



TAMARA ESTEVES FERREIRA

**ÁCAROS FITÓFAGOS EM MILHO GENETICAMENTE
MODIFICADO COM O GENE DO *Bacillus thuringiensis* (*Bt*)**

**SETE LAGOAS – MG
2014**



TAMARA ESTEVES FERREIRA

**ÁCAROS FITÓFAGOS EM MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO
COM O GENE DO *Bacillus thuringiensis* (*Bt*)**

SETE LAGOAS/MG

2014

TAMARA ESTEVES FERREIRA

**ÁCAROS FITÓFAGOS EM MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO
COM O GENE DO *Bacillus thuringiensis* (Bt)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal de São João Del Rei, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antônio Matiello Fadini

Coorientador: Dr. Ivan Cruz

Coorientadora: Profa. Dr. Cidália Gabriela Santos Marinho

SETE LAGOAS/MG

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Divisão de Biblioteca da UFSJ, MG, Brasil.

- F368a
2014 Ferreira, Tamara Esteves, 1986 -
 Ácaros fitófagos em milho geneticamente modificado com o gene do
Bacillus thuringiensis (Bt) / Tamara Esteves Ferreira .-- 2014.
 42 f. : il.
- Orientador: Marcos Antônio Matiello Fadini
 Co-orientadores: Ivan Cruz
 Cidália Gabriela Santos Marinho
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de São João Del-Rei,
 Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias.
 Inclui bibliografia.
1. Milho - Cultivo - Teses. 2. Milho - Melhoramento genético - Teses.
 3. Milho - Proteína Bt - Teses. I. Fadini, Marcos Antônio Matiello. II. Cruz,
 Ivan. III. Marinho, Cidália Gabriela Santos. IV. Universidade Federal de
 São João Del-Rei. Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias. V.
 Título.

TAMARA ESTEVES FERREIRA

**ÁCAROS FITÓFAGOS EM MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO
COM O GENE DO *Bacillus thuringiensis* (Bt)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal de São João Del Rei, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antônio Matiello Fadini

Coorientador: Dr. Ivan Cruz

Coorientadora: Profa. Dr. Cidália Gabriela Santos Marinho

Sete Lagoas, 25 de fevereiro de 2014.

Banca examinadora:

Dra. Simone Martins Mendes- Embrapa- CNPMS

Prof. Dr. Marco Antônio Alves Carneiro- UFOP

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antônio Matiello Fadini-UFSJ

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Geraldo e Eunice, ouro de mina, por todo amor, incentivo e confiança, aos meus irmãos Thaís e Marcos, pelo apoio meus maiores exemplos, ao meu amado Phelippe, pelo companheirismo e apoio. Dedico e Agradeço.

AGRADECIMENTOS

Deus pelo Dom da vida, e por me permitir concluir mais uma etapa em minha caminhada.

Ao Prof. Dr. Marcos Antônio Matiello Fadini pela orientação, ensinamento, dedicação, amizade, pelo conhecimento transmitido e distinto exemplo que contribuiu para o meu desenvolvimento profissional.

Aos meus pais Geraldo Henrique Ferreira e Eunice de Fátima Esteves Ferreira, pelo amor, respeito, ensinamento e compreensão que tiveram para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos meus irmãos Thais Cristina Ferreira e Marcos Paulo Ferreira por amarem.

Ao meu amado Phelippe Passini Silva, pelo amor, atenção, companheirismo, por me dar força para continuar, por toda paciência, por acreditar em mim e simplesmente por existir em minha vida.

À UFSJ pela oportunidade da realização do mestrado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, pelos ensinamentos e apoio em especial ao Prof. Dr. Ernani Clarete e Prof. Dra. Wânia Neves pela amizade.

Ao Dr. Ivan Cruz pela amizade e por despertar e incentivar meu gosto pela entomologia.

Aos amigos do Lactri (Laboratório de Criação de Inseto- Embrapa Milho e Sorgo, pela amizade, em especial ao Rafael por confiar e ajudar na graduação e mestrado, aos técnicos, Geraldo, Zaza, Taquinho e Márcio.

À Dra. Simone pela ajuda, durante todo o desenvolvimento do experimento.

Aos técnicos do laboratório da Embrapa Milho e Sorgo, Ismael, Carlinho, Célio e Adenilson, por toda ajuda na realização dos experimentos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Milho e Sorgo, pela disponibilização de toda a infra-estrutura para que o projeto pudesse ser realizado;

Aos meus coorientadores Dr. Ivan Cruz e Profa. Cidália Gabriela Santos Marinho, pela orientação e amizade.

Aos Professores Dra. Simone Martins Mendes, Dr. Marco Antônio Alves Carneiro, Dr. Anderson Oliveira Latini por aceitarem fazer parte da banca examinadora desta dissertação.

Aos amigos de turma Alexandre, Deniete, Fernando Tinoco e Mayara, pelos bons momentos, em especial à Denize e Crísia pela amizade verdadeira e apoio.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia da UFSJ, Valéria, Paula, Pedro, André, pela ajuda e risadas.

À todos meus familiares pelo apoio.

À todos os velhos e bons amigos que contribuíram para o meu crescimento pessoal.

À Fapemig, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pela concessão da bolsa de mestrado.

Enfim a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que eu pudesse realizar mais este sonho.

Muito Obrigada

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1.INTRODUÇÃO GERAL	1
2.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
3. Artigo 1: Respostas de Ácaros fitófagos como modelo de Organismo não alvo em Milho <i>Bt</i>	10
3.1 RESUMO.....	11
3.2 INTRODUÇÃO.....	13
3.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.4 RESULTADOS.....	16
3.5 DISCUSSÃO.....	21
3.6 AGRADECIMENTOS.....	23
3.7 REFERÊNCIAS.....	24
4. Artigo 2: Preferência Alimentar e Crescimento Populacional <i>Tetranychus urticae</i> (Acari: Tetranychidae) em Milho <i>Bt</i>	26
4.1 RESUMO.....	27
4.2 INTRODUÇÃO.....	29
4.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.4 RESULTADOS.....	32
4.5 DISCUSSÃO.....	36
4.6 AGRADECIMENTOS.....	38
4.7 REFERÊNCIAS.....	39
5. CONCLUSÕES GERAIS	42

ÁCAROS FITÓFAGOS EM MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO COM O GENE DO *Bacillus thuringiensis* (*Bt*)

RESUMO - Com a crescente utilização de cultivares transgênicas de milho com o gene *bt*, organizações internacionais tem solicitado o estudo de impactos ambientais dessa tecnologia sobre solo, fauna e flora nativa. O estudo de organismos não-alvo, como ácaros, pode fornecer informações sobre os possíveis efeitos do uso de cultivares transgênicas de milho sobre o agroecossistema. A presente dissertação tem como objetivos (i) Avaliar a abundância de espécies de ácaros fitófagos em área de milho *Bt* e não *Bt*; (ii) Avaliar a taxa instantânea de crescimento e preferência alimentar de ácaros fitófagos entre plantas de milho *Bt* e não *Bt*. Espera-se que, com o desenvolvimento da presente dissertação possam-se: atender tanto demandas aplicadas de otimização do manejo integrado de pragas do milho com o uso de milho geneticamente modificado com o gene *bt*, quanto avançar nas fronteiras do conhecimento sobre o papel de defesas de planta sobre a estruturação e riqueza de espécies de artrópodes em teias alimentares em agroecossistemas. Nos testes de abundância foram encontrados 2403 e 93 indivíduos das espécies *Catarhinus tricholaenae* e *Aceria zeala*, respectivamente. Os cultivares de milho *Bt* (30F35 Hx, 30F35 Yg e Impacto Viptera) não afetaram significativamente o número médio de ácaros *C. tricholaenae* e *A. zeala* em relação a cultivar convencional. Ao avaliar a taxa instantânea de crescimento e preferência. A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) para *T. urticae* não diferiu entre as fêmeas. Fêmeas de *T. urticae* não apresentaram preferência entre as faces foliares das cultivares 30F35 Hx vs 30F35 Convencional; 30F35 Yg vs 30F35 Convencional e Impacto Viptera vs 30F35 Convencional, às 24 horas após a liberação, quanto às 48 horas de observação. A Proteína Cry presente nas variedades de milho *Bt* não afeta na abundância, a taxa instantânea de crescimento populacional e preferência alimentar de ácaros fitófagos.

Palavras-chave: Acari, organismos geneticamente modificados, defesa de plantas, Proteína *Bt*, organismos não-alvo

PHYTOPHAGOUS MITES ON MAIZE GENETICALLY MODIFIED WITH *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) GENE

ABSTRACT- With the increasing use of transgenic maize cultivars with the *bt* gene, international organizations have called for environmental impact studies of this technology on soil, native flora and fauna. The study of non-target organisms such as mites, can provide information on the possible effects of transgenic maize crops on agroecosystems. The present dissertation aims to (i) assess the abundance of phytophagous mites in a *Bt* and non-*Bt* area; (ii) evaluate the instantaneous growth rate and food preference of phytophagous mites between *Bt* and non-*Bt* maize. It is hoped that the development of this dissertation can: meet the demands applied to optimize the maize integrated pest management with the use of maize genetically modified with the *bt* gene, as well as advance the frontiers of knowledge on the role of plant defenses on structure and species richness of arthropods in agroecosystems food webs. In abundance tests, 2403 and 93 individuals of the species *Catarhinus tricholaenae* and *Aceria zeala*, respectively, were found. The *Bt* maize cultivars (30F35 Hx, 30F35 Yg and Impacto Viptera) did not significantly affect the average number of *C. tricholaenae* and *A. zeala* mites compared to the conventional cultivar. When evaluating the instantaneous rate of growth and feeding preference the instantaneous rate of population growth (r_i) for *T. urticae* did not differ among females. Females of *T. urticae* showed no preference between the leaf surfaces of cultivars 30F35 Hx vs 30F35 Conventional; 30F35 Yg vs Conventional 30F35 and Impacto Viptera vs 30F35 Conventional at 24 hours after release, regarding the 48-hours of observation. The Cry protein present in *Bt* maize varieties does not affect the abundance, the instantaneous rate of population growth and food preference of phytophagous mites.

Keywords: Acari, geneticamente modified organisms, plant defense, *Bt* protein, non-target organisms

1. INTRODUÇÃO

As plantas se protegem contra fitófagos por meio de defesas constitutivas e induzidas, que reduzem a ação dos fitófagos. Nas defesas constitutivas, a planta expressa resistência de forma contínua e não depende da presença ou ação de fitófagos, enquanto que nas defesas induzidas, as defesas se expressam somente após a injúria, podendo atuar direta ou indiretamente sobre os fitófagos (Price et al., 1980).

Nas defesas constitutivas, as plantas podem desenvolver características estruturais que atuam, por exemplo, como uma barreira mecânica, proporcionando dureza e rigidez, dificultando a locomoção e a alimentação pelo fitófago. Nestas, estão inclusas estruturas como tricomas, depósitos cuticulares, maior espessura da epiderme, a abundância de cristais, fibras e a disposição destas estruturas e tecidos na folha, dentre outras (Becerra, 1994). As defesas induzidas ocorrem em resposta ao ataque dos fitófagos, caracterizadas pelo incremento em metabólitos secundários ou proteínas associadas à defesa, que afetam diretamente os fitófagos, ou indiretamente, atraindo inimigos naturais de tais fitófagos mediante a liberação de voláteis (Ament et al., 2004). As emissões de voláteis têm sido reportadas para algumas espécies de plantas (Fadini et al., 2010) e estão envolvidas nas interações tróficas entre plantas e insetos, principalmente, entre lagartas e plantas, ácaros fitófagos e ácaros predadores (Dicke et al., 2000). O estudo das defesas de plantas é básico para o desenvolvimento de métodos de controle de pragas por meio de resistência em sistemas agrícolas e dentre as defesas constitutivas de plantas se encontram as plantas geneticamente modificadas (GM).

Plantas GM que expressam genes com atividade inseticida representam uma alternativa para o controle de insetos pragas mastigador, além de serem consistentes com a filosofia do manejo integrado de pragas (MIP) (Prokopy, 1994). As primeiras gerações de plantas GM resistentes a insetos mastigadores foram desenvolvidas com genes codificadores de proteínas inseticidas do entomopatógeno *Bacillus thuringiensis Bt* (Fischhoff et al.; 1987). A bactéria *Bt* é o organismo mais utilizado como fonte de genes para a transformação de plantas visando à resistência, principalmente, à lepidópteros e coleópteros (Perlak et al., 2001). Atualmente, culturas como soja, milho, algodão, batata e fumo, têm sido modificadas geneticamente, para expressar as proteínas derivadas da bactéria *Bt*, e são utilizadas em escala comercial em vários países, atingindo cerca de 102 milhões de hectares (James, 2012).

As Proteínas de *Bt* são expressas em altas doses nos tecidos verdes das plantas GM (Koziel et al., 1993). As proteínas ao serem expressas ficam expostas aos demais fitófagos não-alvos e aos seus inimigos naturais (Dutton et al., 2002). Embora Herrero et al., (2001), discutam que tais proteínas são altamente tóxicas e específicas, por isso inócuas para a maioria dos outros organismos, incluindo insetos benéficos, as plantas GM contendo gene *bt* interagem com os organismos não-alvo dos diferentes níveis tróficos, pois as culturas abrigam não somente os insetos pragas, mas também outros artrópodes, os quais desempenham papel importante na regulação das populações de pragas (Schuler et al., 1999). A interação planta, fitófago e predadores é chamada de interação tritrófica, em que a planta representa o primeiro nível trófico, o fitófago ou inseto praga, o segundo nível e os inimigos naturais, o terceiro nível (Schuler et al., 1999). Algumas dúvidas em relação à transferência da proteína têm despertado o interesse dos pesquisadores entre elas estão: há possibilidade das plantas GM afetarem os organismos não-alvo de diferentes níveis tróficos (e.g. fitófagos e predadores) e há evolução da resistência de pragas às proteínas de *B. thuringiensis* (Obrist et al., 2006a).

As plantas GM, como o milho (*Zea mays* L) que expressam a Proteína *Bt*, podendo ser considerada como uma tática adicional para o controle de insetos pragas com eficácia semelhante aos inseticidas convencionais, além de serem compatíveis com os princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Paoletti & Pimentel, 2000). As principais vantagens do uso do milho GM são: redução de aplicação de inseticidas e aumento na produção (Huang et al., 2002). A produtividade das lavouras do milho é afetada pela ação de pragas. A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), é praga primária da cultura do milho no Brasil causando sérios prejuízos à produção (Cruz, 1995). A cultura do Milho ocupa a maior extensão entre todas as lavouras no Brasil, com área de plantio em torno de 15 milhões de hectares e produção estimada em 71,1 milhões de toneladas (CONAB, 2012).

Fitófago considerado não alvo da Proteína do milho *Bt*, como o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) uma das mais importantes pragas polívoras de hortaliças e outras culturas (Capinera, 2001; Opit et al., 2004; Liburd et al., 2007). O ácaro-rajado *Tetranychus urticae* é conhecido como uma das maiores pragas em muitas culturas, ele pode ser encontrado em plantas de numerosas espécies (Bolland et al., 1998). Infestações causadas por *T. urticae* podem resultar em queda das folhas, diminuição do vigor e morte da planta (Kranz et al., 1977). *T. urticae* é uma praga comum de maçãs, cerejas e

frutas podem infestar folhas e sugar fluidos a partir das células e podem desfolhar árvores (Beers et al., 1993).

O ácaro-rajado pode causar infestações nas folhas de plantas GM e convencionais, mas o *T. urticae* não é alvo de plantas modificadas com a Proteína *Bt*, o que pode acarretar modificações adaptativas nos ácaros e em seus inimigos naturais ao longo das gerações. Li & Romeis (2010) avaliaram o possível efeito da Proteína *Bt* ao longo da cadeia alimentar de *T. urticae* e seu inimigo natural o besouro predador *Stethorus punctillum* Weize (Coleoptera: Coccinellidae), onde nenhum efeito adverso da Proteína *Bt* expressada em milho sobre *T. urticae* e seu predador *S. punctillum* foi detectado.

As proteínas presentes em plantas GM podem ser adquiridas e concentradas pelos ácaros fitófagos. (Dutton et al., 2002) verificou que, comparando a outros herbívoros mastigadores e sugadores alimentados com milho *Bt*, *T. urticae* apresentou a maior quantidade da toxina. A proteína permanece biologicamente ativa nos ácaros de acordo com Obrist et al., (2006). Dutton et al., (2002) verificou que ocorreu decréscimo na taxa de crescimento da população de *T. urticae* criada em milho *Bt*, comparada com a população mantida na variedade de milho não *Bt*. As plantas transgênicas podem afetar o comportamento dos ácaros fitófagos, quando submetidos a estudos de preferência. Fêmeas adultas de *T. urticae* preferiram a variedade de berinjela (*Solanum melongena*) que expressam a Proteína Cry3Bb que a convencional. Além disso, *T. urticae* também apresentou maior taxa de oviposição nesta variedade transgênica (Rovenská et al., 2005).

Vários trabalhos têm estudado insetos, entretanto um número reduzido foi realizado sobre os efeitos de plantas *Bt* sobre ácaros fitófagos (Dutton et al., 2002; Lozzia, 1999; Lozzia et al., 1998; Pilcher et. al., 1997). O ácaro-rajado apresenta susceptibilidade a formulações comerciais de *Bt* e capacidade em adquirir e manter Proteínas *Bt* da planta hospedeira no seu corpo (Dutton et al, 2002). Tem-se questionado sobre o possível efeito dessa proteína sobre seus predadores (Torres & Ruberson, 2008). É provável que a proteína possa ser transferida dos ácaros para o terceiro nível trófico, ou seja, os predadores. Os principais questionamentos estão há possibilidade das plantas GM afetarem os organismos não-alvo de diferentes níveis tróficos e há possibilidade de evolução de resistência de pragas à Proteína de *Bt*, pois as plantas irão expressar a Proteína de *Bt* durante o ciclo da cultura (Tabashnik, 1994).

O milho *Bt*, expressa Proteínas Cry1F e Cry1Ab, onde confere resistência ao ataque de vários de lepidópteros (Peixoto, 1999), o que reduz significativamente os danos causados por

essas espécies em lavouras (Chilcutt et al., 2007). Além das proteínas inseticidas expressas por genes *cry*, existem as Proteínas Vip3a (Proteínas Inseticidas Vegetativas) (Impacto Viptera), onde conferem resistência ao ataque de lepidópteros, que também são produzidas através de cepas de *Bt* em sua fase vegetativa (Bernardi et al., 2012). Estas proteínas atuam de modo semelhante àquele utilizado pelas Proteínas Cry, porém suas propriedades de ligação aos sítios no intestino médio dos insetos são diferentes, o que reduz as possibilidades de resistência cruzada entre Proteínas Cry e VIP (Hardke et al., 2011). Esta dissertação tem como objetivo avaliar, no capítulo I a abundância e riqueza de espécies de ácaros fitógagos em lavouras de milho GM contendo o gene *bt*, expressando as Proteínas Cry1Ab (30F35 Yg) e Cry1F (30F35 Hx) Vip3a (Impacto Viptera).

Para tanto, serão realizados levantamento da riqueza e abundância espécies de ácaros em plantios de milho no campo. No capítulo II avaliar-se-á a preferência alimentar e a taxa instantânea de crescimento de *Tetranychus urticae* entre plantas de milho *Bt*, expressando as Proteínas Cry1Ab, Cry1F e Vip3a e isogênico não *Bt*. Para tanto serão realizados testes em laboratório. Este é o primeiro estudo a ser realizado com ácaros em milho no Brasil.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICA

AMENT, K.; KANT, M.R.; SABELIS, M.W.; HARING, M.A.; SCHUURINK, R.C. **Jasmonic acid is a key regulator of spider mite-induced volatile terpenoid and methyl salicylate emission in tomato.** Plant Physiology, Rockville, v.135, p.2025- 2037, 2004.

BECERRA, J.X. **Squirt-gun defense in Bursera and the chrysomelid counterploy.** Ecology. v.75, p.1991-1996, 1994.

BERNARDI, O.; MALVESTITI, G.S.; DOURADO, P.M.; OLIVEIRA, W.S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G.U; HEAD, G.P.; OMOTO, C. **Assessment of the high – dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil.** Pest. Manag. Sci. v.68, p.1083-1091, 2012.

BEERS, E.H.; BRUNNER, J.F.; WILLETT, M.J.; WARNER, G.M. **Orchard pest management: a resource book for the pacific northwest.** Good Fruit Grower, Yakima, WA. 1993.

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

CAPINERA, J.L. **Hand book of Vegetable Pests.** Academic Press, New York, p.729, 2001.

CHILCUTT, C. F.; ODVODY, G.N.; CORREA, J. C; REMMER, J. **Effects of *Bacillus thuringiensis* transgenic corn on corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) densities.** Journal of Economic Entomology. v.100, p. 327-334, 2007.

CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, nono levantamento, junho 2012 /** Companhia Nacional de Abastecimento. – Brasília : Conab, p.20-22, 2012

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho.** EMBRAPA /CNPMS, Sete Lagoas, p.45, 1995.

DICKE, M.; SCHUTTE, C.; DIJKMAN, H. **Change in behavioral response to herbivore-induced plant volatiles in a predatory mite population.** Journal of Chemical Ecology, New York, v.26, p.1497-1514, 2000.

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. v.27, p.441–447, 2002.

FADINI, M. A. M.; MENDES, S. M.; ARAUJO, O. G.; WAQUIL, J. M. **Os ácaros são pragas do milho no Brasil?** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 14p. (Série Documentos, 113). 2010

FISCHHOFF, D. A.; BOWDISH, K. S.; PERLAK, F. J.; MARRONE, P. G.; MCCORMICK, S.M.; NIEDERMEYER, J. G.; DEAN, D. A.; KRETZMER, K. K.; MAYER, E. J.; ROCHESTER, D. E.; ROGERS, S. G.; FRALEY, R. T. **Insect tolerant transgenic tomato plants.** Biotechnology, London, v.5, p.807-813, 1987.

HARDKE, J. T.; LEONARD, B. R.; HUANG, F.; JACKSON, R. E. **Damage and survivorship of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic field corn expressing *Bacillus thuringiensis* Cry proteins.** Crop Prot. 30: 168–172, 2011.

HERRERO, S.; OPPERT, B.; FERRÉ, J. **Different mechanisms of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in the indianmeal moth.** Applied and Environmental Microbiology, Washington, v.67, n.3, p.1085-1089, 2001.

HUNG, J.; ROZELLE, S.; PRAY, C.; WANG, Q. **Plant biotechnology in China.** Science. v.295, p.674-677, 2002.

JAMES, C. **Global review of commercialized transgenic crops: 2006**. ISAAA (Briefs, 36: Preview). Ithaca: ISAAA, p.20, 2012.

KRANZ, J., SCHMUTTERER, H.; KOCH, W. **Diseases, Pests and Weeds in Tropical Crops**. Paul Parey, Berlin, Germany, 1977.

KOZIEL, M.G.; BELAND, G.L.; BOWMAN, C.; CAROZZI, N. B.; CRENSHAW, R.; CROSSLAN, L.; DAWSON, J.; DESAI, N.; HILL, M.; KADWELL, S.; LAUNIS, K.; MADDOX, D.; MCPHERSON, K.; MEGHJI, M. R.; MERLIN, E.; RHODES, R.; WARREN, G. W.; WRIGT, M.; EVOLA, S.V. **Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis***. *Biotechnology*, v.11, p.194-200, 1993.

LOZZIA, G.C.; FURLANIS, C.; MANACHINI, B.; RIGAMONTI, I. E. **Effects of Bt-corn on *Rhopalosiphum padi* L. (Rhynchotha Aphididae) and on its predator *Chrysoperla carnea* Stephen (Neuroptera, Chysopidae)**. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*. Ser. II,v. 30, p.153-164, 1998.

LOZZIA, G.C. **Biodiversity and structure of ground beetle assemblages (Coleoptera, Carabidae) in Bt corn and its effect on non target insects**. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*. Ser. II, v.31,p. 37-58,1999.

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*. San Diego 53, p.337–344, 2010.

LIBURD, O. E.; WHITE, J. C.; RHODES, E. M.; BROWDY, A. A. **The residual and direct effects of reduced-risk and conventional miticides on two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), and predatory mites (Acari: Phytoseiidae)**. *Florida Entomologist*. v.90, 249-257,2007.

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

OBRIST, L.B.; DUTTON, A.; ALBAJES, R.; BIGLER, F. **Exposure of arthropod predators to Cry1Ab toxin in Bt maize fields**. *Ecological Entomology*. v.31, p. 1–12, 2006a.

OPIT, G. P.; NECHOLS, J. R.; MARGOLIES, D. C. **Biological control of twospotted spider mites *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), using *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari:Phytoseiidae) on ivy geranium: assessment of predator release ratios**. *Biological Control*. v.29, p.445-452, 2004.

PAOLETTI, M. G.; PIMENTEL, D. **Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control**. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. v.12, p.279-303, 2000.

PEIXOTO, C. DE M. **Tudo o que você gostaria de saber sobre OGMs**. *Cultivar*. v.1, p. 8-10, 1999

PERLAK, F.J.; OPPENHUIZEN, M.; GUSTAFSON, K.; VOTH, R.; SIVASUPRAMANIAM, S.; HEERING, D.; CAREY, B. R.; Ihrig, A.; ROBERTS, J. K.; **Development and commercial use of Bollgard cotton in the USA – early promises versus today reality**. *Plant Science*. v.27, p.489-501, 2001.

PRICE W. S.; BOULTON, C.E.; GROSS, P.; MCPHERON, B. A.; THOMPSON, J.N.; WEIS, A.E. **Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies**. *Annual Review of Ecology Systems*, v.11, p.41-65, 1980.

PILCHER, C.D.; OBRYCKI, J.J.; RICE, M.E.; LEWIS, L.C. **Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis*.** Environmental Entomology. v. 26, p.446-454, 1997.

PROKOPY, R. J. **Integration in or chard pest and habitat management: are view.** Agric. Agriculture, Ecosystems & Environment. v.50, p.1–10, 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.

SCHULER, T.H.; POPPY, G.M.; KERRY, B.R.; DENHOLM, I. **Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies.** Trands in Biotechnology, Cambridge, v.17, p.210-215, 1999.

TABASHNIK, B.E. **Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*.** Annual Review of Entomology, v.39, p.47-79, 1994.

TORRES, J.B.; RUBERSON, J.R. **Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans.** Transgenic v.17, p.345-54, 2008.

Artigo para submissão ao Periódico Neotropical Entomology

Tamara Esteves Ferreira

Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas-MG

tamaraeferreira@yahoo.com.br

Respostas de Ácaros Fitófagos Como Modelo de Organismo Não Alvo em Milho *Bt*

FERREIRA, T.E¹; FADINI M.A.M¹; CRUZ, I²; MARINHO, C.G.S¹.

¹Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas-MG

² Embrapa Milho e Sorgo, Sete lagoas- MG

Responses of Phytophagous Mites as Non-Target Organism Model in *Bt* Maize

Resumo

Plantas de milho possuem grande diversidade de espécies fitófagas. Existem, entretanto, poucos estudos sobre abundância de ácaros fitófagos especificamente em milho transgênico. O presente trabalho objetivou avaliar a abundância espécies de ácaros fitófagos em lavouras de milho *Bt* e milho convencional. Testou a hipótese nula que Proteína Cry, presente no milho *Bt*, não afetaria abundância dos ácaros fitófagos. Entre os meses de junho de 2013 a setembro de 2013 foram coletadas, quinzenalmente, três amostras aleatórias de quatro folhas em talhões de milho não *Bt* 30F35, em variedades de milho *Bt* expressando a Proteína Cry Cry1Ab (30F35 Yg) e Cry1F (30F35 Hx) Vip3a (Impacto Viptera) em áreas experimentais da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. A triagem foi realizada sob microscópio estereoscópico, cada amostra de folhas foi vistoriada por 15 minutos na região nervura central em busca de adultos de ácaros fitófagos. Foram encontrados 2403 e 93 indivíduos das espécies *Catarhinus tricholaenae* e *Aceria zeala*, respectivamente. Sendo que, para *C. tricholaenae*, foram registrados 563 indivíduos em folhas de milho de cultivar não *Bt* 30F35, 1840 indivíduos em folhas de milho *Bt* nas cultivares 30F35 Hx, 30F35 Yg, e Impacto Viptera. Para *A. zeala* foram registrados 23 indivíduos em folhas de milho de cultivar não *Bt* 30F35, 70 indivíduos em folhas de milho de cultivar não *Bt* 30F35, 1840 indivíduos em folhas de milho *Bt* nas cultivares 30F35 Hx, 30F35 Yg, e Impacto Viptera. Os cultivares de milho *Bt* 30F35 Yg (Cry1Ab), 30F35 Hx (Cry1F) e Impacto Viptera (Vip3a), não afetaram significativamente o número médio de ácaros *C. tricholaenae* e *A. zeala* em relação a cultivar convencional. A Proteína Cry presente nas variedades de milho *Bt* não afeta na abundância e de ácaros fitófagos.

Palavras-Chaves: Microácaro, Proteína Cry, agroecossistema, entomologia agrícola, variedades *Bt*

Abstract

Maize plants have a wide range of phytophagous species. There are, however, few studies on the abundance of phytophagous mites specifically in transgenic maize. This study aimed to evaluate the abundance of phytophagous mites in *Bt* maize and conventional maize. We tested the null hypothesis that Cry Protein, present in *Bt* maize did not affect the abundance of phytophagous mites. Between the months of June 2013 to September 2013, three random samples of four leaves were collected every two weeks in non-*Bt* maize 30F35 plots, in varieties of *Bt* maize expressing the Cry Protein Cry1Ab (30F35 Yg) and Cry1F (Hx 30F35) Vip3a (Impacto Viptera) in experimental areas of Embrapa Maize and Sorghum, Sete Lagoas, MG. The screening was carried out under a stereoscopic microscope, each leaf sample was inspected for 15 minutes in the midrib region for adult phytophagous mites. 2403 individuals and 93 species of *Catarhinus tricholaenae* and *Aceria zeala* were found, respectively. 563 individuals of *C. tricholaenae* were recorded on maize leaves of the non-*Bt* 30F35 cultivar, 1840 individuals on leaves of *Bt* maize cultivars 30F35 Hx, 30F35 Yg, and Impacto Viptera. For *A. zeala* 23 individuals were recorded on maize leaves of non-*Bt* 30F35 cultivar, 70 individuals on maize leaves non-*Bt* 30F35 cultivar, 1840 individuals on *Bt* maize leaves of cultivars 30F35 Hx, 30F35 Yg, and Impacto Viptera. The *Bt* maize cultivars 30F35 Yg (Cry1Ab), 30F35 Hx (Cry1F) and Impacto Viptera (Vip3a) did not significantly affect the average number of *C. tricholaenae* and *A. zeala* mites compared to the conventional cultivar. The Cry Protein present in *Bt* maize varieties does not affect the abundance of phytophagous mites.

Key Words: Micromite, Cry Protein, agroecosystems, agricultural entomology, *Bt* varieties

Introdução

Com o advento da engenharia genética, diversas plantas cultivadas estão sendo transformadas com a introdução de genes que conferem resistência às pragas. A bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) é, sem dúvida, o organismo mais utilizado como fonte de genes para transformação de plantas, visando à transgenia e resistência às pragas (Perlak *et al* 2001). No caso do milho, através de técnicas de biologia molecular, gene da bactéria *bt*, que codifica a Proteína Cry foi introduzido em plantas, dando origem ao milho *Bt*, conferindo diferentes padrões de resistência às espécies de lepidópteros-praga (Waquil *et al* 2002).

As Proteínas Cry podem ser concentradas no organismo dos artrópodes após serem ingeridos, como é o caso de ácaros fitófagos (Nunes 2010). Trabalhos realizados com milho *Bt* mostraram que, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) é susceptível a formulações comerciais de *Bt*, sendo capaz de adquirir e manter Proteínas Cry1Ab de milho *Bt* (Dutton *et al* 2003). Obrist *et al* (2006) avaliaram os efeitos da Proteína Cry1Ab sobre o ácaro predador *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae) alimentado com ácaro-rajado *T. urticae* com milho *Bt* e não-*Bt*, a mortalidade, tempo de desenvolvimento e taxa de oviposição não foram afetados pela Proteína *Bt*.

Os ácaros fitófagos são pragas importantes em várias culturas agrícolas, pois provocam injúrias que resultam em perdas econômicas, apesar disto, a literatura técnica que recomenda estratégias de manejo de pragas na cultura do milho (*Zea mays* L.) não faz referência a registros de populações de ácaros que alcançaram o estado de praga (Fadini *et al* 2010). Levantamentos da incidência de espécies e estudos sobre ácaros como pragas na cultura do milho são escassos. Moraes & Flechtmann (2008), registraram-se as seguintes espécies de ácaros infestando o milho: microácaro-da-face-inferior-das-folhas-de-milho,

Catarhinus tricholaenae Keifer (Diptilomiopidae); microácaro-de-ambas-as-faces-das-folhas-de-milho, *Aceria zeala* (Keifer) (Eriophyidae); ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae); ácaro-verde *Oligonychus zae* (McGregor) (Tetranychidae) e *Aceria tosichella* Keifer (Eriophyidae).

A umidade, insolação e a temperatura ocasionam problemas com ácaros, pois podem influenciar diretamente nas atividades de oviposição, alimentação, crescimento, desenvolvimento e reprodução (LAM *et al* 2001). As chuvas causam um impacto mecânico de suas gotas sobre os ácaros, influenciando na densidade populacional desses organismos, os insetos que pelo impacto direto da chuva são arrastados (Picanço 2010)

Apesar de apresentarem pouca importância como pragas do milho no Brasil, os ácaros podem ser organismos indicadores de ocasionais efeitos de cultivares transgênicas sobre organismos não alvos na comunidade de artrópodes (Fadini *et al* 2012). Assim, é necessário avaliar a abundância de espécies de fitófagos não alvo em agroecossistemas.

Sendo a tecnologia de milho *Bt* direcionada para o controle de lagartas e não para ácaros fitófagos, é pequeno o número de estudos que investiga as interações de ácaros fitófagos-plantas (Shiojiri *et al* 2002, Dorn *et al* 2003). Em levantamentos de espécies de ácaros realizados em cultivos de milho *Bt* e não *Bt* têm-se registrado as espécies *C. tricholaenae* e *A. zeala* em maior abundância (Fadini *et al* 2010, 2012). Além dessas espécies, tem-se observado uma espécie de ácaro da família Phytoseiidae ainda não identificada. Os estudos dessas espécies, fitófagas e predadoras, com foco na estrutura de teia alimentar possibilitará a identificação de interações entre esses artrópodes não alvo e a planta. (Fadini *et al* 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência de ácaros fitófagos em cultivares transgênicas de milho *Bt* contendo as Proteínas Cry e em sua variedade não *Bt*. Testou-se a

hipótese nula de que a defesa da planta, conferida pelas Proteínas do milho *Bt*, não afetaria abundância de ácaros fitófagos na cultura.

Material e Métodos

Durante o período de 12 de junho de 2013 a 19 de setembro de 2013, foram coletadas, quinzenalmente, amostras de folhas de milho *Bt* e não *Bt* talhão (100m²), em quatro parcelas de 72 linhas x 50 metros; espaçamento entre linhas: 70cm; densidade de plantio: 05 sementes/metro; adubação de plantio: 300 kg/ha do formulado 8-28-16+zn; adubação de cobertura: 250 kg/ha de uréia. Chuvas presentes das datas 03/06 e 04/06/2013 com precipitação 9.2mm e 1.2mm. Foi utilizado cultivares de milho não *Bt*, 30F35 e milhos *Bt* 30F35 Hx, 30F35 YG e Vip3a Impacto Viptera no período de safrinha em área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, Minas Gerais (19°28' latitude sul e longitude 44°15'08" W GrW), Localizado no Pivô 01. Foram coletadas 3 amostras por talhão aleatoriamente onde cada amostra continha 4 folhas. Cada amostra contendo quatro folhas de milho foi acondicionada em saco de papel, as três amostras de cada variedade foram acondicionadas em sacos de plástico e levado ao Laboratório Entomologia Agrícola da Universidade Federal de São João Del Rei, *campus* Sete Lagoas, para triagem sob microscópio estereoscópico. Cada amostra de folhas foi triada individualmente por 15 minutos em busca de ácaros fitófagos na região da nervura central da face abaxial da folha, onde os ácaros são encontrados com maior frequência. Esse procedimento padronizou o esforço amostral por amostra das folhas. Foi avaliada a ocorrência e a crescimento populacional dos indivíduos adultos de ácaros fitófagos sobre os quatro cultivares de milho, uma não *Bt* 30F35, e três contendo a Proteínas Cry1Ab, (30F35 Yg) e Cry1F (30F35 Hx) Vip3a (Impacto Viptera).

Os espécimes encontrados foram montados em lâmina com meio de Hoyer (Moraes & Flechtmann 2008) e as melhores montagens foram enviadas para confirmação da identificação taxonômica. Lâminas com espécimes de *C. tricholaenae* montados encontram-se armazenadas no Laboratório de Entomologia Agrícola da Universidade Federal de São João Del Rei, *campus* Sete Lagoas.

Injúrias causadas, por insetos mastigadores presentes nas folhas foram contadas para cada amostra, para avaliar o efeito da Proteína *Bt*, presentes nas folhas de milho.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado tendo como tratamento as cultivares de milho e as unidades amostrais o conjunto de quatro folhas de milho. Para análise dos dados foi utilizada análise de variância em parcela subdividida tendo com a parcela principal o fator cultivar de milho e, na sub-parcela, o tempo de coleta das unidades amostrais a 5% de significância (Crawley 2007). Foi utilizado o programa estatístico R (R Development Core Team 2011) para a análise dos dados.

Resultados

As espécies de ácaro fitófagos encontrados em folhas de milho foram *Catarhinus tricholaenae* Keifer (Acari: Diptilomiopidae) e *Aceria zeala* (Keifer) (Acari: Eriophyidae), sendo a primeira espécie a mais abundante. Não foram encontradas espécies de ácaros predadores. A abundância de adultos de *C. tricholaenae* em folhas de milho totalizou 2403, sendo que 563 em folhas de milho de cultivar não *Bt*, 1840 indivíduos em folhas de milho *Bt* (Cry1Ab (30F35 Yg) 582 indivíduos, Cry1F (30F35 Hx) 584 indivíduos e Vip3a (Impacto Viptera) 674 indivíduos). As maiores abundâncias populacionais de ácaros ocorreram nos meses de agosto e setembro, após 60 dias de experimento, período de estiagem.

Os cultivares de milho *Bt* (Cry1Ab (30F35 Yg) e Cry1F (30F35 Hx) Vip3a (Impacto Viptera) não afetaram o número médio de ácaros *C. tricholaenae* em relação à cultivar convencional (30F35) (g.l.= 3; F= 0,36; p= 0,78). Este resultado sugere que a Proteína Cry, presente nas plantas milho *Bt*, não afetou a abundância de *C. tricholaenae*. O fator tempo afetou a abundância de *C. tricholaenae* (g.l.= 7; F= 50,3; p<0,01) (Fig 1).

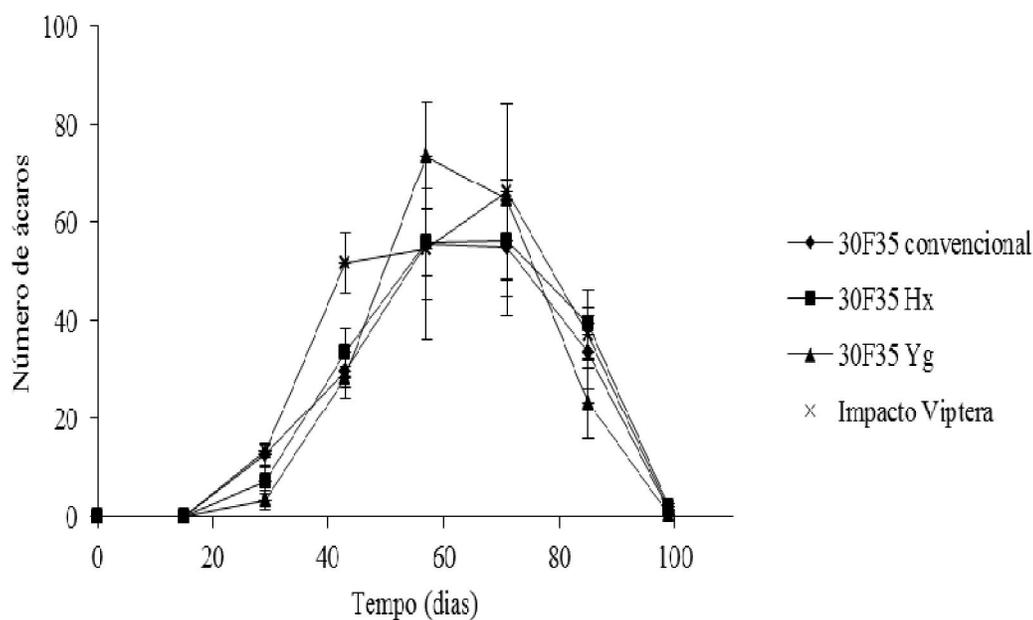


Figura 1. Número médio (\pm erro padrão) de ácaros *Catarhinus tricholaenae* em milho convencional (30F35) e em milho *Bt* Cry1Ab (30F35 Yg), Cry1F (30F35 Hx) e Vip3a (Impacto Viptera). Sete Lagoas, MG. 2013.

Os cultivares de milho *Bt* expressando Cry1Ab (30F35 Yg), Cry1F (30F35 Hx) e Vip3a (Impacto Viptera) também não afetaram o número médio de ácaros *Aceria zeala* em relação a cultivar convencional (30F35) (g.l.= 3; F= 1,12; p= 0,39), como foi observado para

C. tricholaenae. O fator tempo afetou a abundância de *A. zeala* (g.l.= 7; F= 28,0; p<0,01). Este resultado demonstra que a Proteína Cry, presente nas variedades de milho *Bt*, também não afetou a abundância de *A. zeala* (Fig 2). Foram coletados 93 indivíduos adultos de *A. zeala*, sendo que 23 indivíduos foram encontrados em folhas de milho de cultivar não *Bt*, 70 indivíduos em folhas de milho *Bt* Cry1Ab (30F35 Yg) 19 indivíduos, Cry1F (30F35 Hx) 21 indivíduos e Vip3a (Impacto Viptera) 30 indivíduos.

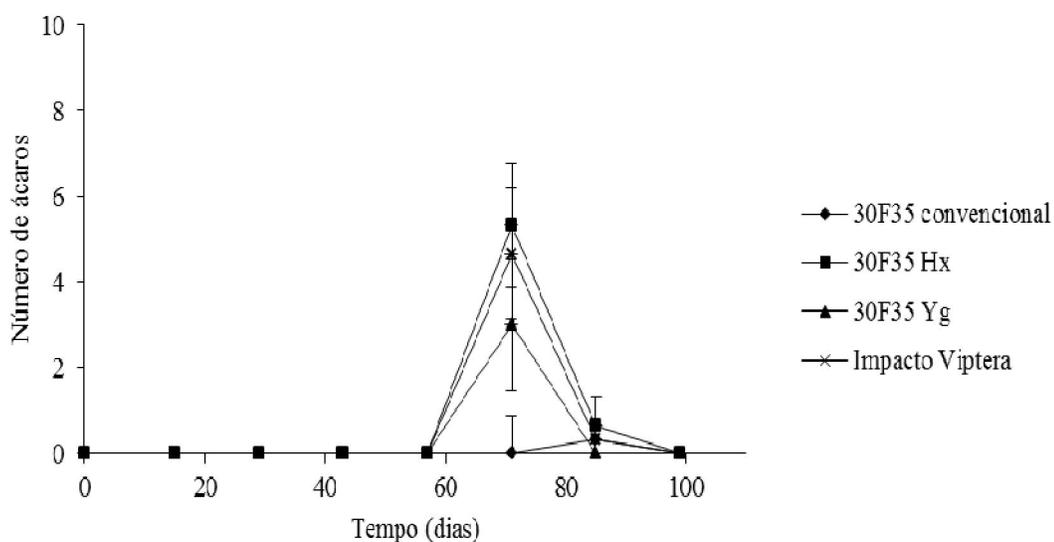


Figura 2. Número médio (\pm erro padrão) de ácaros *Aceria zeala* em milho convencional (30F35) e em milho *Bt* Cry1Ab (30F35 Yg), Cry1F (30F35 Hx) e Vip3a (Impacto Viptera). Sete Lagoas, MG. 2013.

Apesar de não terem afetado a abundância de *C. tricholaenae* e de *A. zeala*, as cultivares de milho *Bt* Cry1Ab (30F35 Yg), Cry1F (30F35 Hx) e Vip3a (Impacto Viptera) apresentaram menor número médio de injúrias provocadas por insetos mastigadores em relação a cultivar convencional (30F35). Isto demonstra que a Proteína Cry, presente nas

plantas milho *Bt*, apesar de não afetar a abundância de ácaros fitófagos, afetou negativamente a abundância de insetos mastigadores (Fig 3), como esperado. Este resultado demonstra ainda que a fonte de variação, imposta no experimento em relação ao controle, foi significativa sobre os grupos de fitófagos mastigadores que tiveram sua atividade alimentar reduzida.

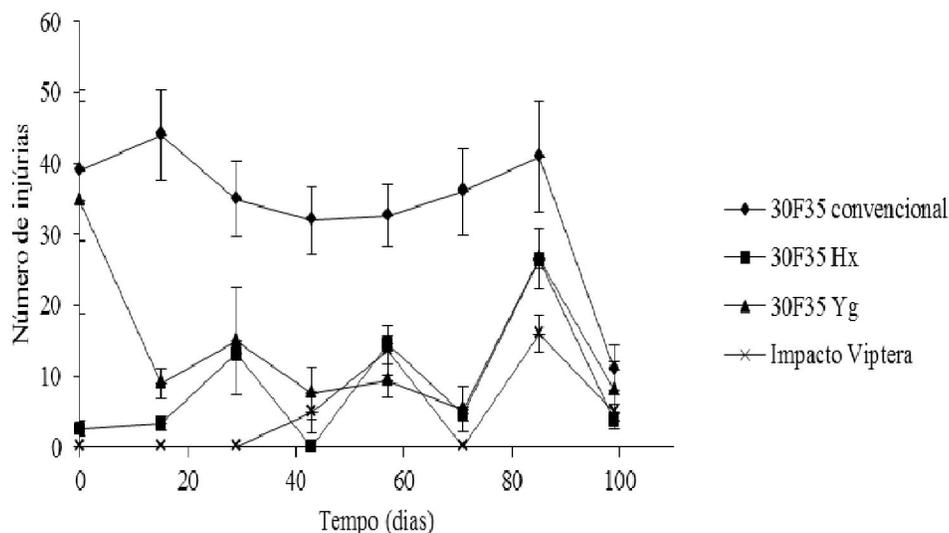


Figura 3. Número médio (\pm erro padrão) de injúrias provocadas por lepidópteros em milho convencional (30F35) e em milho *Bt* Cry1Ab (30F35 Yg), Cry1F (30F35 Hx) e Vip3a (Impacto Viptera). Sete Lagoas, MG. 2013.

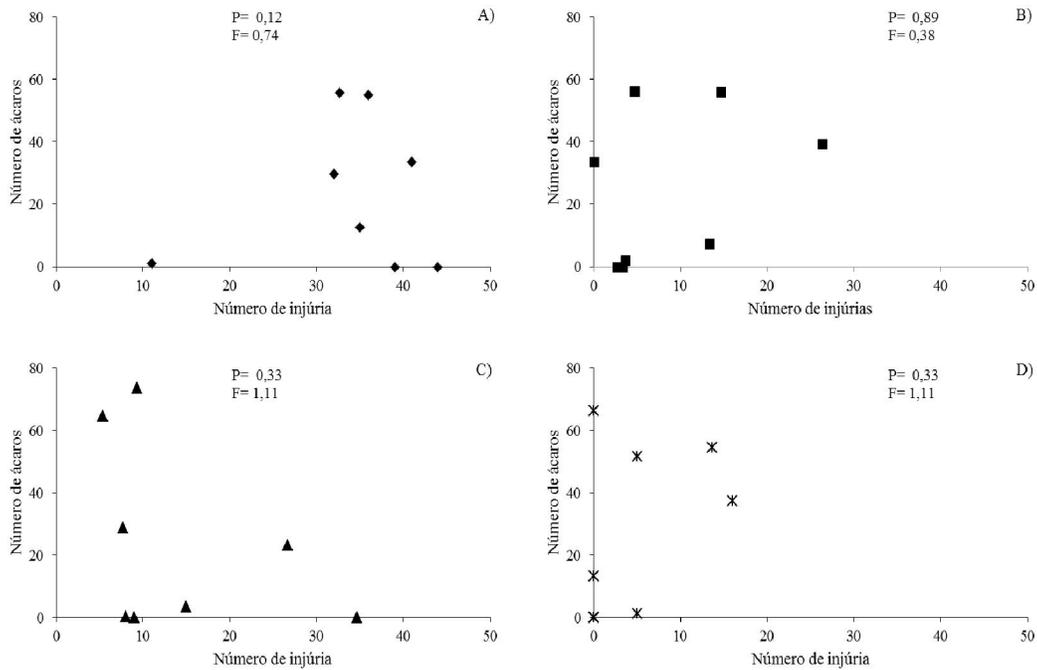


Figura 4. Relação entre número médio de injúrias provocadas por insetos mastigadores e número médio de ácaros *Catarhinus tricholaenae* em milho convencional [(30F35, A)] e em milho *Bt* [(30F35 Hx, B); (30F35 Yg, C); e Impacto Viptera, D)]. Sete Lagoas, MG. 2013.

Não foi observada relação entre o número médio de injúrias provocado por insetos mastigadores (e.g. lepidópteros) e o número médio de ácaros *C. tricholaenae*. Os valores de F [(A:F=0,74);(B:F=0,38);(C:F=1,11);(D:F=1,11)] e P [(A:P=0,12); (B:P=0,89); (C:P=0,33); (D:P=0,33)] das análises de variância das regressões lineares simples foram não significativos (Fig 4), indicando a inexistência de relação entre as variáveis estudadas.

Discussão

Foram encontradas, associadas às plantas de milho, duas espécies de ácaros fitófagos, *Catarhinus tricholaenae* e *Aceria zeala*. O número médio de indivíduos de *C. tricholaenae* coletados no campo não diferiu estatisticamente entre as variedades de milho *Bt* Cry1Ab (30F35 Yg), Cry1F (30F35 Hx) e Vip3a (Impacto Viptera) e a variedade não *Bt* 30F35 Convencional. Este resultado demonstra que a Proteína Cry não afetou a dinâmica populacional *C. tricholaenae* sendo específica para defesa contra lepidópteros. Fadini *et al* (2012) encontram que as médias populacionais de *C. tricholaenae* na cultivar que expressa a Proteína Cry1Ab foram menores quando comparadas as demais cultivares avaliadas. Este resultado foi inesperado, devido à especificidade da Proteína Cry para o controle de lagartas, esperando um efeito semelhante das variedades sobre a abundância de ácaros.

As cultivares de milho *Bt* Cry1Ab (30F35 Yg), Cry1F (30F35 Hx) e Vip3a (Impacto Viptera) também não afetaram a abundância de *A. zeala*, de forma semelhante ao encontrado para *C. tricholaenae*. Este resultado pode ser devido à especificidade da Proteína Cry contra insetos mastigadores, onde a Proteína Cry se liga a receptores específicos na superfície celular no epitélio do intestino médio dos insetos. A ligação da proteína com receptores no intestino médio do inseto leva à formação de poros nas membranas causando lise do intestino e, conseqüentemente, a morte dos insetos (Glare & O'Callaghan 2000). Este fato sugere que os ácaros fitófagos não apresentam receptores específicos para a Proteína Cry, ao se alimentarem diretamente da planta a Proteína Cry não afeta a abundância dos ácaros.

As médias do número de ácaros estimadas em cada data de amostragem em área total, para folha, mostraram maior densidade populacional do ácaro *C. tricholaenae* e ocorreram nos meses de agosto e setembro. Essas ocorrências podem estar associada à baixa precipitação neste período, Estes resultados corroboram com Moraes & Flechtmann (2008), que afirmam

que a comunidade de ácaros fitófagos relaciona-se a períodos quentes e secos, pois em condições de baixa umidade relativa do ar, os ácaros têm atividade alimentar intensificada, pois precisam ingerir maior quantidade de líquido para compensar a perda de água, favorecendo o crescimento populacional.

As cultivares de milho *Bt* Cry1Ab (30F35 Yg), Cry1F (30F35 Hx) e Vip3a (Impacto Viptera) apresentaram menor número médio de injúrias provocadas por insetos mastigadores comparados com a cultivar convencional (30F35). Este resultado demonstra que a Proteína Cry que expressa nas plantas de milho *Bt*, afeta negativamente a abundância de insetos mastigadores devido a sua seletividade, reduzindo danos causados à planta com sua alimentação. Os resultados desse estudo também indicaram que não houve impacto significativo do milho *Bt* nas duas espécies não-alvo coletadas.

Tais resultados corroboram com pesquisas sobre o efeito de plantas GM em organismos não alvo, ao se avaliar a abundância de espécies de organismos não alvos à tecnologia *Bt*, para o controle de pragas como lagartas. O número médio de injúrias provocado por mastigadores não teve relação com o número médio de ácaros *C. tricholaenae*, a fenologia da planta não afetou a abundância de ácaros encontrados. Fato demonstra que ácaros fitófagos não são susceptíveis à Proteína Cry, quando comparado com os resultados, onde as variedades de milho *Bt* afetaram o número de injúrias causadas por mastigadores. Embora Fadini *et al* (2012) observaram que a fenologia da planta afetou a abundância de ácaros *C. tricholaenae*, pelo fato de as plantas maiores terem suportado maior número de ácaros até o estágio de senescência, no qual a qualidade dos recursos alimentares para os ácaros é reduzida.

Este estudo teve como hipótese testar o efeito das cultivares *Bt* sobre avaliação do crescimento populacional de ácaros fitófagos no campo, visto que são escassos trabalhos do

efeito da Proteína Cry sobre organismos não alvos. Hipótese do efeito da Proteína Cry para crescimento populacional de ácaros fitófagos em ambiente controlado deverá ser realizado para fornecer informações de como esse tipo de defesa de plantas age sobre ácaros fitófagos. Assim, a defesa da planta, conferida pelas Proteínas Cry do milho *Bt*, não afeta a abundância de ácaros fitófagos na cultura.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (**FAPEMIG**) pelo apoio financeiro ao projeto, pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor.

Referências

- Crawley MJ (2007) The R Book. Chichester (UK): John Wiley & Sons, Ltd, 942p.
- Dorn B, Mattiacci L, Bellotti AC, Dorn S (2003) Effects of a mixed species infestation on the cassava mealybug and its encyrtid parasitoids. *Biol Control* 27:1-10
- Dutton A, Klein H, Romeis J, Bigler F (2003) Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. *Biol Control* 26: 209-215
- Fadini MAM, Mendes SM, Araujo OG, Waquil JM (2010) Os ácaros são pragas do milho no Brasil? Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 14p. (Série Documentos, 113).
- Fadini MAM, Araujo OG, Mendes SM, Marinho CGS (2012) Ocorrência do ácaro fitófago *Catarhinus tricholaenae* Keifer (Acari: Diptilomiopidae) em cultivares de milho *Bt*. *Cienc. Rural* 42:1524-1527
- Glare TR, O'Callaghan M (2000) *Bacillus thuringiensis*: Biology, Ecology, and Safety. John Wiley & Sons, Chichester, 350p.
- Lam WKF, Pedigo LP, Hinz PN (2001) Population dynamics of bean leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in Central Iowa. *Environmental Entomology*, Lanham 6: 562-567
- Moraes GJ, Flechtmann CHW (2008) Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos, 288p.
- Nunes DH (2010) Efeitos do algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard®) em organismos não-alvo. Piracicaba, SP. 211f. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo. USP-Esalq
- Obrist LB, Klein H, Dutton A, Bigler F (2006) Assessing the effects of Bt maize on the predatory mite *Neoseiulus cucumeris*. *Exp Appl Acarol* 38:125-139

- Perlak FJ, Oppenhuizen M, Gustafson K, Voth R, Sivasupramaniam S, Heering D, Carey BR, Ihrig A, Roberts JK (2001). Development and commercial use of Bollgard cotton in the USA – early promises versus today reality. *Plant Science*. 27:489-501
- Picanço MC (2010) Manejo integrado de pragas. Viçosa, MG: UFV.146 p
- R Development Core Team. R: (2011) A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <http://www.R-project.org>.
- Shiojiri K, Takabayashi J, Yano S, Takafuji A (2002) Oviposition preferences of herbivores are affected by tritrophic interaction webs. *Ecology Lett*. 5: 186-192
- Waquil JM, Villela FMF, Foster JF (2002) Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (*Bt.*) à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. 1:1-11

Artigo para submissão ao Periódico Neotropical Entomology

Tamara Esteves Ferreira

Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas-MG

tamaraferreira@yahoo.com.br

**Preferência Alimentar e Crescimento Populacional de *Tetranychus urticae* (Acari:
Tetranychidae) em Milho *Bt***

FERREIRA, T.E¹; FADINI M.A.M¹; CRUZ, I²; MARINHO, C.G.S¹.

¹Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas-MG

² Embrapa Milho e Sorgo, Sete lagoas- MG

**Food Preference and Population Growth of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)
in *Bt* Maize**

Resumo

O desenvolvimento de ácaro fitófago é influenciado pela espécie de planta utilizada como hospedeira. Assim, a planta hospedeira pode afetar a escolha de fêmeas do ácaro fitófago *Tetranychus urticae* por sítios de alimentação. Isto é, o local o qual a fêmea adulta opta sobreviver e depositar seus ovos sobre a planta hospedeira. Objetivo-se avaliar a taxa instantânea de crescimento (ri) e a preferência alimentar de *T. urticae* sobre faces de cultivares de milho *Bt* e não *Bt*. Testou-se a hipótese nula de que *T. urticae* não apresentaria diferença na taxa instantânea de crescimento e a preferência alimentar entre cultivares de milho *Bt* e isogênicos não *Bt*. Para avaliar (ri), foram cortados 30 discos de folhas de 3 cm de diâmetro, obtidos da parte central de folhas medianas de cultivares de milho *Bt* (30F35 Hx, 30F35 Yg e Impacto Viptera) e não *Bt* de 30F35, e inseridos cinco fêmeas de *T. urticae*. Para testar a preferência alimentar foram cortados 30 discos de folhas de 3 cm de diâmetro de faces foliares de cultivares de milho *Bt* e não *Bt* (Impacto Viptera vs 30F35; 30F35 HX vs 30F35; 30F35 YG vs 30F35) unidas por fita adesiva na face abaxial. A taxa instantânea de crescimento populacional (ri) para *T. urticae* não diferiu quando fêmeas foram mantidas sobre discos de foliares das cultivares de milho *Bt* e não *Bt*. Fêmeas de *T. urticae* não apresentaram preferência entre as faces foliares das cultivares 30F35 Hx vs 30F35; 30F35 Yg vs 30F35 e Impacto Viptera vs 30F35, às 24 horas após a liberação, quanto às 48 horas de observação após a liberação. A similaridade na taxa instantânea de crescimento e na preferência alimentar entre as faces de milho *Bt* e não *Bt* sugere que a Proteína Cry não afeta a taxa instantânea de crescimento e a preferência alimentar de *T. urticae*.

Palavra Chave: Ácaro fitófago, transgenia, preferência alimentar, Proteína *Bt*, escolha

Abstract

The development of phytophagous mites is influenced by the plant species used as host. Thus, the host plant may affect the choice of the phytophagous mite *Tetranychus urticae* females feeding site choices i.e., the place which the adult female chooses survive and lay eggs on the host plant. The objective was to evaluate the instantaneous growth rate (ir) and feeding preferences of *T. urticae* on surfaces of *Bt* and non-*Bt* maize cultivars. We tested the null hypothesis that *T. urticae* does not present difference in instantaneous growth rate and food preference between *Bt* maize cultivars and isogenic non-*Bt*. To evaluate (ir), 30 leaf discs of 3 cm in diameter, obtained from the central part of middle leaves of *Bt* maize cultivars (30F35 Hx, 30F35 Yg and Impacto Viptera) and non-*Bt* 30F35, were cut and five *T. urticae* female were inserted. To test food preference 30 disks of 3 cm diameter were cut from leaf surfaces of maize cultivars *Bt* and non-*Bt* (Impacto Viptera vs 30F35; 30F35 HX vs 30F35; 30F35 YG vs 30F35) joined by adhesive tape on the abaxial face. The instantaneous population growth rate (ir) of *T. urticae* did not differ when females were maintained on leaf discs of maize cultivars *Bt* and non-*Bt*. *T. urticae* females showed no preference between the leaf surfaces of cultivars 30F35 Hx vs 30F35; 30F35 Yg vs 30F35 e Impacto Viptera vs 30F35 at 24 hours after release, regarding the 48-hour observation period after release. The similarity in the instantaneous growth rate and food preference between the surfaces of *Bt* and non-*Bt* maize suggests that the Cry Protein does not affect the instantaneous growth rate and food preference for *T. urticae*.

Keywords: phytophagous mite, transgenics, instantaneous growth rate, *Bt* protein, choice

Introdução

Os genes de diferentes subespécies de *Bacillus Thuringiensis* (*Bt*) Berliner que codificam Proteínas cristal (Cry) foram incorporados a várias plantas cultivadas para desenvolver novas variedades que são total ou parcialmente resistentes a pragas específicas, entre essas plantas *Bt*, o mais popular é o milho transgênico levando o gene cry1Ab de *B. thuringiensis* para o controle de lepidópteros (Koziel *et al* 1993). Os potenciais efeitos das plantas transgênicas sobre meio ambiente e, especificamente, sobre os organismos não-alvo, é tema de grande preocupação. Esta avaliação tornou-se obrigatória na maioria dos países onde há utilização de culturas geneticamente modificadas na agricultura (Romeis & Meissle 2011).

A qualidade da planta hospedeira pode afetar parâmetros biológicos e comportamentais dos fitófagos, especificamente, o desenvolvimento do ácaro *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) pode ser afetado pela planta hospedeira, assim como pode ocorrer variação intraespecífica em função dos diferentes genótipos utilizados nos cultivos comerciais (Krips *et al* 1998, Greco *et al* 2006, Van Den Boom *et al* 2003). Existem estudos que comparam o desenvolvimento de *T. urticae* em espécies e cultivares de plantas de importância econômica, como em algodoeiro *Gossypium hirsutum* (Silva *et al* 1985, Esteves Filho *et al* 2010), morangueiro *Fragaria x ananassa* (Lourenção *et al* 2000), tomateiro *Lycopersicon* spp. (Maruyama *et al* 2002) e gérbera *Gérbera jamesonii* (Silva *et al* 2009).

Em condições controladas ou mesmo em campo os trabalhos realizados até o momento não avaliaram os possíveis efeitos sub-letais das Proteínas Cry ao longo de gerações ou indiretos, através da planta e comportamentais, na biologia e comportamento de *T. urticae* (Hoy *et al* 1998). O efeito da Proteína *Bt* em plantas transgênicas sobre ácaros somente foi estudada usando a variedade transgênica do milho *Bt* expressando Cry1Ab proteína ativa para

lepidópteros (Dutton *et al* 2002, Lozzia *et al* 2000). Ambos concluíram que há efeitos de milho *Bt* em *T. urticae*. Embora Dutton *et al* (2002), tenha observado uma diminuição na taxa de crescimento de ácaros criados no milho *Bt*. No entanto, as plantas transgênicas expressando Proteínas Cry, podem ter adversos efeitos sobre os inimigos naturais dos ácaros, *T. urticae* alimentando-se de milho *Bt* foram encontrados grandes quantidades de Proteína Cry1Ab (Dutton *et al* 2002, Head *et al* 2001, Raps *et al* 2001). Esses estudos são importantes para a confecção de tabelas de vida e fertilidade que agregam informações sobre parâmetros reprodutivos e de mortalidade, permitindo a compreensão da dinâmica populacional de determinadas espécies de insetos ou ácaros (Silveira Neto *et al* 1976).

As informações existentes na literatura sobre a interação da Proteína Cry em ácaros fitófagos são escassas e necessárias. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar se a exposição da Proteína Cry, presente no milho *Bt*, afeta taxa instantânea de crescimento populacional e a preferência alimentar do ácaro fitófago *T. urticae*.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida em estufa incubadora do tipo BOD, à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. A preferência alimentar e taxa instantânea de crescimento de fêmeas adultas de ácaro fitófago *T. urticae* foram avaliadas em quatro cultivares de milho, uma não *Bt* 30F35, e três contendo a Proteínas Cry 1F, (30F35 Hx), Cry 1Ab (30F35 Yg) e Vip3a (Impacto Viptera).

Criação de *T. urticae*. Os ácaros foram coletados em plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) cultivadas em vasos plásticos de 5L, contendo solo arenoso e mantidos em casa-de-vegetação. Os ácaros também foram criados em laboratório, em folhas milho não transgênico em copos

plásticos com água. Apesar do ácaro *T. urticae* não ser uma praga-chave na cultura do milho, esta espécie foi utilizada como modelo biológico para testar a hipóteses do trabalho.

Taxa Instantânea de Crescimento de *T. urticae*. Foram utilizados discos de folhas de 3 cm de diâmetro, obtidos da parte central de folhas medianas do milho *Bt* e não-*Bt*. Os discos foram recortados e colocados, individualmente, com a face abaxial (inferior) voltada para cima em placas de Petri de 3 cm de diâmetro, no interior da placa foi inserido um pedaço de algodão embebido em água para manter a folha úmida e evitar a fuga dos ácaros. Na porção mediana da folha foram liberadas, com auxílio de pincel, cinco fêmeas fecundadas de *T. urticae*, obtidas da criação e mantidos em incubadora BOD. Após 96 h avaliaram-se o número de fêmeas e o número de ovos depositados em cada disco. Foram utilizados os quatro tratamentos de variedade de *Bt* vs não *Bt*: *Bt* (30F35 Hx), Cry 1Ab (30F35 Yg) e Vip3a (Impacto Viptera) e não-*Bt* 30F35 em 30 repetições (150 fêmeas por tratamento).

O efeito das cultivares sobre a biologia de *T. urticae* foi avaliado pela taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) com a equação abaixo (Stark *et al* 1997):

$$r_i = \ln(N_f/N_0)/t$$

Onde N_0 é o número inicial de indivíduos na população teste e N_f é o número final de indivíduos (contando ovos e formas imaturas) na população ao final do intervalo de tempo, t . Valores positivos de r_i indicam que a população está em crescimento, valores de r_i igual à zero indica que a população está estável e valores negativos de r_i indicam declínio da população (Stark *et al* 1997).

Preferência alimentar de *T. urticae*. Foram utilizados discos de folhas de 3 cm de diâmetro, obtidos da parte central de folhas medianas do milho uma não *Bt* 30F35, e três contendo a Proteínas Cry 1F, (30F35 Hx), Cry 1Ab (30F35 Yg) e Vip3a (Impacto Viptera). Os discos foram recortados e conectados por meio de fita plástica adesiva, com as faces *Bt* e não *Bt* adjacentes, de forma que, tanto a face *Bt* quanto a face não *Bt* estavam presentes em ambos os lados do disco. Os discos foram colocados individualmente com a face abaxial (inferior) voltada para cima, em placas de Petri de 3 cm de diâmetro, sobre um pedaço de algodão embebido em água para de manter a folha úmida. Na porção mediana da fita plástica adesiva foi liberada, com auxílio de pincel, uma fêmea fecundada de *T. urticae* proveniente da criação e mantidos em incubadora BOD. Após 24h e 48h avaliou-se o a preferência alimentar e número de ovos depositados em cada disco. Foram utilizados três tratamentos *Bt* vs não-*Bt* (Impacto Viptera (transgênica) x 30F35 Convencional, 30F35 HX (transgênica) x 30F35 Convencional e 30F35 YG (transgênica) x 30F35 Convencional) em 30 repetições (30 fêmeas por tratamento). Os resultados foram avaliados por análise de variância e pelo teste qui-quadrado com $p < 0,05$ (Crawley 2007) utilizando-se o pacote estatístico R (R Development Core Team, 2011).

Resultados

A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) para *T. urticae* não diferiu quando fêmeas foram mantidas sobre discos de folhas das variedades de milho convencional (30F35) e *Bt* (30F35 Hx, 30F35 Yg e Impacto Viptera) ($g.l.= 116$; $F= 1,32$; $p=0,27$, Fig 1). Este resultado demonstra que a Proteína Cry, presente nas cultivares de milho *Bt*, não afetou a taxa de crescimento populacional do ácaro fitófago *T. urticae*.

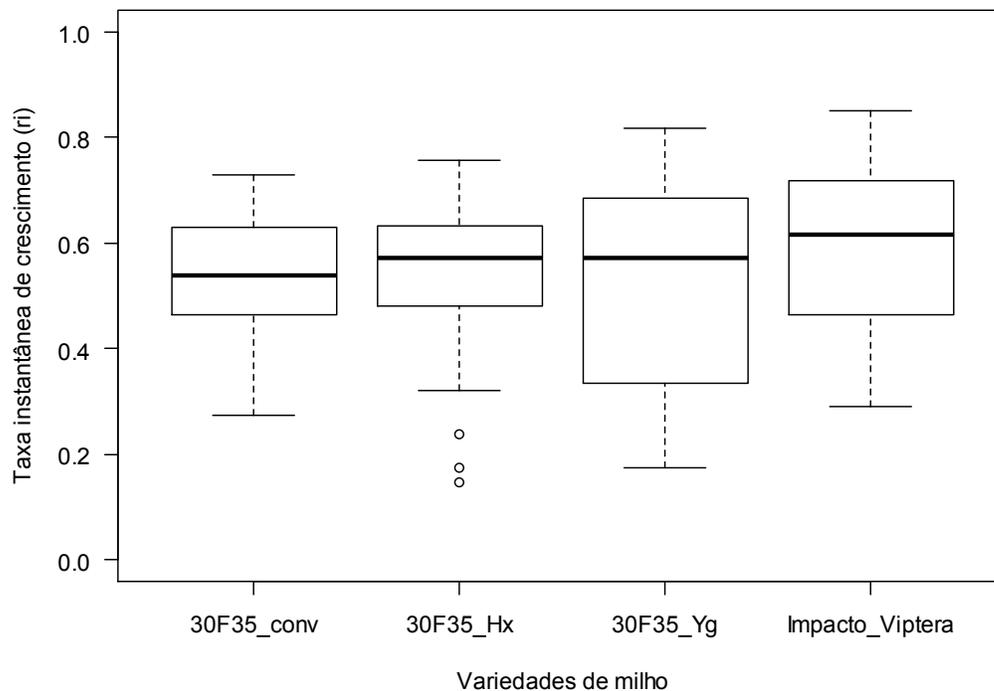


Figura 1. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de *Tetranychus urticae* sobre discos de folhas de milho convencional (30F35) e em milho *Bt* (30F35 Hx, 30F35 Yg e Impacto Viptera).

A preferência do ácaro fitófago *T. urticae* por faces foliares para alimentação e oviposição não foi afetada pelas variedades de milho *Bt* (30F35 Hx, 30F35 Yg e Impacto Viptera) quando comparada à 30F35 Convencional: 30F35 Hx vs 30F35 (g.l.=16; $\chi^2= 0,53$; $p= 0,47$); 30F35 Yg vs 30F35 (g.l.=16; $\chi^2=0,25$; $p= 0,65$) e Impacto Viptera vs 30F35 (g.l.= 17; $\chi^2= 0,00$; $p= 1$) após 24 horas da liberação das fêmeas (Fig 2).

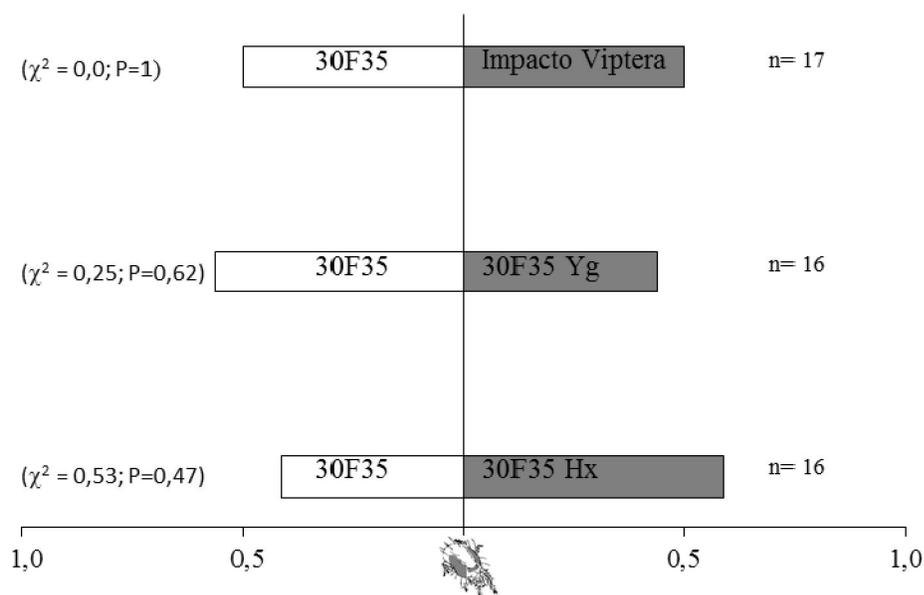


Figura 2. Preferência alimentar de ácaros fitófagos *Tetranychus urticae* para as variedades de milho (30F35 convencional, 30F35 Hx, 30F35 Yg, Impacto Viptera) após 24 horas de experimento.

Após 48 horas da liberação das fêmeas do ácaro fitófago *T. urticae* nas faces foliares para a preferência dos ácaros, não foi afetada pelas variedades de milho *Bt* (30F35 Hx, 30F35 Yg e Impacto Viptera) vs 30F35, 30 F35 Hx vs 30F35 (g.l.= 21; $\chi^2= 0,05$; p= 0,83); 30F35 Yg vs 30F35 (g.l.= 19; $\chi^2= 0,05$; p= 0,82) e Impacto Viptera vs 30F35 (g.l.= 18; $\chi^2= 0,22$; p= 0,62) (Fig 3). Estes resultados demonstram que a Proteína Cry, presente nas variedades de milho *Bt*, não afetou o forrageamento de *T. urticae* por faces foliares de milho.

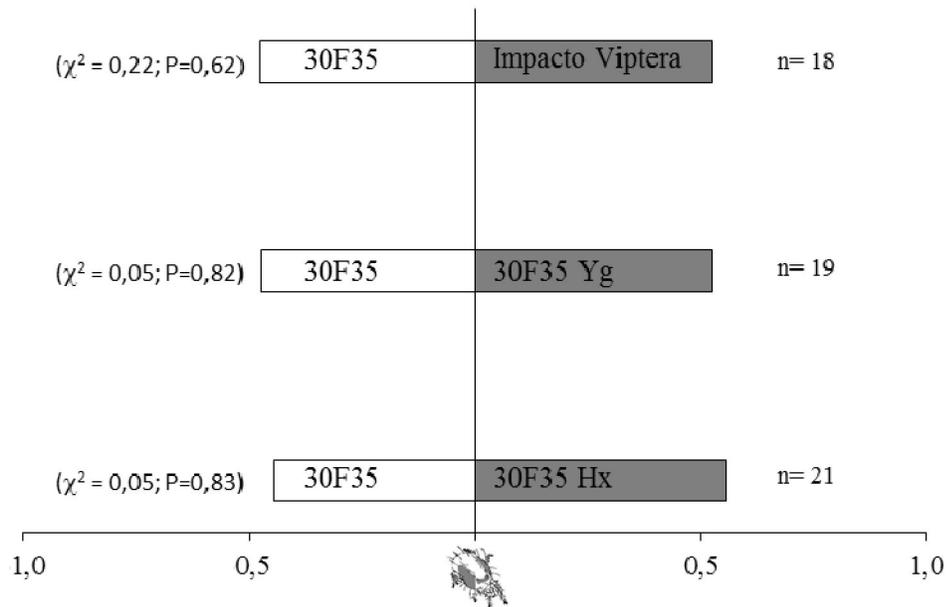


Figura 3. Proporção de indivíduos de *Tetranychus urticae* que escolheram face abaxial de folhas de milho convencional (30F35) e em milho *Bt* (30F35 Hx, 30F35 Yg e Impacto Viptera), após 48 horas de liberação.

Após 24h, 52 indivíduos de *T. urticae* foram recuperados sobre os discos foliares e foram recuperados 58 indivíduos de *T. urticae* após 48h de experimento. Os indivíduos restantes estavam sobre a água e não foram incluídos no cálculo da preferência. Apesar da perda, o número de indivíduos registrado sobre de preferência alimentar foi satisfatório.

Discussão

Não houve diferença significativa na taxa instantânea de crescimento (ri) para fêmea de ácaros *T. urticae* mantidas em discos de folhas das variedades de milho *Bt* e não *Bt*, ao serem submetidos no ambiente sem escolha de alimento. Este resultado sugere que a Proteína Cry presente nas cultivares de milho *Bt* (30F35 Hx, 30F35 Yg e Impacto Viptera) não afeta a taxa instantânea de crescimento e a preferência alimentar de fêmeas *T. urticae* ao se alimentarem de plantas de milho *Bt*. A não variação na taxa instantânea de crescimento populacional entre os tratamentos pode estar relacionada a características fisiológicas da planta hospedeira, onde o valor nutritivo da planta é um fator determinante na escolha dos ácaros fitófagos, conferido por certos compostos secundários, a Proteína *Bt* em plantas de milho poderia promover mudanças em compostos secundários das plantas, e dessa forma a diferença da composição dos compostos secundários, poderiam alterar a atratividade das plantas. Entretanto esses possíveis efeitos não foram observados nesse estudo.

Awmack & Leather (2002) sugerem que a qualidade da planta hospedeira é fator determinante para o desempenho de um fitófago, pois é sabido que alterações na fisiologia e bioquímica da planta afetam diretamente a fecundidade desses fitófagos. Estes autores demonstraram que a Proteína Cry, presente nas plantas *Bt*, não afetou o crescimento populacional de ácaros *T. urticae*.

Nos testes de preferência alimentar, não houve diferença nas combinações de livre escolha dos ácaros *T. urticae* entre as variedades 30F35 Hx vs 30F35, 30F35 Yg vs 30F35, Impacto Viptera vs 30F35. O ácaro *T. urticae* não apresentou preferência entre as faces foliares de *Bt* e não *Bt* tanto às 24 horas quanto às 48 horas após a liberação. A não preferência entre as faces foliares das cultivares *Bt* e não *Bt* de milho sugere que a presença das Proteínas Cry nas plantas também não afeta a escolha de sítios de alimentação por *T.*

urticae. Ou seja, a variedade de milho não afetou forrageamento do ácaro *T. urticae* por faces foliares.

A Proteína Cry produzida pelo milho *Bt* não afetou a escolha por alimentos pelos ácaros *T. urticae*. Semelhante aos nossos estudos, Carter *et al* (2004), Rovenská *et al* (2005), Obrist *et al* (2006), demonstraram que esses organismos geralmente não são afetados, pela exposição à proteína. Estudos anteriores com Cry1Ab para o controle de lepidópteros as variedades de milho não revelaram qualquer efeito da Proteína Cry em *T. urticae* (Dutton *et al* 2002).

Estudos sobre as Proteínas Cry presentes em plantas transgênicas sobre ácaros (fitófagos não-alvo) ainda são incipientes (Carter *et al* 2004, Rovenská *et al* 2005, Obrist *et al* 2006), mas demonstraram que esses organismos geralmente não são afetados, apesar da grande exposição via aquisição e acúmulo da proteína em seu corpo como encontrado neste estudo. Ácaros, aparentemente, não são susceptíveis às bactérias de modo geral (Van Der Geest *et al* 2000). Estudo sugere que *T. urticae* não possui receptores específicos para a Proteína Cry. Dutton *et al* (2003) a ausência do efeito do milho *Bt* sobre ácaros também foi observado. Este fato é devido a ligação da Proteína Cry à receptores específicos presente na membrana do intestino médio de pragas mastigadores.

Li & Romeis (2010), avaliaram o efeito de cultivares de milho que expressavam a Proteína inseticida Cry3Bb1 sobre parâmetros da história de vida de *T. urticae*. Encontrou-se que o desenvolvimento da fase imatura e a reprodução de *T. urticae* não foram afetados pela alimentação sobre plantas GM. Os resultados desse estudo também indicaram que não houve efeito significativo do milho *Bt* em espécies ácaros fitófagos, desta forma podemos descartar o possível efeito direto do milho *Bt* (30F35 Hx, 30F35 Yg e Impacto Viptera) assimilada pelo *T. urticae*.

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 *et al* 2002), porém, poucos estudos com plantas *Bt* foram conduzidos com ácaros predadores e ácaros fitófagos (Rovenská *et al* 2005, Obrist *et al* 2006).

Esses resultados demonstram que estudos de casos específicos devem ser conduzidos para melhor elucidar o efeito das Proteínas Cry sobre a biologia e comportamento de ácaros fitófagos. Existe a hipótese da interação planta-fitófago-predador, onde as plantas de milho *Bt* previamente infestadas por ácaros fitófagos fossem capazes de alterar a preferência, desenvolvimento e a fecundidade do predador. Outra hipótese de que plantas que sofreram infestação por ácaros fitófagos são capazes de responder às injúrias com maior rapidez e podendo atrair inimigos naturais resultando assim uma defesa da planta contra fitófagos.

Assim, a Proteína Cry, presente nas cultivares de milho *Bt*, não afeta a taxa instantânea de crescimento e a preferência alimentar de *T. urticae*.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (**FAPEMIG**) pelo apoio financeiro ao projeto, pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor.

Referências

- Awmack CS, Leather SR (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annu Rev Entomol* 47:817-844
- Carter ME, Villani MG, Allee LL, Losey JE (2004) Absence non-target effects of two *Bacillus thuringiensis* coleopteran active δ -endotoxins on the bulb mite, *Rhizoglyphus robini* (Claparède) (Acari, Acaridae). *J Appl Entomol* 128:56-63
- Crawley MJ (2007) *The R Book*. Chichester (UK): John Wiley & Sons, Ltd, 2007. 942p.
- Dutton A, Klein H, Romeis J, Bigler F (2002) Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol Entomol* 27:441-447
- Dutton A, Klein H, Romeis J, Bigler F (2003) Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. *Biol Control* 26: 209-215
- Esteves filho AB, Oliveira JV, Torres JB, Gondim JR, MGC (2010) Biologia comparada e comportamento de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae) em Algodoeiro BollgardTM e Isolinha não-Transgênica. *Neotrop Entomol* 39:338-344
- Greco NM, Pereyra PC, Guillade A (2006) Host-plant acceptance and performance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J Appl Entomol* 130:32-36
- Head G, Brow CR, Groth ME, Duan JJ (2001) Cry1Ab protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. *J Appl Entomol* 99:37-45
- Hoy CW, Feldman J, Gould F, Kennedy GG, Reed G, Wyman JA (1998) Naturally occurring biological controls in genetically engineered crops, p. 185-205. In: P. Barbosa (ed.), *Conservation biological control*. San Diego, Academic In Press, 396p.

- Krips OE, Witul A, Willems PEL, Dicke M (1998) Intrinsic rate of population increase of the spider mite *Tetranychus urticae* on the ornamental crop gerbera: intraspecific variation in host plant and herbivore. *Entomol Exp Appl* 89:159-168
- Koziel MG, Beland GL, Bowman C, Carozzi NB, Crenshav R, Crossland L, Dawson J, Desai N, Hill M, Kadwell S, Launis K, Lewis K, Maddox D, MC Pherson K, Meghji MR, Merlin E, Rhodes R, Warren G, Wright M, Evola SV (1993) Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Nat Biotechnol* 11:194-200
- Li Y, Romeis J (2010) Bt maize expressing Cry3Bb1 does not harm the spider mite, *Tetranychus urticae* or its ladybird beetle predator, *Stethorus punctillum*. *Biol Control* 337-344
- Lourenção AL, Moraes GJ, Passos FA, Ambrosano GMB, Silva LVF (2000) Resistência de morangueiros a *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *An Soc Entomol Brasil* 29:339-346
- Lozzia GC, Rigamonti IE, Manachini B, Rocchetti R (2000) Laboratory studies on the effects of transgenic corn on the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Boll Zool Agr Bachich II* 32:35-47
- Maruyama WI, Toscano LC, Boiça Júnior AL, BARBOSA JC (2002) Resistência de genótipos de tomateiro ao ácaro rajado. *Hortic Bras* 20:480-484
- Obrist LB, Klein H, Dutton A, Bigler F (2006) Assessing the effects of Bt maize on the predatory mite *Neoseiulus cucumeris*. *Exp Appl Acarol* 38:125-139
- Ponsard S, Gutierrez AP, Mills NJ (2002) Effect of Bt-toxin (Cry1Ac) in transgenic cotton on the adult longevity of four heteropteran predators. *Environ Entomol* 31:1197-1205

- R Development Core Team. R: (2011) A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <http://www.R-project.org>.
- Raps A, Kehr J, Gugerli P, Moar WJ, Bigler F, Hilbeck A (2001) Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Mol Ecol Resour* 10:525-533
- Romeis J, Meissle M (2011) Non-target risk assessment of Bt crops – Cry protein uptake by aphids. *J Appl Ent* 135:1-6
- Rovenská GZ, Zemek R, Schmidt JEU, Hilbeck A (2005) Altered host plant preference of *Tetranychus urticae* and prey preference of its predator *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) on transgenic Cry3Bb-eggplants. *Biol Control* 33:293-300
- Silva EA, Reis PR, Carvalho TMB, Altoé BF (2009) *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on *Gerbera jamesonii* Bolus and Hook (Asteraceae). *Braz J Biol* 69:1121-1125
- Silva MA, Parra JRP, Chiavegato LG (1985a) Biologia comparada de *Tetranychus urticae* em cultivares de algodoeiro: ciclo biológico. *Pesq Agropec Bras* 20:741-748
- Silveira Neto S (1976) Manual de ecologia dos insetos. São Paulo: Ceres. 419p.
- Stark JD, Tanigoshi L, Bounfour M, Antonelli A (1997) Reproductive potential: its influence on the susceptibility of a species to pesticides. *Ecotox Environ Safe* 37:273-279
- Van Der Geest LPS, Elliot SL, Breeuwer JAJ, Beerling EAM (2000) Diseases of mites. *Exp Appl Acarol* 24:497-560
- Van Den Boom CEM, Van Beek TA, Dicke M (2003) Differences among plant species in acceptance by the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *J Appl Entomol* 127:177-183

CONCLUSÕES GERAIS

A cultura do milho tem grande importância econômica no Brasil, e no atual contexto agrícola, onde a utilização de cultivares de milho geneticamente modificado resistente a insetos-pragas vem sendo cada vez mais utilizados por agricultores. O estudo de organismos não-alvo, como ácaros fitófagos, pode fornecer informações sobre os impactos dessa tecnologia. Assim, este trabalho permitiu verificar o efeito de cultivares de milho Bt, sobre a abundância, preferência e a taxa instantânea de crescimento de ácaros fitófagos como organismo não-alvo da Proteína Cry.

A Proteína Cry presente no milho geneticamente modificado, não apresenta efeito sobre ácaros fitófagos, não afeta a abundância de ácaros no campo, como também não afeta a preferência e a taxa instantânea de crescimento com ácaros fitófagos em laboratório expostos à Proteína Cry. Assim, este estudo corrobora com o conhecimento sobre plantas geneticamente modificados e sua ação em organismos não-alvo. Entretanto, outros estudos devem ser realizados para esclarecer os mecanismos que não causam efeitos da Proteína Cry sobre ácaros fitófagos no milho Bt.