ-USP. Cada unidade de criação de *T. urticae* foi constituída de uma placa tipo “Paviflex®” sobreposta em espuma de polietileno e mantida em caixas plásticas. Em cada unidade de criação foram colocadas folhas de algodoeiro com as extremidades dos pecíolos envoltas com algodão umedecido. Estas folhas foram colocadas sobre placa de Paviflex®, ficando a extremidade com algodão sobre a espuma umedecida. Após este processo, fêmeas adultas de *T. urticae* foram transferidas para iniciar a criação estoque de cada variedade de algodoeiro. Duas populações de *T. urticae* foram mantidas, uma permanentemente no algodoeiro Bollgard® e outra na isolinha. A cada três dias, novas folhas de algodoeiro foram colocadas sobre as folhas velhas. A criação de *T. urticae* foi mantida em condição ambiente e fotofase de 12 horas por várias gerações consecutivas, nas respectivas variedades de algodão.

### **Origem e criação de *N. californicus*.**

O ácaro predador *N. californicus* foi obtido no campus da ESALQ-USP. As unidades de criação e a metodologia foram as mesmas utilizadas para a criação de *T. urticae*. No entanto, para a criação de *N. californicus*, folhas de algodoeiro infestadas com *T. urticae* foram colocadas sobre a placa de “Paviflex<sup>®</sup>”. Cinquenta fêmeas adultas dos ácaros predadores foram transferidas para iniciar a criação estoque em cada variedade de algodoeiro. Duas populações de *N. californicus* foram criadas em laboratório, uma alimentada com todos os estágios de *T. urticae* em algodoeiro Bollgard<sup>®</sup> e a outra alimentada com *T. urticae* mantido na isolinha. A cada três dias, novas folhas de algodoeiro infestadas com todos os estágios do ácaro fitófago foram colocadas sobre as folhas velhas, para a alimentação de *N. californicus*. A criação foi mantida em condição ambiente e fotofase de 12 horas.

### **Biologia de *N. californicus*.**

Aproximadamente 100 fêmeas adultas de *N. californicus*, provenientes da criação foram colocadas para ovipositar por oito horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $60 \pm 5\%$  UR em folha de algodoeiro Bt e não-Bt (isolinha), em recipiente semelhante ao da criação. Cada ovo posto por *N. californicus* foi transferido para a unidade experimental. Esta foi constituída por uma arena de acrílico (2,6 cm de diâmetro e 1,0 cm de altura), fechada na extremidade por uma tampa de acrílico (própria do recipiente), contendo uma abertura no centro e coberta com malha de náilon (silk screen). Esta abertura foi colocada para possibilitar a aeração no interior da caixa de acrílico, diminuindo a umidade e evitando a condensação de água sem permitir a saída do ácaro (GONDIM JÚNIOR; MORAES, 2002). O fundo de cada caixa foi forrado com uma pequena quantidade de algodão hidrófilo umedecido até a saturação, no qual o disco foliar foi apoiado, formando um pequeno menisco de água entre o disco foliar e a parede de acrílico da unidade experimental, para evitar o caminhamento do ácaro predador nas paredes da arena. Diariamente, estágios imaturos de *T. urticae* foram colocados aos ácaros predadores, de maneira que sempre houvesse 15 ácaros fitófagos/disco foliar. Inicialmente, as unidades foram observadas a cada 12 horas, para determinar a sobrevivência e as durações de cada estágio imaturo (ovo, larva, protoninfa e deutoninfa). Após a emergência do adulto, as avaliações foram feitas a cada 24 horas. Os machos

continuaram individualizados para a determinação da longevidade. As fêmeas foram acasaladas com machos da criação e observadas diariamente para a determinação da fecundidade e longevidade. Os machos acasalados que morreram foram substituídos por outros da criação estoque. Para determinar a razão sexual da geração F1 de cada tratamento, todos os ovos foram agrupados diariamente em uma arena do mesmo tipo da anterior e os ácaros foram criados até a emergência dos adultos. As unidades experimentais foram mantidas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $60 \pm 5\%$  UR e 12 horas de fotofase. Os ácaros adultos foram montados em lâmina para microscopia em meio de Hoyer para determinação do sexo. O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado, com 26 e 27 repetições para o algodoeiro Bt e sua isolinha, respectivamente.

### **Capacidade predatória de *N. californicus*.**

O estudo foi conduzido em unidades experimentais (discos foliares) e condições ambientais iguais às utilizadas no experimento da biologia de *N. californicus*. As fêmeas do ácaro predador utilizadas foram retiradas das criações sem padronização de idade. A capacidade predatória de *N. californicus* foi avaliada em baixa densidade populacional da presa, composta por dez ácaros fitófagos imaturos criados nas variedades de algodoeiro Bt e isolinha para cada fêmea do ácaro predador, e em alta densidade populacional, onde foram fornecidos 30 ácaros fitófagos imaturos, criados nas referidas variedades de algodoeiro para cada fêmea do predador. A cada 24 horas foi avaliado o consumo alimentar, ou seja, o número de ácaros fitófagos predados, e o número de ovos colocados pelo ácaro predador. A cada 24 horas durante 10 dias, os predadores foram transferidos para novas arenas com a mesma quantidade inicial de presas. As unidades experimentais foram aclimatizadas nas mesmas condições apresentadas no experimento anterior. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, baixa e alta densidade populacional de *T. urticae*, criados em algodoeiro Bt e isolinha. Cada tratamento teve 15 repetições.

## **Análise estatística e tabela de vida e fertilidade**

Para o tempo de desenvolvimento da fase imatura, adulta e a reprodução de todos os ácaros predadores e a capacidade predatória de *N. californicus*, foi verificada a homocedasticidade da variância. Para as variâncias homogêneas foi realizado o teste t e para as variâncias heterocedásticas o teste de Wilcoxon, pelo programa SAS for Windows 9.1 (2002-2003). Também foi feita a tabela de vida e fertilidade (TBVF) para *N. californicus*, a partir do intervalo de idade, fertilidade específica e probabilidade de sobrevivência, calculados de acordo com Silveira Neto et al. (1976). Com os dados da TBVF foram calculados: taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ), capacidade inata de aumento em número ( $r_m$ ), razão finita de aumento ( $\lambda$ ) e intervalo de tempo entre cada geração (T), pelo método Jackknife (MAIA; LUIZ, 2006), também pelo programa SAS.

## **2.3 Resultados e Discussão**

### **2.3.1 Experimento em campo**

#### **2.3.1.1 Organismos de folhas**

##### **2.3.1.1.1 Resultados**

Os organismos mais abundantes encontrados nas folhas do algodoeiro Bt e não-Bt foram ácaros predadores da família Phytoseiidae, ácaros fitófagos das famílias Tarsonemidae e Tetranychidae, e os insetos pertencentes à ordem Thysanoptera (tripes), à superfamília Aphidoidea e à família Aleyrodidae (mosca-branca). Durante as avaliações foram coletados 18.142 destes artrópodes (15.624 nas folhas apicais e 2.518 nas medianas) no ano agrícola de 2005/2006, 9.397 (7.726 nas apicais e 1.671 nas medianas) em 2006/2007 e 14.398 (10.759 nas folhas apicais e 3.639 nas folhas medianas) em 2007/2008. Também foram coletados os ácaros da família Tydeidae e da ordem Astigmata (*Tyrophagos* spp.), cigarrinhas e percevejos (Hemiptera)

e aranhas, porém em baixas densidades, com populações variáveis entre os anos de estudo e por isso não foram considerados nas análises.

No ano agrícola de 2005/2006, em Leme-SP, a abundância dos ácaros predadores fitoseídeos foi muito baixa, considerando todas as parcelas e tratamentos, foram encontrados apenas 14 indivíduos em todo o ciclo da cultura. Em Piracicaba-SP, 473 e 820 ácaros da família Phytoseiidae foram coletados em 2006/2007 e 2007/2008, respectivamente.

As espécies de ácaros Phytoseiidae encontradas em Piracicaba-SP foram *Euseius concordis*, *Typhlodromalus aripo*, *Typhlodromips mangleae*, *Amblyseius tamatavensis*, *Neoseiulus californicus*, *N. linharis*, *Phytoseius* sp., *Proprioseiopsis* sp., *E. alatus*, *Metaseiulus* sp., *Iphiseoides* sp. e *Galendromus* sp., sendo que, 77% do número total de Phytoseiidae coletados em 2006/2007 foi de *E. concordis*, seguido por *T. aripo* (12%) e *T. mangleae* (7%). Em 2007/2008, 53% dos ácaros fitoseídeos coletados foi *E. concordis*, 32% foi *T. aripo* e 10% *T. mangleae*. Somente foram identificados os ácaros adultos.

Na maioria das amostragens foi observado que não houve diferenças significativas entre as populações de artrópodes do algodoeiro Bollgard® e da isolinha. Em algumas coletas, a abundância de ácaros foi diferente entre os tratamentos, em particular a abundância dos ácaros predadores fitoseídeos e fitófagos tetraniquídeos. Em quase todas as coletas em que houve diferença de Phytoseiidae entre os tratamentos, estes foram menos abundantes no algodoeiro Bollgard® do que na isolinha. Em 2005/2006, em Leme-SP, não houve diferença significativa entre o algodoeiro Bollgard® e as isolinhas para Phytoseiidae, com abundância total de 0, 0,7 e 2 ácaros predadores/parcela (20 folhas) no algodoeiro Bt, e isolinha I e II, respectivamente, nas folhas apicais (Tabela 3). Nas folhas medianas, a abundância total de ácaros predadores foi de 0,3, 1 e 0,7 ácaros predadores/parcela no algodoeiro Bt, e isolinha I e II, respectivamente (Tabela 4). No ano agrícola 2006/2007, nas folhas apicais, a abundância de Phytoseiidae no algodoeiro Bollgard® foi quase a metade do encontrado na sua isolinha aos 90 dias ( $P = 0,08$ ), e significativamente menor no algodão Bt aos 111 dias após o plantio (DAP) e no total acumulado ( $P < 0,05$ ) (Tabela 5). Nas folhas medianas foi observada menor abundância de Phytoseiidae no algodoeiro Bt apenas aos 123 DAP (Tabela 6) e diferenças marginalmente significativas aos 83 DAP e no total acumulado ( $P = 0,07$ ). Em 2007/2008, a diferença entre a densidade das populações de Phytoseiidae no algodoeiro Bollgard® e na isolinha foi marginalmente significativa aos 95 DAP ( $P = 0,058$ ), sendo encontrados 3,8 ácaros/parcela nas folhas apicais no

algodoeiro Bollgard® e 1,5 ácaros/parcela na isolinha (Tabela 7). Nas folhas medianas, as maiores diferenças entre os tratamentos ocorreram aos 130 DAP ( $P = 0,07$ ), 145 DAP ( $P < 0,05$ ) e no total acumulado ( $P < 0,05$ ) sendo a abundância de Phytoseiidae no algodoeiro Bollgard® menor do que na isolinha (Tabela 8).

Como houve diferença significativa para a família Phytoseiidae, foram analisadas as espécies de ácaros predadores predominantes, *E. concordis* e *T. aripo*, para verificar se houve alteração na abundância das mesmas. As análises foram feitas para 2006/2007 e 2007/2008. Nas folhas apicais de 2007/2008 foi observada diferença significativa entre as variedades para *E. concordis* aos 136 DAP ( $P = 0,002$ ) e houve uma diferença marginalmente significativa no total acumulado ( $P = 0,051$ ). Não ocorreu alteração na abundância de *T. aripo*, entre as variedades de algodoeiro, nos dois anos agrícolas.

A abundância de ácaros fitófagos da família Tetranychidae variou muito entre os anos agrícolas avaliados. Em quase todas as coletas em que houve diferença entre os tratamentos, Tetranychidae foi mais abundante no algodoeiro Bollgard® do que na isolinha. No geral, não houve diferença significativa entre os tratamentos tanto nas folhas apicais, como nas folhas medianas, no ano agrícola 2005/2006 (Tabela 3 e 4). Em 2006/2007, 94% dos ácaros tetraniquídeos pertenciam à espécie *M. planki*. Neste ano, houve maior abundância de Tetranychidae no algodoeiro Bollgard® comparado a isolinha, aos 76, 111, 127 DAP e no total acumulado de todas as coletas nas folhas apicais (Tabela 5). No entanto, nas folhas medianas as densidades populacionais destes ácaros foram muito menores e não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 6). Em 2007/2008, Tetranychidae (96% dos ácaros compostos por *M. planki*) foi mais abundante no algodoeiro Bollgard® em relação à isolinha, apenas aos 136 DAP, nas folhas apicais (Tabela 7). Nas folhas medianas, houve maior abundância de Tetranychidae no algodoeiro Bollgard® do que na isolinha, aos 103 dias e no total acumulado, mas por outro lado, aos 130 dias, a abundância de Tetranychidae foi maior na isolinha do que no algodoeiro Bollgard® (Tabela 8).

A abundância de Tarsonemidae também variou muito entre as coletas e entre os tratamentos no ano agrícola de 2005/2006. Nas folhas apicais, aos 55 DAP, esta família de ácaro fitófago apresentou maior abundância no algodoeiro Bt e na isolinha II, comparados à isolinha I. Aos 97 DAP, os tarsonemídeos foram mais abundantes na isolinha I do que nos demais tratamentos. Aos 117 DAP, a abundância de Tarsonemidae foi significativamente maior na

isolinha II, seguida por isolinha I, e nenhum ácaro foi encontrado no algodoeiro Bt. No total acumulado, a abundância destes ácaros foi menor no algodoeiro Bollgard® e na isolinha II, em relação à isolinha I (Tabela 3). Nas folhas medianas, aos 97 DAP e no total acumulado, houve menos Tarsonemidae no algodoeiro Bollgard® do que nas duas isolinhas (Tabela 4). Nas folhas apicais, em 2006/2007, em duas de cinco coletas e no total acumulado, Tarsonemidae foi mais abundante no algodoeiro Bt que na isolinha e o inverso foi observado na coleta feita 111 DAP (Tabela 5). Nas folhas medianas, aos 83 DAP houve mais Tarsonemidae no algodoeiro Bt (0,5 ácaros/parcela) que na isolinha (0,25 ácaros/parcela) (Tabela 6). No ano de 2007/2008 houve, no geral, menos Tarsonemidae nas folhas apicais do algodoeiro Bt do que nas da isolinha. Isso foi observado aos 95 e 153 DAP e no total acumulado (Tabela 7). Não houve diferença significativa entre os tratamentos nas folhas medianas (Tabela 8).

Com relação à mosca-branca (Aleyrodidae), houve diferença significativa entre os tratamentos somente no ano agrícola de 2005/2006. Nas folhas apicais, aos 39 DAP a abundância de mosca-branca foi maior e não diferiu entre o algodoeiro Bt e a isolinha II, mas a abundância deste inseto no algodoeiro Bt diferiu da isolinha I (Tabela 3). Aos 55 DAP, maiores abundâncias de mosca-branca foram encontradas nas isolinhas (I e II) do que no algodoeiro Bt. Aos 151 DAP, houve maior abundância de mosca-branca no algodoeiro Bt, não sendo a abundância deste maior do que a isolinha II, mas diferindo significativamente da isolinha I. No entanto, as duas isolinha não diferiram entre si. No total acumulado, houve maior abundância de mosca-branca na isolinha II (55 insetos/parcela), não sendo a abundância deste tratamento maior do que a isolinha I (50 insetos/parcela), mas diferindo significativamente do algodoeiro Bt (25 insetos/parcela). No entanto, a abundância de mosca-branca no algodoeiro Bt não diferiu da abundância deste inseto na isolinha I (Tabela 3). Nas folhas medianas, aos 97 DAP houve mais mosca-branca na isolinha II (10 insetos/parcela) do que no algodoeiro Bt (4 insetos/parcela) e na isolinha I (1,3 insetos/parcela). Aos 117 DAP, houve mais mosca-branca no algodoeiro Bt e na isolinha I, mas esta não diferiu da isolinha II. No total, mais mosca-branca foi coletada na isolinha II (12 insetos/parcela) e no algodoeiro Bt (9,7 insetos/parcela), mas este não diferiu da isolinha I (3,3 insetos/parcela) (Tabela 4). Nos demais anos agrícolas, a abundância de mosca-branca foi semelhante entre o algodoeiro Bollgard® e a isolinha, nas folhas apicais e medianas (Tabelas 5-8).

Nas folhas apicais de 2005/2006, aos 55 DAP, tripes (Thysanoptera) foi mais abundante no algodoeiro Bollgard® (46 tripes/parcela) e na isolinha II (20 tripes/parcela), no entanto, a isolinha II não diferiu significativamente da isolinha I (18 tripes/parcela). Aos 75 dias, a abundância de tripes foi maior na isolinha II (12 tripes/parcela) e no algodoeiro Bollgard® (11 tripes/parcela), no entanto, este não diferiu da isolinha I, que apresentou 5 tripes/parcela (Tabela 3). Não houve diferença significativa para a abundância de tripes nas folhas medianas em 2005/2006 (Tabela 4), bem como nas folhas apicais em 2006/2007 (Tabela 5). Porém, nas folhas medianas em 2006/2007, a abundância de tripes foi menor no algodoeiro Bt do que na isolinha aos 83 DAP e no total acumulado (12 tripes/parcela na isolinha e 9,3 tripes/parcela no algodoeiro Bt), mas foi maior no algodoeiro Bt aos 105 DAP (Tabela 6). Nas folhas apicais de 2007/2008, houve diferença significativa entre o algodoeiro Bt (110 tripes/parcela) e a isolinha (72 tripes/parcela) aos 153 DAP, mas não no acumulado total (Tabela 7). A abundância de Thysanoptera nas folhas medianas, em 2007/2008, foi maior no algodoeiro Bt aos 130 e 161 DAP, mas não diferiu no acumulado total (Tabela 8).

No ano agrícola 2005/2006, nas folhas apicais, aos 75 DAP houve menos pulgões no algodoeiro Bt e na isolinha I, mas esta não diferiu da isolinha II, que apresentou maior abundância de pulgões. Aos 117 DAP, nenhum pulgão foi encontrado no algodoeiro Bt, sendo esta diferença significativamente menor do que nas duas isolinhas. No entanto, aos 151 DAP, mais pulgões foram encontrados no algodoeiro Bollgard® comparado as duas isolinhas (Tabela 3). Entretanto, não houve diferença estatística ao considerar o acumulado total. Nas folhas medianas, houve diferença na coleta no final do ciclo da cultura, ou seja, aos 151 DAP. Nesta coleta foram encontrados 80 pulgões/parcela no algodoeiro Bt, que não diferiu estatisticamente da isolinha II (85 pulgões/parcela), mas diferiu da isolinha I (26 pulgões/parcela). No total, houve maior abundância de pulgões no algodoeiro Bt (158 pulgões/parcela), que não diferiu da isolinha II (131 pulgões/parcela), mas diferiu da isolinha I (80 pulgões/parcela), e esta não diferiu da isolinha II (Tabela 4). Nas folhas apicais de 2006/2007, houve mais pulgões no algodoeiro Bt do que na isolinha, aos 90 e 111 DAP e no total de todas as coletas. Nas folhas medianas houve mais pulgões no algodoeiro Bt do que na isolinha, aos 105 DAP (Tabelas 5-6). Em 2007/2008, nas folhas apicais, a maior abundância significativa de pulgões foi observada novamente no final do ciclo da cultura, aos 153 DAP, e no total de todas as coletas (Tabela 7). Nas folhas medianas, houve diferença estatística entre os tratamentos, sendo que, foram encontrados 44 pulgões/parcela



no algodoeiro Bt e 32 pulgões na isolinha, aos 103 DAP, e 63 pulgões/parcela e 50 pulgões/parcela ( $P = 0,062$ ) aos 145 DAP, e novamente o total das coletas foi significativo, resultando em 246 e 216 pulgões/parcela no algodoeiro Bt e na isolinha, respectivamente (Tabela 8).

Tabela 3 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas apicais, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso I e II), em campo experimental. Leme-SP, ano agrícola 2005/2006

Táxon	Trat.	Dias após a semeadura						
		39	55	75	97	117	151	Total
Acari								
Phytoseiidae	BT	0a <sup>1</sup>	0a	0a	0a	0a	0 (0-1,2)a	0 (0-1,2)a
	ISO I	0a	0a	0a	0a	0a	0,7 (0,1-2,2)a	0,7(0,1-2,2)a
	ISO II	0a	0,3(0-0,7)a	0a	0a	0a	1,7(0,8-3,6)a	2 (1,0-3,9)a
Tetranychidae	BT	0a	0a	0a	0(0-1,1)a	0(0-0,9)a	145(31-281)a	145(30-282)a
	ISO I	0a	0a	0a	2(1,2-3,8)a	0(0-0,9)a	350(82-745)a	352(81-751)a
	ISO II	0a	0a	0a	0(0-1,1)a	1,3(0,9-2,7)a	118(19-175)a	120(18-176)a
Tarsonemidae	BT	17(3-42)a	179 (77-287)a	231(182-513)a	425(373-483)b	0c	7(2,0-10,1)a	909(799-1060)b
	ISO I	11(1-18)a	20(10-39)b	350(263-738)a	916(800-1027)a	30(25-35)b	4,7(1,7-9,0)a	1367(1170-1550)a
	ISO II	8(0-15)a	149(54-200)a	206(169-477)a	489(423-548)b	57(51-65)a	5,3(1,7-9,0)a	940(794-1054)b
Insecta								
Aleyrodidae	BT	3,7(1,4-6,1)a	7,3(4,3-11)b	3,3(1,4-7,6)a	1,3(0,5-3,1)a	0a	2,7(2,5-3,7)a	25(16-34)b
	ISO I	0,7(0-1,3)b	31(20-40)a	1,3(0,4-3,6)a	0(0-1,1)a	0a	1(1,0-1,9)b	50(33-68)ab
	ISO II	3(1-5)ab	36(24-47)a	1,3(0,4-3,6)a	0,7(0,1-2,1)a	0a	1,7(1,6-2,6)ab	55(35-72)a
Thysanoptera	BT	2,7(2,4-6,5)a	46(28-56)a	11(10,7-21)ab	3,7(2,2-6,0)a	0b	58(51-65)a	136(114-157)a
	ISO I	1(1,7-5,2)a	18(12-26)b	5(4,7-11)b	4,3(2,7-6,9)a	16(12-20)a	50(44-58)a	101(83-117)a
	ISO II	2,3(1,7-5,2)a	20(13-28)ab	12(11,9-24)a	2,3(1,2-4,4)a	16(13-20)a	45(39-52)a	110(92-129)a
Aphidoidea	BT	0a	1,7(0,8-3,6)a	74(70-161)b	14(8-19)a	0b	210(70-253)a	300(152-449)a
	ISO I	0a	0,3(0-1,7)a	159(142-321)ab	6(3-9)a	38(32-44)a	35(24-88)b	238(127-374)a
	ISO II	0a	0,3(0-1,7)a	251(229-514)a	12(7-17)a	41(35-47)a	50(20-74)b	354(170-499)a

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em quatro replicações de 20 folhas; foram utilizadas 3 parcelas (repetições) por tratamento; os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%).

Tabela 4 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas medianas, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso I e II), em campo experimental. Leme-SP, ano agrícola 2005/2006

Táxon	Tratamento	Dias após a semeadura			Total
		97	117	151	
<b>Acari</b>					
Phytoseiidae	BT	0a <sup>1</sup>	0a	0,3 (0-1,7)a	0,3 (0-1,7)a
	ISO I	0a	0a	1 (0,3-2,7)a	1 (0,3-2,7)a
	ISO II	0a	0a	0,7(0,1-2,2)a	0,7(0,1-2,2)a
Tetranychidae	BT	0a	0a	28 (5,7-49)a	28 (5,7-49)a
	ISO I	0a	0a	34 (8,0-67)a	34 (8,0-67)a
	ISO II	0a	0a	87(18-145)a	87(18-145)a
Tarsonemidae	BT	46(31-63)b	0a	0a	46(31-63)b
	ISO I	120(83-162)a	0a	1,7 <sup>a</sup>	122(84-164)a
	ISO II	112(73-143)a	0a	0a	112(73-143)a
<b>Insecta</b>					
Aleyrodidae	BT	4(2,5-6,5)b	3(1,7-5,3)a	2,7(0-4,3)a	9,7(7,1-13)ab
	ISO I	1,3(0,6-3,1)b	0,7(0,1-2,2)ab	1,3(0-3,65)a	3,3(2,0-5,7)b
	ISO II	10(7,7-13,9)a	0(0-1,2)b	1,7(0-6,3)a	12(9,2-15,8)a
Thysanoptera	BT	1,3(0,6-3,1)a	0,3(0-1,69)a	2,7(1,5-4,9)a	4,3(2,8-6,9)a
	ISO I	1,3(0,6-3,1)a	0,3(0-1,69)a	2,3(1,2-4,4)a	4(2,5-6,5)a
	ISO II	1,7(0,8-3,6)a	0(0-1,16)a	5,7(3,8-8,5)a	7,3(5,2-11)a
Aphidoidea	BT	41(26-54)a	37(0-77)a	80(38-97)ab	158(109-225)a
	ISO I	24(14-30)a	30(0-70)a	26(15-42)b	80(46-97)b
	ISO II	46(35-70)a	0a	85(52-135)a	131(90-186)ab

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em quatro replicações de 20 folhas; foram utilizadas 3 parcelas (repetições) por tratamento os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%).

Tabela 5 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas apicais, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não- transgênico (Iso I), em campo experimental. Piracicaba-SP, ano agrícola 2006/2007

Táxon	Trat.	Dias após a coleta					Total
		53	76	90	111	127	
<b>Acari</b>							
Phytoseiidae	BT	0,8 (0-1,3) <sup>1</sup>	0,8(0,04-1,5)	2,8(1,4-4,1)*	7,5(5,3-9,8)**	6(5,3-6,7)	18(14-21)**
	ISO	0	0,5(0-1,1)	5,3(3,4-7,1)	13(9,8-16)	6,5(5,8-7,2)	25(21-29)
Tetranychidae	BT	7,3(4,9-10)	84(12-164)**	90(62-117)	104(91-121)**	52(46-58)**	336(303-377)**
	ISO	12(8,2-15)	14(1,4-25)	64(44-84)	59(48-67)	40(35-45)	188(165-208)
Tarsonemidae	BT	6,8(0-26)	587(551-682)**	28(23-31)**	0,3(0,16-0,34)**	0,5(0-1,1)	621(581-739)**
	ISO	24(0-40)	545(464-5755)	9,3(6,8-12)	2(1,75-2,25)	0,8(0,04-1,4)	581(483-615)
<b>Insecta</b>							
Aleyrodidae	BT	0	0	1(0,2-1,8)	1,5(0,5-2,5)	0,5(0-1,1)	3(1,6-4,4)
	ISO	0	0	1,3(0,3-2,2)	0,5(0-1,1)	2(0,84-3,2)	3,75(2,2-5,3)
Thysanoptera	BT	4,8(3-6,5)	32(27,4-36,6)	22(14-31)	3,3(1,8-4,7)	8(6,7-9,3)	69(59-80)
	ISO	5,5(3,6-7,4)	26(21,4-29,6)	21(12-26)	5,8(3,8-7,7)	7(5,8-8,2)	64(54-74)
Aphidoidea	BT	5,5(3,6-7,4)	1(0,2-1,8)	3,3(1,8-4,7)**	4(2,3-5,6)**	8(5,7-10)	15(12-18)**
	ISO	3(1,6-4,4)	0,3(0-0,7)	0,3(0-0,7)	1,5(0,5-2,5)	7(4,8-9,2)	6(4-8)

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em quatro replicações de 20 folhas; foram utilizadas 4 parcelas (repetições) por tratamento; os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%); \*\* P < 0,05; \* P = 0,08.

Tabela 6 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas medianas, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso), em campo experimental. Piracicaba-SP, ano agrícola 2006/2007

Organismo	Trat.	Dias após a semeadura				Total
		83	105	123	136	
<b>Acari</b>						
Phytoseiidae	BT	3,3(1,8-4,8) <sup>1*</sup>	9(5,7-12)	11(9-12)**	9,8(7,2-12)	33(27-39)*
	ISO	6(4-8)	11(6,6-14)	15(13-17)	11(8,5-14)	43(36-49)
Tetranychidae	BT	25(21-29)	35(28-44)	9,8(7,2 -12,3)	6,5(6,1-6,9)	76(69-84)
	ISO	29(25-34)	27(20-32)	12 (8,7- 14,3)	6(5,7-6,4)	74(66-81)
Tarsonemidae	BT	0,5(0,49-0,50)**	0	0	0	0,5(0,49-0,50)
	ISO	0,25(0,24-0,25)	0,25(0,24-0,25)	0	0	0,5(0,49-0,50)
<b>Insecta</b>						
Aleyrodidae	BT	8,3(5,9 -11)	5,5(2,3-8,7)	0,8(0,04-1,4)	1,5(0,5-2,5)	16(12-20)
	ISO	8,8( 6,32- 11)	2(0,5-3,5)	1,5(0,5-2,5)	2(0,8-3,2)	14(11-18)
Thysanoptera	BT	3,5 (2-5)**	3,5(2-5)**	0,3(0,3-2,2)	2(0,7-3,4)	9,3(8,6-9,9)**
	ISO	7,5(5,3- 9,8)	1(0,2-1,8)	1,5(1,4-4,1)	2(0,7-3,3)	12(11-13)
Aphidoidea	BT	38(33-45)	13(10-16)**	13(8,1-24)	7,5(3,2-16)	72(60-90)
	ISO	31(26-36)	6,3(4,2-8,3)	17(7,1-21)	14(4-19)	69(53-78)

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em quatro replicações de 20 folhas; foram utilizadas 4 parcelas (repetições) por tratamento; os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%); \*\* P < 0,05; \* P = 0,07.

Tabela 7 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas apicais, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso), em campo experimental. Piracicaba-SP, ano agrícola 2007/2008

Organismo	Trat.	Dias após a semeadura						Total
		53	79	95	120	136	153	
<b>Acari</b>								
Phytoseiidae	BT	0,3(0,2-0,3) <sup>1</sup>	0,8(0,04-1,5)	3,8(2,2-5,3)*	8,3(5,9-10,6)	20(18-21,86)	20(16-25)	53(42-59)
	ISO	0	0,5(0-1,1)	1,5(0,5-2,5)	10(7,4-12,6)	24(21,97-26)	16(12-19)	52(46-58)
Tetranychidae	BT	0,5(0-1,1)	2,3(1,0-3,5)	2	1,8(0,7-2,8)	4(2,4-5,6)**	4,8(2,1-8,0)	15(12-18)
	ISO	0,3(0-0,7)	2,3(1,2-3,8)	3,8	1,3(0,3-2,2)	1,5(0,5-2,5)	3,8(1,3-5,8)	13(10-16)
Tarsonemidae	BT	0	116(43-189)	392(312-430)**	126(111-141)	117(81-153)	19(7,8-26)**	770(638-893)**
	ISO	0,8	157(59-255)	491(434-602)	236(211-263)	171(119-222)	59(34-103)	1115(936-1307)
<b>Insecta</b>								
Aleyrodidae	BT	0	1(0,2-1,8)	0,3(0-0,7)	0	0,25(0,-0,25)	0	1,5(0,5-2,5)
	ISO	0	0,8(0,04-1,5)	0,5(0-1,1)	0	0	0	1,3(0,3-2,2)
Thysanoptera	BT	1,3(0,3-2,2)	8(5,2-11)	34(24-45)	39(31-47)	52(39-69)	110(83-130)**	244(197-301)
	ISO	1,5(0,5-2,5)	4,8(2,8-6,8)	28(19-36)	28(22-34)	82(57-100)	72(57-91)	216 (167-256)
Aphidoidea	BT	4,3(2,6-5,9)	1,5(0,5-2,5)	7,5(5,3-9,8)	6,3(3,2-8,9)	19(15-23)	82(66-100)**	120(111-129)**
	ISO	6(4-8)	1,3(0,3-2,2)	5,3(3,4-7)	3,5(1,6-5,6)	20(16-23)	53 (41-64)	89(81-97)

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em quatro replicações de 20 folhas; foram utilizadas 4 parcelas (repetições) por tratamento; os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%); \*\* P < 0,05; \* P = 0,058.

Tabela 8 - Artrópodes não-alvo coletados em folhas medianas, durante o desenvolvimento do algodoeiro transgênico Bollgard® (Bt) e não-transgênico (Iso), em campo experimental. Piracicaba-SP, ano agrícola 2007/2008

Organismo	Trat.	Dias após a semeadura					Total
		85	103	130	145	161	
<b>Acari</b>							
Phytoseiidae	BT	0,3(0-0,7) <sup>1</sup>	6(4,0-8,0)	18(14-21)*	3,3(1,8-4,7)**	16,5(13,2-19,8)	44(38-49)**
	ISO	0,3(0-0,7)	6(4,0-8,0)	23(19-27)	11(8,3-13)	16(12,7-19,3)	57(50-63)
Tetranychidae	BT	2(0,3-3,5)	11(7,8-13,2)**	4,8(2,9-6,5)**	3,3(1,8-4,7)	4,8(1,2-8,4)	25(21-29)**
	ISO	2,5(0,5-4,8)	2(0,8-3,2)	8,8(6,3-11)	1,5(0,5-2,5)	3,5(0,8-6,2)	18(15-22)
Tarsonemidae	BT	1,8	1,5(0,5-2,5)	0	0	0,5	3,8(2,2-5,3)
	ISO	0	1,8(0,7-2,8)	0	0	0	1,8(0,7-2,8)
<b>Insecta</b>							
Aleyrodidae	BT	11(3,5-18)	8(4,7-12)	1(0,2-1,8)	0,8(0,04-1,5)	1,5	23(19-26)
	ISO	10(3,3-17)	5,5(2,9-7,9)	0,8(0,04-1,5)	0,8(0,04-1,5)	0	17(14-20)
Thysanoptera	BT	19(14-23)	49(42-54)	15(12-18)**	25(15-32)	29(25-34)**	137(123-151)
	ISO	22(17-28)	57(50-63)	8,8(6,3-11)	14(9,1-21)	22(18-26)	123(110-136)
Aphidoidea	BT	11(6,7-14)	44(36-52)**	55(43-69)	63(54-70)*	73(49-100)	246(229-267)**
	ISO	11(7,2-14)	32(25-38)	44(33-54)	50(44-57)	80(52-106)	216(200-231)

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em quatro replicações de 20 folhas; foram utilizadas 4 parcelas (repetições) por tratamento; os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%); \*\* P < 0,05; \* P ≤ 0,07.

### 2.3.1.1.2 Discussão

A maior quantidade e diversidade de ácaros predadores nos experimentos de Piracicaba-SP em comparação com o de Leme-SP deve-se, possivelmente, a menor quantidade de agrotóxicos utilizada neste sistema de cultivo. Abamectin Nortox foi aplicado cinco vezes em 2005/2006 e este produto é extremamente eficiente para o controle de ácaros. As baixas densidades de Tetranychidae devem também ter contribuído para as reduzidas populações de fitoseídeos.

É reconhecido o efeito deletério de pesticidas utilizados para o controle de insetos pragas ou doenças de importância agrícola em populações de ácaros predadores. Sato et al. (2002) verificaram que a abamectina foi significativamente prejudicial ao ácaro predador *N. californicus*, em morangueiro, causando mortalidades iniciais entre 37,5% e 57,5%.

Em agroecossistemas que utilizam menos agrotóxicos observa-se maior quantidade de inimigos naturais. Neste sentido, maior abundância de inimigos naturais foi encontrada em campos com algodoeiro Bt devido à menor quantidade de aplicação de inseticidas nestes campos comparados às áreas com algodoeiro cultivado no sistema convencional (HEAD et al., 2005).

O conhecimento das espécies que ocorrem numa determinada cultura é importante para os estudos de análise de risco de plantas geneticamente modificadas, pois durante o processo de seleção das espécies não-alvo a serem avaliadas, busca-se na literatura, aquelas que são associadas à cultura. Entretanto, os poucos estudos sobre as espécies de ácaros predadores associados à cultura do algodoeiro foram conduzidos há mais de 30 anos (CHIAVEGATO, 1975; MORAES; McMURTRY, 1983). Chiavegato (1975) encontrou maior abundância de *Galendromus (Galendromus) annectens* e *Neoseiulus anonymus* em campos experimentais de algodão, também no estado de São Paulo, de 1967 a 1970, diferenciando da espécie mais encontrada em Piracicaba-SP, que foi *E. concordis* (aproximadamente 80% em 2006/2007 e 53% em 2007/2008). Moraes e McMurtry (1983) relataram somente a ocorrência de ácaros predadores no Nordeste do Brasil e em algodoeiro foi observada a presença de *N. idaeus*, *T. aripo*, *E. citrifolius*, *E. concordis* e *Phytoseius guianensis*. Em Piracicaba – SP nos dois anos agrícolas foram encontradas 13 espécies de ácaros fitoseídeos sendo a espécie *E. concordis* a mais abundante. Este ácaro prefere se alimentar de pólen, mas é também predador de ácaros fitófagos. Em testes realizados no laboratório (dados não apresentados) *E. concordis* não se alimentou de



pólen do algodão mais consumiu néctar extra-floral desta planta. Devido à exposição direta e indireta em algodoeiro este predador deve ser considerado uma espécie indicadora nas matrizes de seleção de organismos não-alvo a serem avaliadas em futuras análises de risco de plantas geneticamente modificadas.

No primeiro ano agrícola deste experimento as populações de Tetranychidae e Phytoseiidae foram muito baixas e as densidades populacionais destes organismos não variaram entre os diferentes tratamentos. No entanto, houve diferença entre o algodoeiro Bollgard® e a isolinha para essas duas famílias de ácaros nos dois anos subseqüentes. Entretanto, em algumas amostragens e no acumulado total dos ácaros destas famílias, nas folhas apicais de 2006/2007 e nas folhas medianas de 2007/2008, observou-se uma relação inversa da abundância dessas populações, ou seja, quando a abundância de Tetranychidae foi alta no algodão Bt a de Phytoseiidae estava baixa. Isto poderia indicar um efeito negativo do algodão Bt sobre a comunidade de ácaros predadores ou uma variação natural da dinâmica da relação entre presa e predador. Isto também poderia ser considerado quando se relaciona Tarsonemidae com Phytoseiidae, pois em coletas em que Phytoseiidae foi menos abundante no algodoeiro Bt ocorreu maior abundância de Tarsonemidae. O principal ácaro predador coletado, *E. concordis* possui uma alimentação variada, incluindo outros ácaros como Tetranychidae e Tarsonemidae e Eriophyidae (McMURTRY; CROFT, 1997).

Embora tenham sido observadas variações nas densidades populacionais de predadores em dois anos consecutivos, estas variações ocorreram apenas em algumas datas e não em todos os estratos da planta. Quando foram realizadas análises das duas espécies mais abundantes, *E. concordis* e *T. aripo*, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas coletas onde as populações de ácaros fitoseídeos foram significativamente diferentes. Isto indica que as alterações nas densidades populacionais ocorrem com as outras espécies presentes.

A maior abundância de pulgões no algodoeiro Bt pode estar relacionada à diferença da quantidade de aminoácidos entre a isolinha e o algodão geneticamente modificado na seiva do floema. Estudos conduzidos por Faria et al. (2007) revelaram maiores densidades populacionais do pulgão *Rhopalosiphum maidis* no milho Bt do que na isolinha, e isto foi atribuído parcialmente a maior concentração de determinados aminoácidos encontrada nesta variedade.

Não está bem determinado o nível de expressão desta toxina no floema do algodoeiro Bollgard® (SUJII et al., 2006), mas isto já foi determinado para outras variedades de algodão Bt

expressando a toxina Cry1Ac (ZHANG et al., 2004). Resultados contraditórios têm sido relatados a respeito dos efeitos das plantas geneticamente modificadas sobre pulgões. Estudos realizados em laboratório, por exemplo, mostraram que pulgões alimentados por três gerações em algodoeiro Bt apresentaram maiores taxas de sobrevivência e maior capacidade reprodutiva em comparação com os pulgões alimentados em algodoeiro não-Bt, o que poderia alterar a dinâmica populacional da espécie (LIU et al., 2005). Já Sujii et al. (2008) observaram que o algodoeiro Bt DP 404 BG não afetou a dinâmica populacional de *Aphis gossypii* em casa-de-vegetação.

Outra possibilidade para o aumento significativo de pulgões no algodoeiro Bt pode estar relacionada à abundância de Coccinellidae. Os insetos dessa família são predadores e consomem pulgões, cochonilhas e mosca-branca, que se alimentam no algodão Bt e poderiam constituir uma forma de exposição do referido predador às toxinas Cry, o que levaria a uma redução de sua população e conseqüentemente aumentaria a abundância de pulgões no Bt. Além disso, estes insetos podem consumir pólen e néctar, o que constitui outra forma de exposição à toxina Cry1Ac. No entanto, estes predadores não foram quantificados nas áreas experimentais, mas em Piracicaba foi verificada a presença do mesmo em quantidades consideráveis. Neste caso, mais pesquisas são necessárias para verificar se ocorrem efeitos adversos do algodão Bt sobre Coccinellidae, e conseqüentemente, interferência na população de pulgões (FARIA et al., 2006).

O aumento da abundância de pulgões em cultivos com plantas geneticamente modificadas deve ser monitorado, pois esse aumento pode fazer com que seja necessária a intervenção com inseticidas, no caso deste inseto alcançar o nível de dano econômico. Mudanças das interações ecológicas no agroecossistema ou efeitos pleiotrópicos, podem tornar os pulgões pragas importantes da cultura e representar um fator de biossegurança a ser analisado (SUJII et al., 2006). Por outro lado, pode haver um aumento na quantidade de produção de “honeydew” e conseqüentemente, beneficiar os inimigos naturais, pois com maior número de pulgões em milho Bt houve maior produção de “honeydew”, o que favoreceu a longevidade e taxa de parasitismo de *Cotesia marginiventris* (FARIA et al., 2007).

### 2.3.1.2 Organismos da superfície do solo

#### 2.3.1.2.1 Resultados

Em dois anos agrícolas, foram coletados 27.420 organismos da superfície do solo (11.033 em 2006/2007 e 16.387 em 2007/2008). Os organismos da superfície do solo capturados no algodoeiro Bt e não-Bt em 2006/2007 e 2007/2008, considerados nas análises, foram ácaros das ordens Oribatida, Mesostigmata, Prostigmata e Astigmata, os artrópodes da ordem Collembola, e os insetos da ordem Coleoptera e da família Formicidae.

Inicialmente, foi proposta a identificação de Coleoptera, no entanto, grande diversidade foi encontrada logo nas primeiras coletas, sendo identificadas as seguintes espécies: *Arthrostictus cupripennis*, *A. sulcatulus* e *Arthrostictus* sp., *Galerita bruchi*, *Clivia* sp., *Notiobia* sp.1, *Notiobia* sp.2, *Notiobia* sp.3, *Ataenius* sp., *Scarithodes* sp., *Selenophorus* sp.1 e *Selenophorus* sp.2, *Colopterus* sp., *Anaedeus* sp., *Odontochila nodicornis*, *O. cupricollis* e *Aphodius* sp. Por causa da diversidade desta ordem, os dados por espécie não foram considerados nas análises. Também foram coletados os besouros de Scarabeidae, Tenebrionidae, Bostrychidae e Aphodiinae, e outros artrópodes como Opiliones, Diplopoda, Orthoptera (grilo e gafanhoto), Mutilidae (Hymenoptera) e Aranae, que não foram considerados nas análises devido ao baixo número de organismos encontrados.

O grupo mais abundante de organismos da superfície do solo foi Collembola, correspondendo a 67% e 47% de todos os organismos capturados, respectivamente, em 2006/2007 e 2007/2008, e nos dois anos deste experimento, mais de 98% destes organismos pertenciam à ordem Entomobryomorpha e menos de 2% à ordem Symphypleona. Foram encontrados os seguintes gêneros/espécies de Collembola: *Denisiella* sp., *Setogaster* sp., *Lepidocyrtus* sp., *Seira* sp., *Lanocyrtus* sp., *Lepidonella* sp., *Salina* sp., *Proisotoma tenella*, *Arlesia* sp. e *Folsomides parvulus*. As comparações entre os tratamentos foram feitas com a soma de todas as espécies de Collembola.

Poucas diferenças entre o algodoeiro Bollgard® e sua isolinha foram encontradas em Collembola. Das 14 amostragens realizadas nos dois anos agrícolas, somente em duas coletas foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Foi verificada menor abundância de Collembola no algodoeiro Bt aos 119 DAP e 135 DAP, somente em 2006/2007 (Tabela 9).

Porém, não houve diferença significativa no total de 2006/2007 e em nenhuma coleta de 2007/2008 (Tabela 10).

Além disso, poucas diferenças significativas foram encontradas entre os dois tratamentos para os ácaros. Considerando os ácaros de todas as ordens (Acari total), foi observada diferença significativa somente em uma coleta, de 14 amostragens. Aos 135 DAP, foram encontrados somente 3 ácaros/parcela nas áreas de algodoeiro Bt enquanto na isolinha foram coletados 39 ácaros/parcela (Tabela 9). Não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos na análise da soma de ácaros de todas as coletas de 2006/2007 (Tabela 9) e de 2007/2008 (Tabela 10). Para Oribatida (total), em 2006/2007 não houve diferença entre os tratamentos. Em 2007/2008, embora aos 194 DAP estes organismos tenham sido mais abundantes na isolinha do que no algodoeiro Bt, no total de todas as coletas não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 10). Com relação à Mesostigmata, foram capturados cinco vezes mais ácaros na isolinha do que no algodoeiro Bt (2,5 ácaros/parcela e 0,5 ácaro/parcela, respectivamente), aos 73 DAP. Nas parcelas com a isolinha encontrou-se uma diferença marginal entre os tratamentos, encontrando-se menos Mesostigmata no algodoeiro Bt aos 135 DAP. A quantidade total de Mesostigmata coletada também foi significativamente diferente neste ano agrícola. Nas parcelas com isolinha foram de 42 ácaros/parcela e 30 ácaros/parcela no algodoeiro Bt (Tabela 9). Já em 2007/2008, Mesostigmata foi mais abundante nas parcelas com o algodoeiro Bollgard®, aos 146 e 179 DAP (Tabela 10). O número total de Mesostigmata coletado durante todo este ano não diferiu entre os tratamentos. Em 2006/2007, diferença significativa na abundância de Prostigmata foi observada aos 94 DAP, encontrando-se mais destes ácaros no algodoeiro Bollgard® do que na isolinha (Tabela 9). Em 2007/2008, houve diferença na abundância de Prostigmata entre os tratamentos somente aos 107 DAP (Tabela 10). Já para Astigmata, houve maior abundância no algodoeiro Bt (10 ácaros/parcela) do que na isolinha (0,8 ácaro/parcela) aos 94 DAP e menor abundância no algodoeiro Bt do que na isolinha aos 135 DAP, em 2006/2007 (Tabela 9). Em 2007/2008, diferenças significativas entre os tratamentos ocorreram aos 107 DAP (0,3 ácaros/parcela no algodoeiro Bt e 2,5 ácaros/parcela na isolinha) e 146 DAP (0,5 ácaro/parcela no algodoeiro Bt e 2,5 ácaros/parcela na isolinha) em 2007/2008 (Tabela 10).

Em Formicidae, somente foram observadas diferenças marginalmente significativas aos 209 DAP ( $P = 0,078$ ) e no total acumulado ( $P = 0,051$ ) de 2007/2008 (Tabela 10).

Em Coleoptera (adultos), a diferença entre os tratamentos foi significativa apenas aos 150 DAP, havendo menos besouros no algodoeiro Bollgard® (2,3 besouros/parcela) do que na isolinha (4,3 besouros/parcela), em 2006/2007. Em 2007/2008, aos 179 DAP, 35 besouros adultos/parcela foram encontrados no algodoeiro Bt e 19 besouros adultos/parcela na isolinha. Já na coleta posterior (194 DAP) houve uma queda na abundância e inversão nestes valores, e foram capturados 2,3 besouros/parcela no algodoeiro Bt e 5,8 besouros/parcela na isolinha. Nos besouros imaturos também houve diferença significativa em 2006/2007, aos 135 DAP e no total, havendo menos besouros imaturos no algodoeiro Bt (33 besouros/parcela) do que na isolinha (108 besouros/parcela). Porém, não houve diferença entre os tratamentos na abundância destes artrópodes, em 2007/2008 (Tabelas 9 e 10).

Membros da família Nitidulidae de Coleoptera foram coletados entre os 94 e 135 DAP, em 2006/2007 e em todas as coletas de 2007/2008. No primeiro ano deste experimento não houve diferença significativa entre os tratamentos para estes besouros. Em 2007/2008, houve mais nitidulídeos no algodoeiro Bt (22 besouros/parcela) do que na isolinha (9,5 besouros/parcela) somente aos 179 DAP (Tabelas 9 e 10). Outra família de Coleoptera coletada foi Carabidae, e não houve interferência das variedades de algodão sobre a abundância desta em ambos os anos agrícolas (Tabelas 9 e 10). Em 2007/2008, apareceram duas outras famílias de Coleoptera, que foram Staphylinidae e Mycetophagidae. Em Staphylinidae foi observada diferença significativa entre os tratamentos aos 179 DAP (Tabela 10). Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos na família Mycetophagidae (Tabela 10).

Tabela 9 - Artrópodes não-alvo coletados em armadilhas de queda (“pitfall traps”), durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2006/2007

(continua)

Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura							Total
		73	80	94	102	119	135	150	
Collembola	BT	282 (221-349)	361 (326-399)	72 (55-100)	56 (50-67)	23** (19-26,7)	70** (62,7-76,3)	33* (15,30-39,35)	897 (827-967)
	ISO	315 (242-383)	337 (301-370)	86 (56,8-103)	53 (42-64)	32 (27,4-37)	83 (75,1-90,0)	43 (31,15-77,38)	949 (875-1022)
Acari									
Acari (total)	BT	10 (6-14)	16 (11-21)	38* (24-49)	34 (22-44)	5,8 (3,8-7,7)	3** (0,9-9,2)	23 (14-29)	130 (96-171)
	ISO	8,5 (5-12)	13 (9,2-17)	20 (13-28)	32 (22-43)	7,5 (5,3-9,8)	39 (6,9-48)	17 (12-25)	137 (96-171)
Oribatida	BT	1	4,5 (1,0-7,4)	10 (3,1-16)	11 (5,1-16)	0,5 (0-1,1)	0	0,3 (0,05-0,5)	28 (12-38)
	ISO	0	4 (1,1-7,4)	7,8 (2,7-14)	14 (7,3-22)	1 (0,2-1,8)	1	0,5 (0,2-0,8)	28 (15-48)
Mesostigmata	BT	0,5** (0-1,1)	2,3 (1,0-3,5)	4,5 (2,8-6,2)	6,5 (4,4-8,6)	4,3 (2,6-5,9)	2* (0,8-3,2)	9,5 (6,9-12)	30** (29-30)
	ISO	2,5 (1,2-3,8)	2 (0,8-3,2)	6,8 (4,6-8,9)	9,8 (7,2-12)	5,3 (3,4-7,1)	4,3 (2,6-5,9)	11 (8,5-14)	42 (41-43)
Prostigmata	BT	4,8 (3,4-6,1)	6,3 (4,2-8,3)	13** (6,1-17)	15 (6,6-25)	0,5 (0-1,1)	0,8 (0-14)	2,3 (1,0-3,5)	42 (33-65)
	ISO	4,3 (2,9-5,5)	6,8 (4,6-8,9)	4,3 (2,1-7,3)	8,3 (3,0-13)	0,5 (0-1,1)	30 (0-49)	3,5 (2,0-5,0)	58 (34-68)

Tabela 9 - Artrópodes não-alvo coletados em armadilhas de queda (“pitfall traps”), durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2006/2007

		(continuação)							
Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura							Total
		73	80	94	102	119	135	150	
Astigmata	BT	3,8 (2,6-5,9)	1,5	10** (1,0-15)	0	0,5 (0-1,1)	0,3** (0-0,7)	10 (0-16)	27 (10-33)
	ISO	1,5 (0,8-3,2)	0	0,8 (0,02-3,8)	0,25 (0,24-0,25)	1 (0,04-1,4)	3,3 (1,8-4,7)	2 (0-12)	8,5 (5,1-17)
Insecta									
Formicidae	BT	40 (27-60)	13 (8,3-20)	13 (7,7-22)	26 (18-48)	12 (7,9-18)	22 (16-42)	31 (18-47)	158 (130-234)
	ISO	75 (44-95)	20 (11-26)	30 (14-39)	40 (18-48)	22 (14-28)	52 (23-61)	53 (28-71)	291 (184-330)
Coleoptera									
Coleoptera (adultos)	BT	2,5 (1,2-3,8)	1,5 (0,5-2,5)	1,3 (0,3-2,2)	5,5 (3,6-7,4)	1,5 (0,5-2,5)	2,3 (1,0-3,5)	2,3** (1,67-2,83)	16 (14-21)
	ISO	4,5 (2,8-6,2)	1,5 (0,5-2,5)	2,8 (1,4-4,1)	7 (4,8-9,2)	2,8 (1,4-4,1)	2,5 (1,2-3,0)	4,3 (3,45-5,05)	25 (20-28)
Coleoptera (imaturos)	BT	0	0	0,5* (0,3-0,7)	4,3 (0-37,23)	4,3 (0,8-15)	4,5** (2,8-6,4)	19 (7,8-25)	33** (26-48)
	ISO	0	2,3	1,3 (0,9-1,6)	76 (0-94,97)	7,8 (0,4-10,2)	9,5 (7,0-12,0)	11 (6,0-20)	108 (70-121)
Nitidulidae	BT	0	0	0	3,8 (2,2-5,3)	1 (0,2-1,8)	0,5 (0-1,1)	0	5,3 (3,4-7,1)
	ISO	0	0	1	5,8 (3,8-7,7)	1 (0,2-1,8)	0,3 (0-0,7)	0	7,1 (5,7-10)

Tabela 9 - Artrópodes não-alvo coletados em armadilhas de queda (“pitfall traps”), durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2006/2007

		Dias após a semeadura							(conclusão)
Artrópode	Trat.	73	80	94	102	119	135	150	Total
Carabidae	BT	0	0	0,3 (0,045-0,5)	0,5	0	0	0	0,8 (0,04-1,5)
	ISO	0,8	0	0,5 (0,2-0,8)	0	0,5	0	0	2 (0,7-2,8)

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em 5 armadilhas por parcela; foram utilizadas 4 parcelas (repetições) por tratamento. Os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%); \*\* P < 0,05; \* P ≥ 0,05 e ≤ 0,078.



Tabela 10 – Artrópodes não-alvo coletados em armadilhas de queda (“pitfall traps”), durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Isso), em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2007/2008

		Dias após a semeadura							(continua)
Artrópode	Trat.	107	130	146	165	179	194	209	Total
Collembola	BT	117 (80-159)	85 (78-93)	58 (52-64)	117 (92-133)	188 (170-211)	113 (99-128)	236 (212-265)	914 (814-1010)
	ISO	142 (93-183)	93 (85-101)	54 (48-60)	123 (105-151)	173 (152-190)	103 (89-115)	280 (248-307)	967 (864-1072)
Acari									
Acari (total)	BT	32* (26-44)	11 (8,5-14)	36 (23-42)	42 (27-60)	59 (43-82)	61 (51-74)	271 (228-298)	513 (425-575)
	ISO	54 (39-62)	15 (11-18)	28 (22-39)	70 (43-94)	65 (42-81)	57 (45-66)	262 (235-307)	551 (481-650)
Oribatida	BT	4,3 (3,2-5,3)	5,5 (3,6-7,4)	4,5 (1,7-6,2)	1* (0,2-1,8)	8 (3,7-12)	4** (3,4-4,7)	2 (0,8-3,2)	29 (21-37)
	ISO	3,8 (2,8-4,7)	7 (4,8-9,2)	4,3 (2,3-7,5)	3 (1,6-4,4)	6,8 (3,1-11)	7,5 (6,6-8,4)	4 (2,4-5,6)	36 (26-46)
Mesostigmata	BT	4,5 (2,8-6,2)	2,3 (1,0-3,5)	22** (15,3-26)	17 (13-20)	21** (18-25)	17* (13-20)	70* (61-84)	153 (143-163)
	ISO	3,3 (1,8-4,7)	2,8 (1,4-4,1)	11 (7,6-14,5)	20 (16-23)	12 (8,9-14)	12 (8,7-14)	96 (79-108)	155 (145-165)
Prostigmata	BT	23** (13-33)	3,5 (2,0-5,0)	8 (5,7-10,3)	24 (14,1-32,0)	27 (16,7-41,2)	39 (32,8-45,9)	194 (128-225)	319 (230-375)
	ISO	54 (39-69)	4,8 (3,0-6,5)	8,3 (5,9-10,6)	23,8 (15,4-34,7)	48 (26,5-63,8)	36 (29,8-42,1)	163 (130-230)	337 (271-441)

Tabela 10 – Artrópodes não-alvo coletados em armadilhas de queda (“pitfall traps”), durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Isso), em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2007/2008

		(continuação)							
		Dias após a semeadura							
Artrópode	Trat.	107	130	146	165	179	194	209	Total
Astigmata	BT	0,3** (0-0,7)	0	0,5** (0-1,1)	0	3* (1,6-4,4)	1,5 (0-3,6)	5,8 (1,3-10, 8)	11 (4,8-16)
	ISO	2,5 (1,2-3,8)	0	2,5 (1,2-3,8)	1	1 (0,2-1,8)	1,5 (0-2,9)	2,5 (0,3-4,5)	11 (5,6-18)
Insecta									
Formicidae	BT	27 (23-31)	46 (40-51)	54 (33-65)	58 (49-67)	50 (37-63)	42 (30-58)	105* (73-123)	381* (312-435)
	ISO	29 (25-33)	54 (48-60)	32 (23-47)	52 (43-60)	38,5 (28-49)	31 (20-39)	63 (50-85)	298 (253-355)
Coleoptera:									
Coleoptera (adultos)	BT	9,3 (5,1-14)	3 (1,6-4,4)	35 (30-39)	38 (33-43)	35** (30-40)	2,3** (1,8-2,7)	11 (8,1-13,4)	133 (114-147)
	ISO	7,3 (3,6-10)	5,5 (3,6-7,4)	36 (31-41)	35 (30-40)	19 (15-22)	5,8 (5,1-6,4)	10 (7,6-13)	119 (105-136)
Coleoptera (imaturos)	BT	2 (0,6-3,8)	2,5 (1,2-3,8)	1,5 (0,7-2,3)	0	3,8 (2,2-5,3)	4,3 (2,6-5,9)	7,3 (5,0-9,5)	21,25 (19-24)
	ISO	1,8 (0,8-4,5)	2 (0,8-3,2)	2,5 (1,5-3,5)	0	2,5 (1,2-3,8)	3 (1,6-4,4)	4,75 (3,0-6,5)	16,5 (14-19)
Nitidulidae	BT	4,5 (0-7,1)	0	23 (18,6-26,4)	26 (21,4-29,6)	22** (17,9-25,6)	0	4,5* (3,9-5,1)	79 (62,3-89,9)
	ISO	1,5 (0-5,6)	0,5 (0,49-0,5)	22,3 (18,4-26,1)	22,3 (18,4-26,1)	9,5 (7,0-12,0)	1	3 (2,5-3,5)	60 (50,6-73,8)

Tabela 10 – Artrópodes não-alvo coletados em armadilhas de queda (“pitfall traps”), durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Isso), em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2007/2008

		Dias após a semeadura							(conclusão)	
Artrópode	Trat.	107	130	146	165	179	194	209	Total	
Carabidae	BT	1,3 (0,3-2,2)	0,5	0	0	0	0	0,25 (0,24-0,25)	2 (0,8-3,2)	
	ISO	1,8 (0,7-2,8)	0	0,25 (0,24-0,25)	0,25 (0,24-0,25)	0	0	0	2,3 (1,0-3,5)	
Staphylinidae	BT	0,8 (0,04-1,5)	1,3 (0,3-2,2)	3,8 (2,2-5,3)	5,5 (3,6-7,4)	2,8** (1,4-4,1)	0,3 (0-0,6)	2,8 (1,4-4,1)	17 (14-20)	
	ISO	1,5 (0,5-2,5)	1,5 (0,5-2,5)	3,8 (2,2-5,3)	4 (2,4-5,6)	0,5 (0-1,1)	1,5 (0,7-2,2)	3 (1,6-4,4)	16 (12-19)	
Mycetophagi dae	BT	0,5 (0-1,1)	0,0	2 (0,8-3,2)	0,5 (0,1-0,9)	1 (0,2-1,8)	0,0	0,8 (0,04-1,5)	4,8 (3-6,5)	
	ISO	0,8 (0,04-1,5)	0,8	1 (0,2-1,82)	1 (0,4-1,6)	0,3 (0-0,7)	0,0	0,8 (0,04-1,5)	4,5 (2,8-6,2)	

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em 5 armadilhas por parcela; foram utilizadas 4 parcelas (repetições) por tratamento. Os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%); \*\* P < 0,05; \* P ≥ 0,05 e ≤ 0,08.

### 2.3.1.2.2 Discussão

Os Collembola foram os organismos mais encontrados nas variedades de algodoeiro em Piracicaba – SP. Dos dez gêneros encontrados neste estudo, somente *Lepidocyrtus* sp. foi capturado em armadilhas de queda no estado de São Paulo, sob *Araucaria angustifolia* (BARETTA et al., 2008). Não se sabe ainda quais espécies ocorrem nos algodoeiros brasileiros, mas devida a importância destes artrópodes como bioindicadores da qualidade do solo, mais levantamentos são necessários para o conhecimento da ocorrência das espécies, para utilizá-las em estudos de análise de risco de plantas transgênicas.

Em apenas duas coletas (aos 119 e 135 DAP) foram observadas diferenças nas populações de Collembola entre parcelas com o algodão Bollgard® e em sua isolinha em Piracicaba-SP. Portanto, não há indicações de que este grupo tenha sido afetado durante o ciclo de desenvolvimento do algodoeiro. Esses resultados são semelhantes aos de Bitzer et al. (2005), que não encontraram efeitos de toxinas Cry de milho Bt na abundância total de Collembola que ocorrem sobre a superfície do solo.

Dentre os insetos capturados neste estudo em armadilhas “pitfall”, Formicidae, Coleoptera (incluindo as famílias Nitidulidae, Staphylinidae e Carabidae) e Collembola também foram capturados, em campo com algodoeiro geneticamente modificado (DeltaOpal® Bollgard®) e na isolinha, em Dourados – MS (DUTRA, 2009). Diferentemente deste estudo, Dutra (2009) observou que houve menor riqueza de espécies de Formicidae, Coleoptera e Collembola no algodoeiro Bt que na isolinha, no entanto, o estudo foi realizado em apenas uma safra e, portanto, os dados não são conclusivos.

Em algumas coletas e no total acumulado em 2006/2007, a abundância de Mesostigmata foi menor no algodoeiro Bt do que na isolinha. Entretanto, esta diferença não foi constatada no total de 2007/2008. Muitos destes ácaros se alimentam de invertebrados menores, enquanto outros são fungívoros ou detritívoros (KRANTZ; AINSCOUGH, 1990). O hábito alimentar desses insetos é muito variado, o que dificulta a análise sobre os fatores que poderia ter afetado a sua abundância no algodoeiro Bt em 2006/2007. Alguns desses ácaros se alimentam de pequenos invertebrados, enquanto outros são fungívoros ou detritívoros (KRANTZ; AINSCOUGH, 1990).

A menor abundância de Coleoptera (imatuross) no algodoeiro geneticamente modificado no total de 2006/2007 se deve ao fato de que aos 102 DAP foi observada uma maior quantidade

de Coleoptera imaturos em uma das cinco armadilhas de queda, o que influenciou o resultado total acumulado. Portanto, esta diferença entre os tratamentos não está relacionada à planta geneticamente modificada.

No geral, os estudos conduzidos não demonstraram efeitos negativos de plantas geneticamente modificadas sobre organismos não-alvo que habitam a superfície do solo. Balog et al. (2010) estudaram a diversidade e abundância de Staphylinidae e verificaram que a toxina Cry1Ab do milho Bt MON810 não afetou estes organismos. Daly e Buntin (2005) também observaram que com a utilização desta variedade de milho Bt não houve diferença na abundância de Staphylinidae. Bhatti et al. (2005) também observaram que não houve efeitos do milho Bt (MON 863) em Nitidulidae, Sthaphylinidae e Carabidae, capturados em armadilhas de queda.

Os estudos sobre o impacto de plantas transgênicas em organismos não-alvo nem sempre conseguem explicar as diferenças existentes em algumas coletas do estudo. Em vários grupos de artrópodes, ocorreram diferenças entre os tratamentos, em determinadas coletas ou no total de organismos/ano. No entanto, em estudos de biossegurança é importante observar a frequência que as diferenças entre a variedade geneticamente modificada e a respectiva isolinha aparecem. As diferenças encontradas entre os dois tratamentos deste estudo não foram constantes, o que indica que estas diferenças não tenham sido ocasionadas pela toxina Cry do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® ou por algum efeito pleiotrópico. Outros autores também mencionam que verificaram diferenças em determinadas coletas. Por exemplo, diferenças no total de Acari entre as variedades de milho Bt e não-Bt foram encontradas por AHMAD; WILDE; ZHU (2005), no entanto, os autores afirmam que as diferenças não foram consistentes ao longo do tempo. E, a abundância de Formicidae e Staphylinidae também foi maior em milho não Bt que em milho Bt em 25% da coletas (DALY; BUNTIN, 2005).

### **2.3.1.3 Organismos edáficos**

#### **2.3.1.3.1 Resultados**

Os artrópodes da mesofauna edáfica coletados no algodoeiro Bt e não-Bt, em Leme-SP e Piracicaba-SP, foram ácaros das ordens Oribatida, Mesostigmata, Prostigmata e Astigmata,

Collembola e outros artrópodes (Chilopoda, Diplura, Aranae, Formicidae e larvas de insetos). Nos três anos agrícolas, foram coletados, contados e identificados aproximadamente 297.696 organismos edáficos (47.743 em 2005/2006, 103.418 em 2006/2007 e 146.535 em 2007/2008). Os organismos edáficos mais encontrados em 2005/2006 foram os Oribatida (36%), seguidos por Prostigmata (30%) e Mesostigmata (24%). Em 2007/2008, os Oribatida também foram os mais coletados, totalizando 71% de todos os organismos encontrados, seguidos por Prostigmata (11%) e Mesostigmata (11%). Em 2007/2008, os Prostigmata constituíram 39% dos organismos edáficos, com Oribatida compondo o segundo grupo mais abundante (35%), seguido por Mesostigmata (11%) e Collembola (11%).

Dentre os Oribatida, em 2005/2006 as espécies mais abundantes foram *Scheloribates praeincisus* (45%), *Protoribates* sp. (22%) (morfotipo ainda não descrito) e *Galumna glabra* (22%). Em 2006/2007, também foram coletados mais *S. praeincisus* (51%), seguido por *G. glabra* (13%) e *Protoribates* sp. (0,06%). Em 2007/2008, foram coletados *S. praeincisus* (22%), *Protoribates praeoccupatus* (14%) e *G. gabra* (7%).

As espécies encontradas e identificadas da ordem Collembola foram: *Pseudosinella* sp., *Mesaphorura amazonica*, *Spheridia* sp., *Folsomides parvulus*, *Folsomides* sp., *Entomobrya* sp., *Arlesia* sp. e *Cyphoderus arlei*. No entanto, não foram identificados todos os espécimens coletados e possivelmente a diversidade de espécies nas parcelas do experimento tenham sido maiores em Piracicaba-SP.

Com relação à abundância comparativa dos organismos entre o algodoeiro Bt e a isolinha, para Acari (total), foram observadas diferenças entre os tratamentos em duas coletas, mas não no total da soma de todas as coletas, em 2005/2006. Nestas duas coletas, foram detectadas diferenças entre as parcelas com a isolinha denominadas ISO I e ISO II, que entretanto, receberam o mesmo manejo. Em 2006/2007, houve mais ácaros no algodoeiro Bollgard®, encontrando-se 2458 ácaros/parcela (13 cilindros), do que na isolinha (2157 ácaros/parcela) aos 51 DAP. E, em 2007/2008, foi observada diferença entre os tratamentos aos 8 e 148 DAP, ocorrendo mais ácaros no algodoeiro Bt do que na isolinha (Tabelas 11-13).

Diferenças significativas na abundância de Mesostigmata foram observadas em algumas coletas de 2005/2006, mas mesmo que o algodoeiro Bt tenha apresentado menor abundância de ácaros predadores, houve sempre semelhança com um tratamento controle (isolinha). Em 2006/2007, aos 51 DAP houve maior abundância de Mesostigmata no algodoeiro Bt (130

ácaros/parcela) do que na isolinha (89 ácaros/parcela) e aos 210 DAP ocorreu o inverso, encontrando-se menos Mesostigmata no algodoeiro Bt (67 ácaros/parcela) do que na isolinha (80 ácaros/parcela). Em 2007/2008, estes ácaros foram mais abundantes no algodoeiro Bt do que na isolinha aos 187 DAP (Tabelas 11-13).

Os ácaros da ordem Astigmata apareceram em 2005/2006 e 2006/2007, e houve diferença entre os tratamentos em apenas uma coleta das dez realizadas, ocorrendo menor abundância destes ácaros no algodoeiro Bt e na isolinha II, comparados à isolinha I, aos 75 DAP do 1º ano agrícola (Tabela 11).

Com relação à Prostigmata (total), houve menor abundância no algodoeiro Bt em relação aos dois tratamentos controles aos 120 DAP, em 2005/2006 (Tabela 11). Em 2006/2007, estes ácaros foram mais abundantes no algodoeiro Bt do que na isolinha, em duas coletas do total de seis amostragens, e no total. Aos 8 e 87 DAP, o algodoeiro Bollgard® apresentou 98 e 284 ácaros/parcela, respectivamente, enquanto que, na isolinha foram encontrados 50 e 232 ácaros/parcela, respectivamente. No total também houve diferença entre os tratamentos, resultando em 1575 ácaros/parcela no algodoeiro Bt e 1365 ácaros/parcela na isolinha (Tabela 12). Em 2007/2008, houve mais Prostigmata no algodoeiro Bt do que na isolinha aos 8 e 148 DAP, e menos Prostigmata no algodoeiro Bt do que na isolinha aos 232 DAP (Tabela 13), mas não houve em diferença entre as variedades de algodão no total acumulado.

Em duas coletas de um total de quatro e no total, os Endostigmata foram menos abundantes no algodoeiro Bt do que nas isolinhas, em 2005/2006 (Tabela 11). Em 2006/2007, em três amostragens do total de seis, mais Endostigmata foi coletado no algodoeiro Bt do que na isolinha (Tabela 12). E, em 2007/2008, houve menor abundância desses Prostigmata no algodoeiro Bt do que na isolinha, somente aos 57 DAP (Tabela 13).

Poucas diferenças entre o algodoeiro Bt e a isolinha foram encontradas também para Oribatida (total, adultos e imaturos). Considerando o total de oribatídeos, em 2005/2006, menores quantidades foram encontradas tanto no algodoeiro Bt como na isolinha I (Tabela 11). Em 2006/2007, houve maior número destes organismos no algodoeiro Bt (1764 ácaros/parcela) do que na isolinha (1559 ácaros/parcela) aos 51 DAP. Aos 129 DAP, ocorreu o inverso, pois ocorreu mais Oribatida na isolinha do que no algodoeiro Bt (Tabela 12). Em 2007/2008, diferenças foram encontradas somente na 1ª coleta (8 DAP) (Tabela 13). Com relação aos Oribatida adultos, na 1ª coleta (40 DAP) de 2005/2006, houve menor abundância destes organismos no algodoeiro Bt do

que nas duas isolinhas. Porém, o inverso foi observado aos 190 DAP, em que o algodoeiro Bt apresentou mais oribatídeos do que as duas isolinhas (Tabela 11). Não houve diferença significativa para este grupo, em 2006/2007 (Tabela 12). Em 2007/2008, diferenças na abundância destes artrópodes foram encontradas somente na 1ª coleta (8 DAP) (Tabela 13). Em 2005/2006, nos oribatídeos imaturos foram observadas diferenças entre os tratamentos em duas coletas e no total, mas a abundância destes organismos no algodoeiro Bt sempre foi semelhante a uma isolinha (Tabela 11). Também foram observadas diferenças entre os tratamentos em quatro coletas do total de seis e no total acumulado de Oribatida (imaturos) do ano de 2006/2007. Neste ano agrícola, aos 8 DAP, houve menos imaturos de Oribatida no algodoeiro Bt (1372 ácaros/parcela) do que na isolinha (1523 ácaros/parcela), e o inverso foi observado aos 51 DAP, encontrando-se mais ácaros no algodoeiro Bt (945 ácaros/parcela) do que na isolinha (766 ácaros/parcela). Aos 129 e 210 DAP, e no total, houve menor abundância de imaturos de Oribatida no algodoeiro Bt do que na isolinha, encontrando-se 273, 651 e 4045 ácaros/parcela e 466, 1053 e 4715 ácaros/parcela, no algodoeiro Bt e na isolinha, respectivamente (Tabela 12). Em 2007/2008, não houve diferença na abundância destes organismos entre os tratamentos (Tabela 13).

Das quatro coletas realizadas em 2005/2006, foi observada maior densidade populacional de *S. praeincisus* no algodoeiro Bt (221 ácaros/parcela) do que na isolinha I (148 ácaros/parcela) e na isolinha II (147 ácaros/parcela) (Tabela 11). Porém, não houve diferença na densidade populacional deste ácaro nos demais anos agrícolas estudados (Tabelas 12 e 13).

Em 2005/2006, não houve diferença significativa na densidade populacional de *G. glabra*, mas este ácaro edáfico foi mais abundante no algodoeiro Bt aos 8, 51, 180 e 210 DAP, e na soma de todas as coletas de 2006/2007, totalizando 714 ácaros/parcela no algodoeiro Bt e 580 ácaros/parcela na isolinha (Tabela 12). Em 2007/2008, ocorreu o inverso, pois houve menos *G. glabra* no algodoeiro Bt (70 ácaros/parcela) do que na isolinha (116 ácaros/parcela) aos 187 DAP e também no total (262 ácaros/parcela no algodoeiro Bt e 327 ácaros/parcela na isolinha) (Tabela 13).

A densidade populacional de *Protoribates* sp. variou entre os três tratamentos de 2005/2006 nas três primeiras coletas, e considerando o total, esta espécie foi menos abundante no algodoeiro Bt e na isolinha I, com relação à isolinha II. Não houve diferença significativa entre as variedades de algodão para *Protoribates* sp., em 2006/2007. Em 2007/2008, *P. praeoccupatus* foi



mais abundante no algodoeiro Bt (19 ácaros/parcela) do que na isolinha (8 ácaros/parcela) somente aos 57 DAP (Tabela 13).

Em Collembola, somente houve diferença significativa entre os tratamentos aos 120 DAP, sendo que ocorreu maior abundância na isolinha I e no algodoeiro Bt, no entanto, este tratamento também não diferiu da isolinha II (Tabela 11). Em 2006/2007, foi encontrada menor abundância de colêmbolas no algodoeiro Bt do que na isolinha em três de seis coletas, resultando em menor abundância no total das coletas no algodoeiro Bt (541 colêmbolas/parcela) do que na isolinha (581 colêmbolas/parcela) (Tabela 13).

Em 2005/2006, Chilopoda foi contado juntamente com Formicidae, Aranae e Diplopoda, e foram colocados como outros artrópodes. Neste ano agrícola, houve diferença significativa entre os tratamentos aos 40 DAP, no entanto, a abundância destes artrópodes não diferiu entre o algodoeiro Bt e a isolinha II (Tabela 11). Em 2006/2007 e 2007/2008, Chilopoda foi separado de outros artrópodes e houve diferença significativa entre os algodoeiros somente em três coletas, tendo menos Chilopoda no algodoeiro Bt do que na isolinha, aos 51 DAP, no primeiro ano agrícola (Tabela 12). Em 2007/2008, mais Chilopoda foi coletado no algodoeiro Bt do que na isolinha aos 57 DAP, mas ocorreu o inverso aos 106 DAP, em que houve mais Chilopoda na isolinha do que no algodoeiro Bt (Tabela 13).

Em outros artrópodes (Formicidae, Aranae, Diplopoda e larvas de insetos) de 2006/2007, houve diferença significativa em três de seis coletas, encontrando-se maior abundância destes artrópodes no algodoeiro Bt aos 8 e aos 51 DAP e havendo menor abundância dos mesmos no algodoeiro Bt do que na isolinha aos 210 DAP (Tabela 12). Em 2007/2008, foi observado que houve menos destes artrópodes no algodoeiro Bt do que na isolinha, apenas aos 148 DAP (Tabela 13).

Diplura ocorreu somente em 2007/2008, mas não houve diferença significativa entre os dois tratamentos (Tabela 13).

Tabela 11 – Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Leme-SP no ano agrícola 2005/2006  
(continua)

Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura				Total
		40	75	120	190	
Acari (total)	BT	145(84-192)b <sup>1</sup>	660(432-897)a	1775(1574-2016)a	2206(1594-2756)ab	4786(4073-5481)a
	ISO I	472(305-689)a	1294(866-1794)a	1822(1569-2009)a	1668(1241-2147)b	5256(4481-6030)a
	ISO II	179(109-249)b	1127(709-1470)a	1944(1717-2198)a	3092(2264-3914)a	6342(5419-7290)a
Mesostigmata	BT	38(18-52)b	223(182-276)b	831(735-932)a	28(21-36)b	1120(1037-1205)b
	ISO I	160(88-239)a	375(302-454)a	991(870-1102)a	72(52-84)a	1598(1480-1714)a
	ISO II	41(23-64)b	237(183-277)b	842(743-943)a	42(32-54)ab	1161(1074-1247)b
Astigmata	BT	0,3(0-0,9)a	0,7(0-1,3)b	1(0-3)a	38(0-50)a	40(0-66)a
	ISO I	2(0,7-3,3)a	128(117-139)a	16(0-22)a	6,3(0-23)a	152(0-23)a
	ISO II	0,3(0-0,9)a	0,3(0-0,9)b	2,7(0-7,3)a	8,3(0-31)a	12(0-32)a
Prostigmata (total)	BT	18(10-26)b	130(98-162)b	155(134-185)b	1622(1005-2416)ab	1925(1322-2598)a
	ISO I	72(41-96)a	329(254-410)a	228(186-254)a	1018(578-1391)b	1646(1099-2161)a
	ISO II	25(14-36)b	214(161-263)ab	248(212-288)a	2492(1440-3459)a	2979(1994-3918)a
Endostigmata	BT	3,3(1,3-6,2)b	109(68-160)b	99(89-111)c	74(61-88)b	286(250-324)b
	ISO I	29(13-38)a	276(172-399)a	158(142-171)b	107(89-126)a	570(501-641)a
	ISO II	8,3(3,9-14)ab	152(85-198)ab	207(190-226)a	125(103-145)a	493(430-552)a
Oribatida (total)	BT	90(52-118)b	306(166-454)a	788(649-943)ab	577(494-666)a	1761(1576-1937)b
	ISO I	237(157-350)a	462(257-702)a	587(465-678)b	565(466-628)a	1851(1656-2034)b
	ISO II	112(68-155)b	675(345-940)a	852(707-1027)a	636(556-749)a	2275(2053-2520)a
Oribatida (adultos)	BT	67(42-85)b	173(103-247)a	325(258-372)ab	232(199-277)a	797(693-896)a
	ISO I	163(117-223)a	193(118-284)a	263(215-312)b	166(135-190)b	786(687-887)a
	ISO II	87(58-114)a	340(191-455)a	390(330-474)a	157(130-183)b	973(851-1097)a

Tabela 11 – Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Leme-SP no ano agrícola 2005/2006

		(conclusão)				
Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura				Total
		40	75	120	190	
Oribatida (imatuross)	BT	24(6,2-39)a	133(59-205)a	463(376-602)a	342(293-398)b	962(889-1054)b
	ISO I	76(25-149)a	268(126-431)a	324(235-378)b	389(337-458)ab	1058(981-1163)b
	ISO II	26(6,75-42)a	336(147-503)a	462(356-571)ab	469(439-594)a	1293(1212-1434)a
<i>Scheloribates praeincisus</i>	BT	25(16-31)b	18(97-29)b	127(101-149)ab	221(193-259)a	391(335-446)a
	ISO I	72(53-98)a	37(16-61)ab	88(70-104)b	148(122-167)b	345(294-393)a
	ISO II	34(23-46)b	95(39-140)a	149(124-182)a	147(124-169)b	425(367-487)a
<i>Galumna glabra</i>	BT	17(3,5-25)a	31(11-50)a	75(42-95)a	8(5,5-22)a	131(90-161)a
	ISO I	31(13-82)a	81(29-127)a	87(57-126)a	14(5,5-22)a	213(156-276)a
	ISO II	15(3,1-23)a	93(37-159)a	92(60-133)a	6,3(2,5-12)a	206(153-271)a
<i>Protoribates sp.</i>	BT	14(8,5-19)b	80(62-96)ab	48(41-56)b	0,7(0-1,43)a	142(131-154)b
	ISO I	40(27-54)a	61(51-79)b	56(49-63)b	1,3(0,2-2,4)a	159(147-171)b
	ISO II	26(17-35)ab	116(88-134)a	120(110-130)a	3(1,4-4,6)a	264(245-280)a
Collembola	BT	16(10-23)a	93(68-118)a	12(7,2-16)ab	1(0-3,77)a	121(97-143)a
	ISO I	20(13-29)a	111(82-142)a	8(4,5-11)b	0,3(0-1,1)a	139(112-165)a
	ISO II	15(8,3-19)a	119(86-148)a	19(13-27)a	6(0-9,6)a	160(132-192)a
Outros artrópodes <sup>2</sup>	BT	8(3,8-13)b	188(157-215)a	214(190-244)a	19(11-29)a	430(385-473)a
	ISO I	41(20-54)a	143(125-172)a	230(201-258)a	32(18-46)a	446(402-494)a
	ISO II	10(5,1-16)b	153(126-174)a	240(208-267)a	15(8,1-22)a	419(375-461)a

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em 11 cilindros por parcela; foram utilizadas 4 parcelas (repetições) por tratamento. Os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%); <sup>2</sup>Foram encontrados Formicidae, Aranae, Diplopoda e Chilopoda.

Tabela 12 - Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2006/2007 (continua)

Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura						Total
		8	51	87	129	180	210	
<b>Acari</b>								
Acari (total)	BT	2112 (1981-2249)	2458** (2290-2594)	1856 (1561-2145)	1967* (1744-2198)	2218 (1955-2467)	1227* (1111-1425)	11837 (11166-12417)
	ISO	2165 (2026-2300)	2157 (2035-2306)	1937 (1634-2246)	2377 (2100-2645)	2013 (1786-2253)	1574 (1337-1714)	12224 (11620-12922)
Mesostigmata	BT	193 (153-227)	130** (121-140)	313 (275-351)	354 (322-386)	357 (310-411)	67** (60-73)	1414 (1352-1477)
	ISO	170 (138-206)	89 (81-96)	321 (282-360)	399 (364-436)	302 (257-342)	80 (72-87)	1360 (1304-1420)
Astigmata	BT	0	0	5 (2,8-6,2)	0	3 (0,6-6,1)	2,3 (0,6-4,6)	10 (7,2-12,3)
	ISO	0	0	6 (3,8-7,7)	0,25	7 (1,4-10)	1,8 (0,5-4,3)	15 (11-17)
<b>Prostigmata:</b>								
Prostigmata (total)	BT	98** (64-137)	563 (490-658)	284** (260-304)	176 (138-213)	248 (225-268)	207 (185-228)	1575** (1481-1667)
	ISO	50 (31-67)	509 (426-573)	232 (214-252)	148 (116-179)	244 (223-266)	183 (164-203)	1365 (1284-1447)
Endostigmata	BT	20** (16,1-23)	413** (397-430)	141 (124-157)	82 (66-102)	179 (150-209)	152** (130-170)	986 (921-1051)
	ISO	14 (11-16,8)	370 (354-386)	146 (129-164)	80 (61-95)	181 (150-209)	109 (95-126)	900 (840-960)

Tabela 12 - Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2006/2007 (continuação)

Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura						Total
		8	51	87	129	180	210	
Oribatida:								
Oribatida (total)	BT	1821 (1744-1912)	1764** (1655-1835)	1259 (1018-1516)	1437** (1272-1611)	1613 (1382-1833)	954 (829-1173)	8848 (8223-9402)
	ISO	1946 (1850-2028)	1559 (1494-1658)	1384 (1105-1646)	1831 (1610-2039)	1468 (1266-1680)	1312 (1038-1467)	9499 (8899-10175)
Oribatida (adultos)	BT	449 (410-489)	819 (770-863)	855 (681-1037)	1164 (1020-1305)	1214 (1045-1374)	303* (259-403)	4803 (4471-5103)
	ISO	423 (385-459)	793 (750-841)	888 (701-1066)	1364 (1199-1532)	1057 (916-1206)	258 (186-291)	4784 (4484-5117)
Oribatida (imaturos)	BT	1372** (1324-1443)	945** (863-999)	405 (331-489)	273** (207-348)	399 (286-489)	651** (570-790)	4045** (3730-4334)
	ISO	1523 (1447-1575)	766 (720-835)	496 (395-583)	466 (342-574)	411 (312-535)	1053 (848-1172)	4715 (4376-5083)
<i>Scheloribates praeincisus</i>	BT	195 (161-233)	505 (471-540)	483 (411-564)	412 (361-480)	647 (547-745)	225 (191-300)	2466 (2323-2606)
	ISO	213 (172-248)	531 (494-566)	470 (392-538)	489 (412-546)	543 (460-628)	197 (141-222)	2440 (2302-2581)
<i>Galumna glabra</i>	BT	106** (89-126)	133** (117-160)	156 (110-197)	119 (103-137)	167** (138-223)	34** (29-39)	714** (651-802)
	ISO	79 (64-92)	122 (99-136)	110 (79-143)	116 (99-131)	128 (90-147)	26 (21-29)	580 (510-630)

Tabela 12 - Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2006/2007 (conclusão)

Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura						Total
		8	51	87	129	180	210	
<i>Protoribates</i> sp.	BT	1 (0,18-1,8)	0	0,25 (0,24-0,25)	1,25 (0,4-3)	0,25 (0,24-0,25)	0	2,75 (1,4-4,1)
	ISO	1,5 (0,5-2,5)	0,25 (0,24-0,25)	0	1,25 (0,4-3,2)	0	0	3 (1,6-4,4)
Collembola	BT	122 (105-134)	22 (18-26)	38 (31-50)	53** (47-58)	258** (245-271)	49** (43-54)	541** (522-560)
	ISO	111 (99-127)	21 (17-24)	34 (24-40)	68 (61-74)	289 (275-303)	60 (53-66)	581 (561-601)
Chilopoda (total)	BT	46 (37-63)	1** (0,04-1,5)	56 (49-62)	14 (11,2-17)	19 (13-24)	2 (0,7-2,8)	137 (126-157)
	ISO	50 (34-58)	5 (3,4-7)	57 (51-63)	12 (8,9-15)	18 (13-23)	1 (0,3-2,2)	143 (123-154)
Outros <sup>2</sup> artrópodes	BT	65** (59-72)	32** (19-41)	24 (20-28)	24 (20-28)	47 (39-55)	20** (16-23)	211 (186-233)
	ISO	50 (44-55)	12 (7-17)	22 (18-26)	22 (18-26)	45 (36-53)	32 (27-36)	182 (162-203)

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em 13 cilindros por parcela; foram utilizadas 4 parcelas (repetições) por tratamento. Os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%); <sup>2</sup>Foram encontrados Formicidae, Aranae e larvas de insetos; \*\* P < 0,05; \* P < 0,08.

Tabela 13 - Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2007/2008 (continua)

Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura						Total
		8	57	106	148	187	232	
<b>Acari</b>								
Acari (total)	BT	980 <sup>1**</sup> (935-1029)	959 (765-1068)	2948 (2904-2993)	3468 <sup>**</sup> (3154-3718)	3901 (3718-4030)	3745 (3451-4103)	16000 (14715-17027)
	ISO	790 (749-828)	970 (849-1185)	2911 (2866-2955)	2794 (2588-3052)	3928 (3796-4114)	3885 (3519-4185)	15277 (14281-16525)
Mesostigmata	BT	274 (239-321)	124 (112-137)	378 (314-465)	386 (347-420)	534 <sup>**</sup> (515-553)	267 (240-312)	1962 (1781-2131)
	ISO	270 (223-302)	140 (126-154)	362 (283-420)	340 (309-375)	487 (469-505)	298 (250-325)	1898 (1732-2073)
<b>Prostigmata</b>								
Prostigmata (total)	BT	395 <sup>**</sup> (35-438)	144 (115-182)	1294 (1088-1454)	1449 <sup>**</sup> (1356-1544)	1956 (1848-2111)	1938 <sup>**</sup> (1835-2055)	7179 (6786-7561)
	ISO	256 (227-286)	171 (128-203)	1402 (1222-1633)	1137 (1061-1211)	2098 (1939-2212)	2228 (2095-2345)	7292 (6903-7691)
Endostigmata	BT	5 (3-6,5)	8 <sup>**</sup> (5,5-10)	0,5 (0-1,1)	2,5 (1,2-3,8)	0,8 (0,04-1,5)	1,3 (0,3-2,2)	18 (14-26)
	ISO	8 (5,3-9,8)	19 (15-22)	0,8 (0,04-1,5)	2,3 (1-3,5)	0,5 (0-1,1)	1,3 (0,3-2,2)	31 (25-35)
<b>Oribatida</b>								
Oribatida (total)	BT	263 <sup>**</sup> (248-279)	652 (466-766)	1272 (971-1485)	1625 (1288-1869)	1393 (1164-1558)	1539 (1182-1937)	6743 (5387-7800)
	ISO	218 (204-232)	624 (502-825)	1144 (938-1434)	1310 (1100-1598)	1338 (1172-1569)	1358 (1015-1665)	5992 (5009-7253)

Tabela 13 - Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2007/2008 (continuação)

Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura						Total
		8	57	106	148	187	232	
Oribatida (adultos)	BT	142** (127-158)	329 (246-375)	923 (693-1073)	1216 (966-1384)	1020 (849-1124)	612 (491-734)	4241 (3397-4810)
	ISO	111 (98-123)	284 (239-365)	898 (738-1142)	1029 (876-1255)	1031 (919-1217)	665 (532-796)	4018 (3441-4872)
Oribatida (imatuross)	BT	121* (112-130)	324 (221-392)	349* (274-421)	409 (292-505)	374 (299-459)	927 (672-1242)	2503 (1939-3065)
	ISO	107 (99-115)	340 (256-461)	246 (194-299)	281 (211-366)	307 (238-366)	693 (472-872)	1974 (1530-2419)
<i>Schelorbitates praeincisus</i>	BT	28 (26-29)	73 (45-94)	119 (78-163)	226 (127-275)	203 (140-247)	184 (135-236)	832 (569-1028)
	ISO	30 (28-31)	91 (64-120)	168 (108-224)	223 (162-349)	250 (190-333)	227 (164-286)	988 (736-1327)
<i>Galumna glabra</i>	BT	12 (9,2-15)	9 (5,8-11,8)	33 (27-38)	72 (48-89)	70** (63-77)	67 (56-88)	262** (223-296)
	ISO	8,3 (6-11)	12 (8,1-16)	30 (25-35)	67 (49-91)	116 (107-124)	95 (69-107)	327 (285-377)
<i>Protoribates praeoccupatus</i>	BT	6 (3,8-7,7)	19** (12-23)	84 (54-95)	118 (89-137)	190 (141-218)	195 (161-222)	611 (467-693)
	ISO	7 (4,6-8,9)	8 (5,4-12)	92 (77-134)	118 (97-149)	192 (160-247)	194 (165-229)	611 (519-770)



Tabela 13 - Organismos da mesofauna edáfica coletados durante o desenvolvimento do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® (Bt) e na isolinha não-transgênica (Iso) em campo experimental em Piracicaba-SP no ano agrícola 2007/2008 (conclusão)

Artrópode	Trat.	Dias após a semeadura						Total
		8	57	106	148	187	232	
Collembola	BT	88 (80-95)	141 (92-188)	444** (380-510)	420 (333-502)	512 (446-558)	383* (355-424)	1986 (1771-2157)
	ISO	88 (80-96)	156 (103-210)	577 (492-659)	306 (245-371)	512 (464-580)	304 (272-327)	1943 (1772-2159)
Chilopoda (total)	BT	25 (16-31)	16** (13-19)	19** (16-23)	61 (55-68)	58 (51-64)	36 (26-45)	214 (202-226)
	ISO	18 (12-25)	10 (7,6-13)	27 (22-31)	68 (61-75)	54 (48-60)	32 (23-41)	209 (197-221)
Diplura	BT	2,8 (1,4-4,1)	7,3 (5,0-9,5)	11 (8,1-13)	5 (2,5-7,5)	0,5 (0-1,1)	0	26 (22-30)
	ISO	3,3 (1,8-4,7)	7,8 (5,5-10)	12 (9,4-15)	2,5 (0,9-4)	0,8 (0-1,5)	0,25 (0,24-0,25)	27 (23-31)
Outros artrópodes <sup>2</sup>	BT	8 (5,3-11)	17 (11,5-23)	97 (87-108)	93** (71-133)	189 (157-214)	65 (53-76)	468* (418-510)
	ISO	13 (8,3-17)	16 (9,2-19)	88 (78-97)	193 (124-229)	160 (137-188)	68 (56-80)	536 (487-593)

<sup>1</sup>Nº médio de organismos coletados em 13 cilindros por parcela; sendo utilizadas quatro parcelas (repetições) por tratamento. Os valores entre parênteses constituem o intervalo de confiança (90%); <sup>2</sup>Foram encontrados Formicidae, Araneae e larvas de insetos; \*\* P < 0,05; \* P < 0,08.

### 2.3.1.3.2 Discussão

Observou-se que *S. praencisus* foi a espécie mais abundante de oribatídeos nos três anos agrícolas. Esta espécie também foi a de maior abundância em soja, em Jaguariúna-SP (OLIVEIRA et al., 2001), e em cana-de-açúcar, em Piracicaba (DELALIBERA Jr, comunicação pessoal). Com relação à composição das espécies de oribatídeos mais prevalentes nos três anos de cultivo, em 2006/2007 houve, mais *G. glabra* e *Protoribates* sp. Em 2007/2008, houve maior abundância de *P. praeoccupatus* e menor abundância *G. glabra*. A diferença na composição das espécies de Oribatida de 2006/2007 para 2007/2008 pode estar associada a localização das áreas experimentais e os cultivos que antecederam a instalação do experimento. No terceiro ano agrícola o plantio foi realizado em uma área a uma distância de aproximadamente 250 m do plantio conduzido no ano anterior, o que pode ter influenciado a comunidade destes organismos, considerando que estes organismos possuem baixa mobilidade e distribuição agregada no solo.

Deve-se considerar que se houvessem efeitos diretos na toxina dos exudatos das raízes ou do material em decomposição do algodoeiro geneticamente modificado no solo nos organismos edáficos, uma diferença constante entre os dois tratamentos seria observada ao longo dos três anos de estudo. Independente da observação do tipo de efeito observado no algodoeiro transgênico (positivo ou negativo), e considerando apenas os efeitos observados somente no algodoeiro Bt com relação as duas isolinhas, em 2005/2006, foram observadas poucos efeitos do algodoeiro Bt, totalizando 46 diferenças na abundância dos organismos em 220 análises (13 grupos de organismos e quatro coletas em 2005/2006; 14 grupos e seis coletas, em 2006/2007 e em 2007/2008), cerca de 21% do total das análises. É possível que esta variação entre os tratamentos seja natural e não devido ao tratamento. Além disso, dessas 46 diferenças encontradas, somente 37 devem ser levadas em consideração, pois nove diferenças ocorreram na 1ª coleta (cinco diferenças em 2006/2007 e quatro em 2007/2008). Esta coleta foi realizada entre as linhas do algodoeiro, logo após a semeadura (8 dias), quando o algodoeiro havia acabado de germinar. Portanto, os efeitos encontrados na 1ª coleta não ocorreram por causa da toxina Cry1Ac de Bt ou resultantes de possíveis efeitos pleiotrópicos decorrentes da transgenia.

Deve-se considerar que no ano agrícola de 2006/2007, quando houve menor abundância de Oribatida (imaturos) no algodoeiro Bt em três amostragens, maior abundância de *Galumna glabra*, nesta variedade em quatro coletas e de Endostigmata em quatro coletas e Prostigmata em

duas coletas, as diferenças ocorreram desde a 1ª coleta, mostrando que possivelmente, essas populações já eram menores e maiores nestas parcelas, independente da variedade que foi cultivada. Aliado a isto, diferenças significativas não ocorreram das mesmas formas para estes dois grupos em 2005/2006 e 2007/2008.

No geral, não houve diferença na abundância de Oribatida entre a variedade geneticamente modificada Bollgard® (Delta Pine 90) e a isolinha considerando o grupo total, somente os ácaros adultos, somente os imaturos e separadamente as espécies *S. praeincisus*, *G. glabra* e *Protoribates* sp. e *P. praeoccupatus*. Até o momento, não foram publicados estudos que tenham mostrado alterações das plantas geneticamente modificadas sobre a abundância de ácaros edáficos. Por exemplo, o algodoeiro Bt que expressa as toxinas Cry1Ab e Cry1Ac não afetou o ácaro *Oppia nitens* C.L. Koch (Oribatida: Oppiidae) (YU; BERRY; CROFT, 1997). Efeitos do algodoeiro Bt (variedade DP 404 BG) também não afetou o oribatídeo *Scheloribates praencisus* (Berlese) (Scheloribatidae), em laboratório (OLIVEIRA et al., 2007).

A menor abundância de Collembola no Bollgard® do que na isolinha nas três últimas coletas do ano agrícola 2006/2007 pode ter sido circunstancial e não devido a modificação genética no algodoeiro. Bitzer et al. (2005) também relatou isto ao estudar a abundância de Collembola durante três anos agrícolas e em um dos anos estes autores verificaram que os colêmbolas foram menos abundante em milho Bt do que na isolinha nas coletas iniciais do estudo, resultado que não se repetiu nos outros dois anos de experimentação. No entanto, como somente foram observadas poucas diferenças entre os tratamentos (quatro de um total de 16 coletas), estas alterações significativas na abundância destes artrópodes não foram causadas pelo algodoeiro Bt.

Em revisão feita por Icoz e Stotzky (2008), foram compilados 21 estudos realizados com a toxina Cry1Ab de milho Bt avaliando seus efeitos em Oligochaeta, Collembola, Isopoda e Nematoda, três estudos foram feitos com a toxina Cry3Bb1 de berinjela ou milho Bt, com Nematoda, Acari e Collembola e apenas um estudo foi feito com toxina Cry1Ac de algodoeiro Bt. O milho Bt que expressa a toxina Cry3Bb1, por exemplo, não afetou a abundância de Oribatida, Prostigmata, Mesostigmata e Astigmata, e Collembola (AHMAD; WILDE; ZHU, 2005). A toxina Cry1Ab, também de milho Bt, não alterou a abundância de Actinedida (Prostigmata) e Gamasida (Mesostigmata) (CORTET et al., 2007). Desta forma, os resultados apresentados aqui contribuem para o conhecimento dos efeitos potenciais da toxina Cry1Ac sobre

organismos edáficos, considerando que na maioria dos estudos conduzidos até o momento foram utilizadas variedades de milho Bt que expressam outros tipos de proteínas Cry.

Não houve efeitos do algodoeiro Bt em Chilopoda, Diplura e outros artrópodes (Formicidae e Aranae). Observações semelhantes para estes grupos de organismos foram feitas por Bhatti et al. (2005).

## **2.3.2 Efeitos do algodoeiro Bollgard® sobre organismos não-alvo, em laboratório**

### **2.3.2.1 Biologia comparada de *Mononychellus planki* no algodoeiro transgênico Bollgard® e na sua isolinha**

#### **2.3.2.1.1 Resultados**

Não foram detectadas diferenças estatísticas na mortalidade de *M. planki* criado no algodoeiro Bt e na isolinha, nas fases de larva ( $F = 1,06$ ;  $P = 0,37$ ), protoninfa ( $F = 1,15$ ;  $P = 0,71$ ) e deutoninfa ( $F = 1,02$ ;  $P = 0,47$ ). As curvas de sobrevivência de *M. planki* foram semelhantes na fase imatura, considerando cada fase separadamente. Embora não tenha sido estatisticamente significativo, a proporção de mortalidade na fase adulta foi ligeiramente diferente ( $F = 1,60$ ;  $P = 0,06$ ). Quando foi considerado o ciclo total de desenvolvimento na análise de sobrevivência, as diferenças nas populações deste ácaro no algodoeiro Bt e na isolinha não foram significativas ( $F = 1,35$ ;  $P = 0,071$ ) (Figura 5). No 6º dia, foi observado que a sobrevivência acumulada de *M. planki* na isolinha e no algodoeiro geneticamente modificado foi de 76% e 59%, respectivamente. No 12º dia, a sobrevivência acumulada foi de 57% na isolinha e 40% no algodoeiro Bollgard®. Esta diferença foi mantida até o final das avaliações, sendo que no 40º dia não haviam ácaros fitófagos no algodoeiro Bollgard®, enquanto a sobrevivência da população do ácaro-verde na isolinha neste dia era de 20%.

A duração do período de larva ( $F_{1,104} = 1,65$ ;  $P = 0,44$ ), protoninfa ( $F_{1,86} = 1,61$ ;  $P = 0,47$ ), deutoninfa ( $F_{1,79} = 1,92$ ;  $P = 0,58$ ), e do período de larva a adulto ( $F_{1,79} = 1,05$ ;  $P = 0,74$ ) foram semelhantes nos ácaros mantidos nas duas variedades de algodão (Tabela 14). Após duas gerações nas respectivas variedades de algodão, não houve diferença na duração da fase de ovo

( $F_{1,140} = 0,78$ ,  $P = 0,74$ ). A fase de ovo durou  $5,04 \pm 0,07$  dias e  $5,20$  dias  $\pm 0,07$ , no algodoeiro Bollgard® e na isolinha, respectivamente.

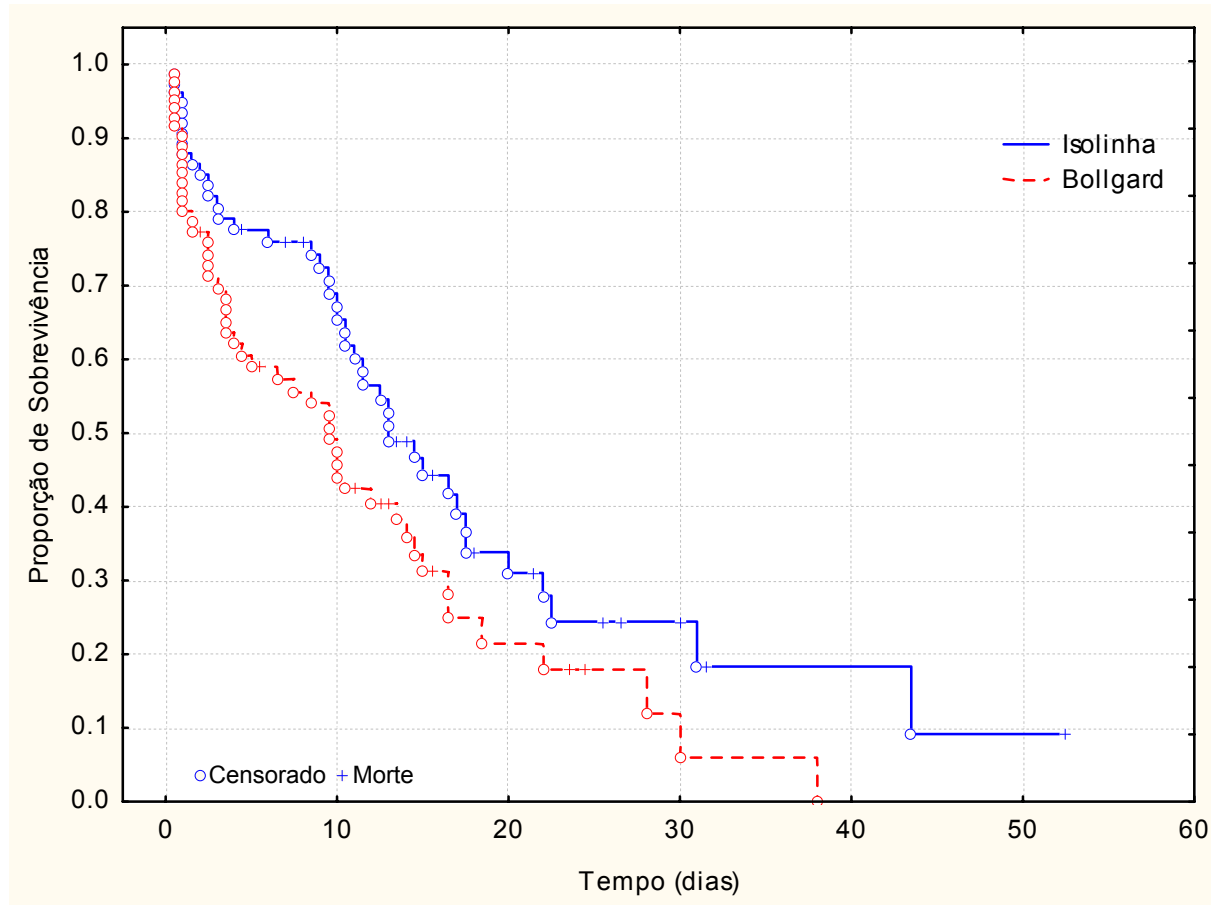


Figura 5 - Curvas de sobrevivência de *Mononychellus planki* criados em algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard®) e em sua isolinha (Acala), a  $26 \pm 2^\circ$  C,  $60 \pm 5\%$ , e 12 horas de fotofase

Tabela 14 - Duração das fases imaturas (média  $\pm$  erro padrão) do ácaro fitófago *Mononychellus planki* alimentado em algodão geneticamente modificado Bollgard® e em sua isolinha (Acala) a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $60 \pm 5\%$  UR e 12 horas de fotofase

Fase	Acala	n <sup>1</sup>	Bollgard®	n <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
Larva	2,53 $\pm$ 0,11	56	2,42 $\pm$ 0,09	50	0,44
Protoninfa	2,05 $\pm$ 0,06	49	2,13 $\pm$ 0,09	39	0,47
Deutoninfa	2,55 $\pm$ 0,11	47	2,47 $\pm$ 0,10	32	0,58
Larva-adulto	7,22 $\pm$ 0,19	47	7,02 $\pm$ 0,22	32	0,74

<sup>1</sup>n = número de indivíduos observados; <sup>2</sup>P = Não houve diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste “t” (p<0,05) (SAS, 2002-2003).

### 2.3.2.1.2 Discussão

*Mononychellus planki* foi relatado em algodoeiro há vários anos atrás (CHIAVEGATO, 1971), mas este ácaro não tem sido considerado uma praga importante nesta cultura. Recentemente, este ácaro tem sido encontrado em altas densidades, causando dano em soja no país (GUEDES et al., 2007 e ROGGIA, dados não publicados). Esse é o primeiro estudo sobre a biologia do ácaro *M. planki*. Em algodoeiro, foram determinados os parâmetros biológicos de duas espécies consideradas pragas importantes *Tetranychus urticae* e *T. ludeni* (SILVA; PARRA; CHIAVEGATO, 1985; SILVA, 2002). Comparado com estas duas espécies, os dados obtidos para *M. planki* indicam que o potencial biótico desta espécie em algodoeiro é baixo e não deve representar uma praga potencial para o algodoeiro geneticamente modificado Bollgard®. Uma alta taxa de fuga e mortalidade dos adultos foi observada tanto no algodoeiro Bollgard® como na isolinha, o que comprometeu as análises para determinação da tabela de vida e fertilidade.

Poucos trabalhos foram feitos observando os efeitos de plantas geneticamente modificadas que apresentam os genes *cry* em ácaros fitófagos, sendo que a principal espécie investigada é *T. urticae*, e no geral, estes estudos não têm demonstrado efeitos das plantas geneticamente modificadas em ácaros fitófagos (DUTTON et al., 2002; CARTER et al., 2004; ESTEVES FILHO, 2008; LI; ROMEIS, 2010).

O algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® não alterou a duração da fase imatura e a sobrevivência de imaturos e adultos de *M. planki* em comparação com a isolinha. Esteves Filho (2008) também observou que o desenvolvimento da fase imatura e adulta e os

parâmetros reprodutivos de *T. urticae* não foram afetados pelo algodoeiro Bollgard<sup>TM</sup>. Dutton et al., (2002), observaram que o milho Bt (N4640Bt), contendo a toxina Cry1Ab que afeta certas espécies de Lepidoptera, não alterou o desenvolvimento e a sobrevivência dos períodos larvais e da fase adulta de *T. urticae*. Li e Romeis (2010) observaram que a proteína Cry3Bb1 do milho Bt (evento MON88017) que confere resistência ao milho ao ataque de *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera), não afetou as fases de desenvolvimento, os parâmetros reprodutivos e a taxa intrínseca de crescimento ( $R_m$ ) de *T. urticae*, que foi mantido por várias gerações nesta variedade transgênica.

Uma das preocupações com relação às plantas geneticamente modificadas é que com o controle das pragas alvos, como por exemplo, o controle de determinadas espécies de Lepidoptera pela toxina de *B. thuringiensis*, ocorra mudanças na estrutura da comunidade de forma que possam ocorrer surtos populacionais com herbívoros que não eram problemas para a cultura e com isso causem prejuízos econômicos no agroecossistema (SUJII et al., 2006). Com base nos resultados dos parâmetros biológicos obtidos em laboratório, pode-se inferir que as maiores densidades populacionais de *M. planki* em plantas de algodoeiro Bollgard® em algumas coletas nos experimentos de campo não devem ser devido às transformações genéticas nestas plantas.

### **2.3.2.2 Avaliação dos efeitos indiretos do algodoeiro Bt (Bollgard®) sobre o ácaro predador *Neoseiulus californicus* pela alimentação com ácaros *Tetranychus urticae* criados em planta geneticamente modificada e em sua isolinha**

#### **2.3.2.2.1 Resultados**

O período de desenvolvimento das fases imaturas de *N. californicus* alimentado com *T. urticae* criado em algodão Bollgard® e em sua isolinha foi semelhante (Tabela 15). Também não foram observadas diferenças significativas entre os dois tratamentos quanto à longevidade de machos e fêmeas e a oviposição diária e total. Os parâmetros da tabela de vida de *N. californicus*,  $R_o$ ,  $r_m$ ,  $\lambda$  e T, para os ácaros alimentados com presa criada no algodoeiro Bt e em sua isolinha foram semelhantes (Tabela 16).

A capacidade predatória de *N. californicus* que foi alimentado com *T. urticae* mantido em algodoeiro Bt não foi afetada, comparado a isolinha. Quando alimentados com baixa densidade populacional de ácaros fitófagos, os ácaros predadores consumiram  $8,63 \pm 0,17$  ácaros/dia no algodoeiro Bollgard® e  $8,46 \pm 0,21$  ácaros/dia na isolinha ( $P = 0,53$ , teste t). Quando os ácaros predadores foram alimentados com alta densidade populacional de *T. urticae*, o número médio de presas consumidas foi de  $23,84 \pm 0,73$  ácaros/dia nas duas variedades estudadas ( $P = 1,00$ , teste t). A conversão alimentar de *N. Californicus*, medida pela oviposição das fêmeas alimentadas com *T. urticae* criados nas plantas transgênicas e não-transgênicas, não foi afetada pela toxina de Bt ( $P = 0,90$ , para baixa densidade populacional e  $P = 0,22$ , para alta densidade populacional, ambos obtidos pelo teste t). O número médio de ovos de *N. californicus* colocados durante dez dias, quando este predador foi alimentado com baixa densidade populacional de *T. urticae* foi de  $9,27 \pm 0,58$  e  $9,40 \pm 0,87$  ovos/fêmea e quando alimentado com alta densidade populacional do ácaro fitófago foi de  $10,33 \pm 0,46$  e  $11,27 \pm 0,59$  ovos/fêmea em algodoeiro Bt e isolinha, respectivamente.



Tabela 15 - Duração das fases do ciclo de vida e oviposição (média  $\pm$  erro padrão) do ácaro predador *Neoseiulus californicus* alimentado com o ácaro fitófago *Tetranychus urticae* criado em algodão geneticamente modificado Bollgard® e em sua isolinha (Acala) a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $60 \pm 5\%$  UR e 12 horas de fotofase

Parâmetro	Isolinha	n <sup>1</sup>	Bollgard®	n	P
Ovo	1,90 $\pm$ 0,09	53	1,98 $\pm$ 0,09	52	0,52 <sup>2</sup>
Larva	0,80 $\pm$ 0,04	53	0,77 $\pm$ 0,06	50	0,32 <sup>3</sup>
Protoninfa	1,64 $\pm$ 0,12	53	1,62 $\pm$ 0,13	50	0,90 <sup>2</sup>
Deutoninfa	1,87 $\pm$ 0,13	42	2,13 $\pm$ 0,20	36	0,35 <sup>3</sup>
Total (ovo-adulto)	6,24 $\pm$ 0,23	42	6,53 $\pm$ 0,31	36	0,45 <sup>2</sup>
Longevidade das fêmeas	27,56 $\pm$ 1,45	16	28,87 $\pm$ 1,42	15	0,53 <sup>2</sup>
Longevidade dos machos	23,23 $\pm$ 1,49	11	21,35 $\pm$ 1,28	13	0,35 <sup>2</sup>
Oviposição Total	35,56 $\pm$ 2,01	16	34,2 $\pm$ 2,00	15	0,63 <sup>2</sup>
Oviposição/fêmea/dia	1,87 $\pm$ 0,11	16	1,81 $\pm$ 0,16	15	0,74 <sup>2</sup>

<sup>1</sup>n= número de indivíduos em cada estágio de desenvolvimento; <sup>2</sup>valor obtido pelo teste “t”; <sup>3</sup>valor obtido pelo teste de Wilcoxon.

Tabela 16 - Médias estimadas ( $\pm$  erro padrão) da tabela de vida e fertilidade de *Neoseiulus californicus* alimentado com *Tetranychus urticae*, mantido em algodoeiro transgênico (Bollgard®) e não-transgênico (Isolinha). Temperatura:  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa:  $60 \pm 5\%$  e 12 horas de fotofase

Parâmetro	Isolinha	Bollgard®	P
R <sub>0</sub> (fêmea/fêmea)	27,21 $\pm$ 1,41 <sup>1</sup>	23,53 $\pm$ 1,37	0,07
r <sub>m</sub>	0,27 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,02	0,18
$\lambda$ (fêmea/fêmea/dia)	1,31 $\pm$ 0,02	1,27 $\pm$ 0,02	0,17
T (dias)	12,04 $\pm$ 0,50	12,92 $\pm$ 1,02	0,44

<sup>1</sup> Não houve diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste “t” (p<0,05) após estimativas da variância pelo método Jackknife (SAS, 2002-2003). R<sub>0</sub> = taxa líquida de reprodução; r<sub>m</sub> = capacidade inata de aumento em número;  $\lambda$  = razão finita de aumento; (T) duração média da geração.

### 2.3.2.2.2 Discussão

Vários estudos foram conduzidos para determinar os possíveis efeitos de plantas Bt nas interações entre insetos predadores e herbívoros presas (DUTTON et al., 2002, PONSARD; GUTIERREZ; MILLS, 2002), porém, muito poucos estudos com plantas Bt foram conduzidos com ácaros predadores e ácaros fitófagos (ROVENSKÁ et al., 2005; OBRIST et al., 2006c). Os resultados aqui apresentados não indicaram nenhum efeito do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® na biologia e capacidade predatória do ácaro predador *N. californicus*, corroborando com estudos sobre a segurança desta tecnologia a outros grupos de ácaros não-alvo. Em estudo realizado com o ácaro predador *N. cucumeris*, Obrist et al. (2006c) observaram que não houve efeitos da toxina Cry1Ab nos parâmetros biológicos deste quando alimentado com *T. urticae* mantido em milho Bt (Bt11). Por outro lado, Rovenská et al., (2005) mostrou que *Phytoseiulus persimilis* em teste de livre escolha consumiu menos *T. urticae* que tinha se alimentado em berinjela transgênica contendo a toxina Cry3Bb do que aqueles que tinham consumido a variedade não-transgênica. Os autores discutem que esta alteração pode ser devido à mudança na qualidade nutricional da presa pela planta hospedeira ou ao reconhecimento da toxina na presa, ou ambos (ROVENSKÁ et al., 2005).

É conhecido que uma mesma espécie de presa quando criadas em diferentes espécies de planta hospedeira pode ter um efeito substancial no desenvolvimento, na longevidade e na fecundidade de ácaros predadores. No entanto, a toxina Cry1Ac, presente em *T. urticae*, independente da densidade populacional (alta ou baixa), não alterou o consumo e conversão alimentar expressa pela oviposição de *N. californicus*.

Na maioria dos protocolos de análise de risco de plantas geneticamente modificadas sobre organismos não-alvo, os estudos são realizados através de estágios (tiers), e no primeiro estágio são conduzido testes que representam o worst-case scenario em laboratório (tier 1). O teste toxicológico proposto é aplicável nos estudos iniciais de análise de risco, e caso sejam observados efeitos negativos é recomendável a condução de estudos em condições mais realistas em semi-campo (tier 2) e depois em campo de cultivo (tier 3) (ANDOW; ZWAHLEN, 2006; ANDOW et al., 2006; GARCIA-ALONSO et al., 2006). A análise de risco é encerrada quando não são detectados efeitos nos testes toxicológicos em cada uma das etapas. No caso de *N. californicus*, como não foram detectadas diferenças no ciclo biológico em laboratório entre as

duas variedades de algodão, então, não se espera que este ácaro predador seja afetado negativamente em campo.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O levantamento das espécies de ácaros predadores, fitófagos, edáficos e de outros artrópodes associados ao algodoeiro realizado neste estudo contribue para o conhecimento atual da fauna neste agroecossistema e será útil para futuros estudos de análise de risco de novas transformações nesta cultura.

Os resultados obtidos durante os três anos agrícolas não revelaram diferenças significativas e constantes na abundância de artrópodes que habitam as folhas, a superfície e a camada superior (0-5 cm) do solo das áreas com plantio do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® e de sua isolinha. Algumas variações transitórias observadas entre os tratamentos para alguns táxons como em Phytoseiidae, Tetranychidae e Aphidoidea provavelmente estejam relacionadas à dinâmica populacional destes organismos.

Considerando os resultados dos estudos de campo juntamente com os realizados em laboratório, este trabalho indica que tecnologia Bollgard® é segura ao ácaro fitófago *M. planki* e ao ácaro predador *N. californicus*.



## REFERÊNCIAS

- AHMAD, A.; WILDE, G.E.; ZHU, K.Y. Detectability of Coleopteran-specific Cry3Bb1 Protein in Soil and Its Effect on Nontarget Surface and Below-Ground Arthropods. **Environmental Entomology**, College Park, v. 34, n. 2, p. 385-394, 2005.
- ANDOW, D.; BARROSO, P.A.V.; FONTES, E.M.G.; GROSSI-DE-SA, M.F.; HILBECK, A.; FITT, G.P. Improving the scientific basis for environmental risk assessment through the case study of Bt cotton in Brazil. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.; FONTES, E. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI Publishing, 2006, v. 2, p. 1-20.
- ANDOW, D.A.; HILBECK, A. Science-based risk assessment for non-target effects of transgenic crops. **BioScience**, Washington, v. 54, p. 637-649, 2004.
- ANDOW, D.A.; ZWAHLEN, C. Assessing environmental risks of transgenic plants. **Ecology Letters**, Oxford, v. 9, p. 196-214, 2006.
- ARPIA, S.; FONSECA, V.L.I.; PIRES, C.S.; SILVEIRA, F.A. Non-target and biodiversity impacts on pollinators and flower-visiting insects. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.A.; FONTES, E.M.G. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI publishing, v. 2, p. 155-174, 2006.
- BAKONYI, G.; SZIRA, F.; KISS, I.; VILLÁNYI, I.; SERES, A.; SZÉKACS, A. Preference tests with collembolas on isogenic and Bt-maize. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v. 42, p. S132–S135, 2006.
- BALOG, A.; KISS, J.; SZEKERES, D.; SZENA, A.; MARKO, V. Rove beetle (Coleoptera: Staphylinidae) communities in transgenic Bt (MON810) and near isogenic maize. **Crop Protection**. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/cropro>>. Acesso em: 10 jan. 2010.
- BARETTA, D.; FERREIRA, C.S.; SOUSA, J.P.; CARDOSO, E.J.B.N. Colêmbolos (Hexapoda: Collembola) como bioindicadores de qualidade do solo em áreas com *Araucaria angustifolia*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2693-2699, 2008.
- BAUR, M.E.; BOETHEL, D.J. Effect of Bt-cotton expressing Cry1A(c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. **Biological Control**, Orlando, v. 26, p. 325-332, 2003.
- BEHAN-PELLETIER, V.M. Oribatid mite biodiversity in agroecosystems: role for bioindication. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, p. 411–423, 1999.
- BHATTI, M. A.; DUAN, J.; HEAD, G.; JIANG, C.; MCKEE, M.J.; NICKSON, T.E. PILCHER, C.L.; PILCHER, C.D. Field Evaluation of the Impact of Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) – Protected *Bt* Corn on Ground-Dwelling Invertebrates. **Environmental Entomology**, College Park, v. 34, n. 5, p. 1325-1335, 2005.

BITZER, R.J.; RICE, M.E.; PILCHER, C.D.; PILCHER, C.L.; LAM, W.F. Biodiversity and Community Structure of Epedaphic and Euedaphic Springtails (Collembola) in Transgenic Rootworm *Bt* Corn. **Environmental Entomology**, College Park, v. 34, n. 5, p. 1346-1376, 2005.

BOLLAND, H.R.; GUTIERREZ, J.; FLECHTMANN, C.H.W. **World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae)**. Leiden: Brill Academic Publishers, 1998. 392p.

CAPALBO, D.M.F.; HILBECK, A.; ANDOW, D.; SNOW, A.; BONG, B.B.; WAN, F.-H.; FONTES, E.M.G.; OSIR, E.O.; FITT, G.P.; JOHNSTON, J. Brazil and the development of international scientific biosafety testing guidelines for transgenic crops. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 83, p. 104-106, 2003.

CARTER, M.E.; VILLANI, M.G.; ALLEE, L.L.; LOSEY, J.E. Absence of non-target effects of two *Bacillus thuringiensis* coleopteran active  $\delta$ -endotoxins on the bulb mite, *Rhizoglyphus robini* (Claparède) (Acari, Acaridae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 128, p. 56-63, 2004.

CHAPMAN, M.H.; HOY, M.A. Relative toxicity of *Bacillus thuringiensis* var *tenebrionis* to the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Kock) and its predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari, Tetranychidae and Phytoseiidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 111, p. 147-154, 1991.

CHIAVEGATO, L.G. **Contribuição ao estudo dos ácaros da cultura algodoeira em algumas regiões do estado de São Paulo**. 1971. 135p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1971.

CHIAVEGATO, L.G. Flutuação de populações de ácaros na cultura algodoeira em algumas regiões do estado de São Paulo, **Bragantia**, Campinas, v. 34, n. 15, p. 241-255, 1975.

CLARK, B.W.; PHILLIPS, T.A.; COATS, J.R. Environmental fate and effects of *Bacillus thuringiensis* (Bt) proteins from transgenic crops: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, n. 53, p. 4643-4653, 2005.

CORTET, J.; GRIFFITHS, B.S.; BOHANEC, M.; DEMSAR, D.; ANDERSEN, M.N.; CAUL, S.; BIRCH, A.N.E.; PERNIN, C.; TABONE, E.; VAUFLEURY, A.; KE, X.; KROGH, P.H. Evaluation of effects of transgenic Bt maize on microarthropods in a European multi-site experiment. **Pedobiologia**, Jena, v. 51, p. 207-218, 2007.

CRECCHIO, C.; STOTZKY, G. Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound to humic acids from soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 30, p. 463-470, 1998.

CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança). **Parecer Técnico 513/2005**. Brasília, 2005. Disponível em :<<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/full/12526>>. Acesso em: out.2006.

CULIK, M.P.; ZEPPELINI FILHO, D. Diversity and distribution of collembola (Arthropoda: Hexapoda) of Brazil. **Biodiversity and Conservation**, London, v. 12, 1119–1143, 2003.

DALY, T.; BUNTIN, G.D. Effect of *Bacillus thuringiensis* Transgenic Corn for Lepidopteran Control on Nontarget Arthropods. **Environmental Entomology**, College Park, v. 34, n. 5, p. 1292-1301, 2005.

DÍAZ, A.; OKABE, K.; ECKENRODE, C.J.; VILLANI, M.G.; OCONNOR, B.M. Biology, ecology, and management of the bulb mites of the genus *Rhizoglyphus* (Acari: Acaridae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 24, p. 85–113, 2000.

DUTRA, C.C. Impacto de algodão geneticamente modificado resistente a insetos sobre a entomofauna de solo. 2009. 56p. Dissertação de (Mestrado na area de Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 2009.

DUTTON, A.; KLEIN, H.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. **Ecological Entomology**, London, v. 27, n.4, p. 441–447, 2002.

DUTTON A., KLEIN, H; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. **Biological Control**, Orlando, v. 26, p. 209–215, 2003.

ESTEVES FILHO, A.B. **Interação entre o algodoeiro Bollgard<sup>TM</sup>, o ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Kock (Acari: Tetranychidae) e o predador *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae)**. 2008. 31p. Dissertação (Mestrado na area de Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, 2008.

FARIA, C.A.; WÄCKERS, F.L.; PRITCHARD, J.; BARRETT, D.A.; TURLINGS, T.C.J. High susceptibility of Bt maize to aphids enhances the performance of parasitoids of lepidopteran pests. **PLoS ONE**, v. 7, p. 1-11, 2007. Disponível em:<<http://www.plosone.org>>. Acesso em: 21 mar. 2009.

FARIA, M.F.; LUNDGREN, J.G.; FONTES, E.M.G.; FERNANDES, O.A.; SCHMIDT, F.; NGUYEN VAN TUAT; ANDOW, D.A. Assessing the effects of Bt Cotton on Generalist Arthropod Predators. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.A.; FONTES, E.M.G. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI publishing, v. 2, p. 175-199, 2006.

FLECHTMANN, C.H.W. **Ácaros de importância agrícola**. São Paulo: Nobel. 1979. 189p.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Algodão. In \_\_\_\_\_. **Agrianual 2009: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2009. p. 403-478.



FONTES, E.M.G.; SOUZA RAMALHO, F.; UNDERWOOD, E.; BARROSO, P.A.V.; SIMON, M.F.; SUJII, E.R.; PIRES, C.S.S.; BELTRÃO, N.; LUCENA, W.A.; FREIRE, E.C. The cotton agricultural context in Brazil. IN: HILBECK, A.; ANDOW, D.A.; FONTES, E.M.G. (Ed.).

**Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil.** Wallingford: CABI publishing, v. 2, p. 21-66, 2006.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L; BAPTISTA, G.C.; FILHO, E.B.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; LOPES, J.R.S.; OMOTO. C. Pragas das plantas e seu controle. In: GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L; BAPTISTA, G.C.; FILHO, E.B.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; LOPES, J. R. S.; OMOTO. C. **Entomologia Agrícola**. 3. ed. Piracicaba: FEALQ. 2002. pt. 12, p. 397-912.

GARCIA-ALONSO, M.; JACOBS, E.; RAYBOULD, A.; NICKSON, T.E.; SOWIG, P.; WILLEKENS, H.; VAN DER, K.P.; LAYTON, R.; AMIJEE, F.; FUENTES, A.M.; TENCALLA. F. A tiered system for assessing the risk of genetically modified plants to non-target organisms. **Environmental Biosafety Research**, v. 5, p. 57-65, 2006.

GLARE, T.R.; O'CALLAGHAN, M. **Bacillus thuringiensis**: biology, ecology and safety. Chichester: John Wiley, 2000. 350p.

GONDIM JÚNIOR, M.G.C.; MORAES, G.J. Compatibilidade reprodutiva de duas populações de *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, p. 181-186, 2002.

GROOT, A.T.; DICKE, M. Insect-resistant transgenic plants in a multitrophic context. **The Plant Journal**, v. 31, n. 2, p. 387-406, 2002.

GUEDES, J.V.C.; NAVIA, D.; LOFEGO, A.C.; DEQUECH, S.T.B. Ácaros associados à cultura da soja no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 288-293, 2007.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P.S. Insetos habitantes do solo. In: GULLAN, P.J.; CRANSTON, P.S. **Os insetos**: um resumo de entomologia. São Paulo: Roca, 2007. cap. 9, p.191-202.

HASSAN, S.A.; BIGLER, F.; BOGENSCHÜTZ, H.; BOLLER, E.; BRUN, J.; CALIS, J.N.M.; COREMANS-PELSENEER, J.; DUSO, C.; GROVE, A.; HEIMBACH, U.; HELYER, N.; HOKKANEN, H.; LEWIS, G.B.; MANSOUR, F.; MORETH, L.; POLGAR, L.; SAMSØE-PETERSEN, L.; SAUPHANOR, B.; STÄUBLI, A.; STERK, G.; VAINIO, A.; VEIRE, M.V.; VIGGIANI, G.; VOGT, H. Results of the 3rd joint pesticide testing program by the IOBC WPRS-working group pesticides and beneficial organisms. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 103, p. 92-107, 1987.

HEAD, G.; MOAR, W.; EUBANKS, M.; FREEMAN, B.; RUBERSON, J.; HAGERTY, A.; TURNIPSEED, S. A multiyear, large-scale comparison of arthropod populations on commercially managed Bt and non-Bt cotton fields. **Environmental Entomology**, College Park, v. 34, n. 5, p. 1257-1266, 2005.

HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; ARPAIA, S.; BIRCH, A. N. E.; FONTES, E. M. G.; LÖVEI, G. L.; SUJII, E. R.; WHEATLEY, R. E.; UNDERWOOD, E. Methodology to support non-target and biodiversity risk assessment. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.A.; FONTES, E. M. G. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI publishing, v.2, 2006. p. 108-132.

HILBECK, A.; BAUMGARTNER, M.; FRIED, P.M.; BIGLER, F. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 27, p. 480-487, 1998.

HINDE, J.; DEMÉTRIO, C.G.B. **Overdispersion: Models and Estimation**. 1. ed. São Paulo: Associação Brasileira de Estatística, 1998. 73 p.

ICOZ, I.; STOTZKY, G. 2008. Fate and effects of insect-resistant *Bt* crops in soil ecosystems. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 40, p. 559–586, 2008.

JAMES, C. 1996. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 1996**. ISAAA Brief Ithaca: ISAAA, 1996. (ISAAA Brief, 1).

JAMES, C. 2007. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007**: ISAAA Brief. Ithaca: ISAAA, 2007. (ISAAA Brief, 37)

JAMES, C. 2008. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2008**. ISAAA Brief. Ithaca: ISAAA, 2008. (ISAAA Brief, 39).

KAPLAN, E.L., MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association*, v. 53, p. 457–481, 1958.

KRANTZ, G.W.; AINSCOUGH, B.D. Acarina: Mesostigmata (Gamasida), In: DINDAL, D.L. **Soil biology guide**. New York: John Wiley, 1990. p. 583-665.

KUIPER, H.A.; KLETER, G.A.; NOTEBORN, H.; KOK, E.J. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. **The Plant Journal**, v. 27, p. 503-528, 2001.

LI, Y.; ROMEIS, J. Bt maize expressing Cry3Bb1 does not harm the spider mite, *Tetranychus urticae*, or its ladybird beetle predator, *Stethorus punctillum*. **Biological Control** (2010), doi:10.1016/j.biocontrol.2009.12.003. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 12 jan. 2010.

LIU, X.D.; ZHAI, B.P.; ZHANG, X.X.; ZONG, J.M. Impact of transgenic cotton plants on a non-target pest, *Aphis gossypii* Glover. **Ecological Entomology**, London, v.30, p. 307-315, 2005.  
LOPES ASSAD, M.L. Fauna do solo. In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997, cap.7, p. 361-443.

LOSEY, J.E.; RAYOR, L.S.; CARTER, M.E. Transgenic pollen harms monarch larvae. **Nature**, London, v. 399, p. 214, 1999.

MAGALHÃES, M.T.Q. de. **Toxinas Cry: perspectivas para obtenção de algodão transgênico no Brasil**. 2006. 86p. Dissertação de ( Mestrado na area de Agronomia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Pelotas, 2006.

MAIA, A.H.N.; LUIZ, A.J.B. **Programa SAS para Análise de Tabelas de Vida e Fertilidade de Artrópodes: o Método Jackknife**. Comunicado Técnico 33. Jaguariúna, 2006. 11 p.

MARVIER, M. Improving risk assessment for nontarget safety of transgenic crops. **Ecological applications**, Tempe, v. 12, p. 1119-1124, 2002.

McMURTRY, J.A.; CROFT, B.A. Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 42, p. 291-321, 1997.

MENDONÇA HAGLER, L.C.; MELO, I.S. DE; VALADARES-INGLIS, M.C.; ANYANGO, B.M.; SIQUEIRA, J.O.; PHAN VAN TOAN; WHEATLEY, R.E. 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: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI publishing, v. 2, p. 225-260, 2006.

MORAES, G. J. de; McMURTRY, J.A. Phytoseiid mites (acarina) of northeastern Brazil with descriptions of four new species. **International Journal of Acarology**, Oak Park, v. 9, n. 3, p. 131-148, 1983.

MORAES, G.J. de; FLECHTMANN, C.H.W. Ácaros encontrados em diferentes espécies vegetais de importância econômica. In: MORAES, G.J. de; FLECHTMANN, C.H.W. **Manual de Acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2008. cap. 9, p. 106-208.

NARANJO, S.E. Long-term assessment of the effects of transgenic Bt cotton on the abundance of nontarget arthropod natural enemies. **Environmental Entomology**, College Park, v. 34, n. 5, p. 1193-1210, 2005.

NORTON, R.A. Acarina: Oribatida. In: DINDAL, D.L. (Ed.). **Soil Biology Guide**. New York: Wiley, 1990. p. 779-803.

NORTON, R.A. Morphological evidence for the evolutionary origin of Astigmata (Acari: Acariformes). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 22, p. 559-594, 1998.

OBRIST, L.B.; DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Biological activity of Cry1Ab toxin expressed in Bt maize following ingestion by herbivorous arthropods and exposure of the predator *Chrysoperla carnea*. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 51, p. 31-48, 2006a.

OBRIST, L.B.; DUTTON, A.; ALBAJES, R.; BIGLER, F. Exposure of arthropod predator to Cry1Ab toxin in Bt maize fields. **Ecological Entomology**, London, n. 31, p. 143-154, 2006b.

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

OLIVEIRA, A.R.; CASTRO, T.R.; CAPALBO, D.M.F.; DELALIBERA Jr., I. Toxicological evaluation of genetically modified cotton (Bollgard®) and Dipel® WP on the non-target soil mite *Scheloribates praeincisus* (Acari: Oribatida). **Experimental Applied Acarology**, Amsterdam, v. 41, p. 191–201, 2007.

OLIVEIRA, A.R.; MORAES, G.J. de; DEMÉTRIO, C.G.B.; DE NARDO, E.A.B. **Efeito do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* sobre Oribatida edáficos (Arachnida: Acari) em um campo de soja**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. 32p. (Boletim de pesquisa, 13).

OLIVEIRA, C.A.L. de. **Ação dos ácaros *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) e *Tetranychus urticae* Koch, 1836, na depreciação quantitativa e qualitativa da produção algodoeira**. 1972. 150 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1972.

PALLINI, A.; SILVIE, P.; MONNERAT, R.G.; RAMALHO, F. de S.; SONGA, J.M.; BIRCH, A.N.E. Non-target and biodiversity impacts on parasitoids. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.A.; FONTES, E.M.G. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI publishing, v.2, 2006. p. 200-224.

PEÑA, J. E; OSBORNE, L. Biological control of *Polyphagotarsonemus latus* (Acarina: Tarsonemidae) in greenhouses and field trials using introductions of predacious mites (Acarina: Phytoseiidae). **Entomophaga**, Paris, v. 41, n. 2, p. 279-285, 1996.

PETERSEN, H.; LUXTON, M. A comparative analysis of soil fauna populations and their role in decomposition processes. **Oikos**, Buenos Aires, v. 39, p. 287-388, 1982.

POLANCZYK, R.; ALVES, S. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. **Agrociência**, Chapingo, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2003.

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

REAM, J.E., SIMS, S.R.; LEACH, J.N. **Aerobic soil degradation of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-73 protein bioactivity**. St. Louis: Monsanto Company Laboratory Project MSL 13267, 1994.

ROVENSKÁ, G.Z.; ZEMEK, R.; SCHMIDT, J.E.U.; HILBECK, A. Altered host plant preference of *Tetranychus urticae* and prey preference of its predator *Phytoseiulus persimilis* (Acari:

Tetranychidae, Phytoseiidae) on transgenic Cry3Bb-eggplants. **Biological Control**, Orlando, v. 33, p. 293–300, 2005.

SALEH, S.M.; KELADA, N.L.; SHAKER, N. Control of European house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart) with *Bacillus* spp. **Acarologia**, Paris, v. 32, n. 3, p. 257-260, 1991.

SANTOS, W. J. dos. Manejo das pragas do algodão com destaque para o Cerrado brasileiro. In: FREIRE, E.C. (Ed.). **Algodão no Cerrado do Brasil**. Brasília: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão (ABRAPA). 2007. cap. 12, p. 403-478.

SAS INSTITUTE, 2002-2003. User's Manual, Version 9.1.3. SAS Institute, Cary, NC.

SATO, M.E.; SILVA, M.; GONÇALVES, L.R.; SOUZA FILHO, M.F.; RAGA, A. Toxicidade diferencial de agroquímicos a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em Morangueiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 3, p.123-145, 2002.

SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; RIE, J.V.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D.R.; DEAN, D.H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, New York, v. 62, n. 3, p. 775-806, 1998.

SEARS, M.K.; HELLMICH, R.L.; STANLEY-HORN, D.E.; OBERHAUSER, K.S.; PLEASANTS, J.M.; MATTILA, H.R.; SIEGFRIED, B.D.; DIVELY, G.P. Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: a risk assessment. **PNAS**, v. 98, n. 21, p. 11937-11942, 2001.

SHELTON, A.M.; ZHAO, J.Z.; ROUSH, R.T. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 47, p. 845-881, 2002.

SILVA, C.D. da. Biologia e exigências térmicas do ácaro-vermelho (*Tetranychus ludeni* Zacher) em folhas de algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 573-580, 2002.

SILVA, M. de A.; PARRA, J.R.P; CHIAVEGATO, L.G. Biologia comparada de *Tetranychus urticae* em cultivares de algodoeiro. I. Ciclo biológico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 7, p. 741-748, 1985.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. 1976. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo. Ceres. 419p.

SNOW, A.A.; ANDOW, D.A.; GEPTS, P.; HALLERMAN, E.M.; POWER, A.; TIEDJE, J.M.; WOLFENBARGER, L.L. Genetically modified organisms and the environment: current status and recommendations. **Ecological Applications**, Tempe, v. 15, n. 2, p. 377-404, 2005.

STOTZKY, G. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids. **Journal of Environment Quality**, v. 29, p. 691-705, 2000.

SUJII, E.R.; LÖVEI, G.L.; SÉTAMOU, M.; SILVIE, P.; FERNANDES, M.G.; DUBOIS, G.S.J.; ALMEIDA, R.P. Non-target and biodiversity impacts on non-target herbivorous pests. **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI publishing, v.2, p. 133-154, 2006.

SUJII, E.R.; TOGNI, P.H.B.; NAKASU, E.Y.T.; PIRES, C.S.S.; PAULA, D.P.; FONTES, E.M.G. Impacto do algodoeiro Bt na dinâmica populacional do pulgão-do-algodoeiro em casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p.1251-1256, 2008.

TAILOR, R.; TIPPETT, J.; GIBB, G.; PELLIS, S.; JORDAN, L.; ELY, S. Identification and characterization of a novel *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin entomocidal to coleopteran and lepidopteran larvae. **Molecular Microbiology**, Salem, v. 6, n. 9, 1211-1217, 1992.

TAPP, H.; STOTZKY, G. Dot blot enzyme-linked immunosorbent assay for monitoring the fate of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, p. 602-609, 1995.

TAPP, H.; STOTZKY, G. Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 30, n. 4, p. 471-476, 1998.

TORRES, J.B.; RUBERSON, J.R. Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. **Transgenic Research**, London, 2008.

TRAVÉ, J.; ANDRÉ, H.M.; TABERLY, G.; BERNINI, F. **Les Acariens Oribates**. Wavre: AGAR/SIALF, 1996. 110p. (Études en Acarologie, 1).

VENKATESWERLU, G.; STOTZKY, G. Binding of the protoxin and toxin proteins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on clay minerals. **Current Microbiology**, New York, v. 25, p. 225-233, 1992.

WANDELER, H.; BAHYLOVA, J.; NENTWIG, W. Consumption of two *Bt* and six non-*Bt* corn varieties by the woodlouse *Porcellio scaber*. **Basic and Applied Ecology**, Jena, v. 3, p. 357-365, 2002.

WU, K.; GUO, Y. Influences of *Bacillus thuringiensis* Berliner Cotton Planting on population dynamics of the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover, in Northern China. **Environmental Entomology**, College Park, v. 32, n. 2, p. 312-318, 2003.

YU L.; BERRY R.E.; CROFT B.A. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic cotton and potato on *Falsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Oribatidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, n. 90, p. 113-118, 1997.

ZHANG, G.F.; WAN, F.H.; GUO, J.Y.; HOU, M.L. Expression of Bt toxin in transgenic Bt cotton and its transmission through pests *Helicoverpa armigera* and *Aphis gossypii* to natural enemy *Propylea japonica* in cotton plots. **Acta Entomologica Sinica**, Peking, v. 47, p. 334-341, 2004.

ZHANG, Z. Phytoseiidae mites. In: **Mites of greenhouses: Identification, biology and control**. CABI publishing, 2003. p.171-202.

ZHONG, C.; ELLAR, D.J.; BISHOP, A.; JOHNSON, C.; LIN, S.; HART, E.R. Characterization of a *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin which is toxic to insects in three orders. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 76, p. 131-139, 2000.

# 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](#)