



JOÃO LUÍS RIBEIRO ULHÔA

PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Chrysoperla externa* (Hagen) ALIMENTADA COM PRESAS CRIADAS EM HÍBRIDOS DE MILHO Bt E DIETA COM *Bacillus thuringiensis* (Berliner)

LAVRAS - MG

2016

JOÃO LUÍS RIBEIRO ULHÔA

**PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Chrysoperla externa* (Hagen)
ALIMENTADA COM PRESAS CRIADAS EM HÍBRIDOS DE MILHO Bt
E DIETA COM *Bacillus thuringiensis* (Berliner)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. César Freire Carvalho

Coorientador

Dr. Fernando Hercos Valicente

LAVRAS - MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Ulhôa, João Luís Ribeiro.

Parâmetros biológicos de *Chrysoperla externa* (Hagen)
alimentada com presas criadas em híbridos de milho Bt e dieta com
Bacillus thuringiensis (Berliner) / João Luís Ribeiro Ulhôa. – Lavras
: UFLA, 2016.

67 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador: César Freire Carvalho.

Bibliografia.

1. Crisopídeo. 2. Pulgão. 3. Proteína. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

JOÃO LUÍS RIBEIRO ULHÔA

**PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Chrysoperla externa* (Hagen)
ALIMENTADA COM PRESAS CRIADAS EM HÍBRIDOS DE MILHO Bt
E DIETA COM *Bacillus thuringiensis* (Berliner)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 07 de agosto de 2015.

Dr. Luís Cláudio Paterno Silveira	UFLA
Dr. Rogério Antônio da Silva	EPAMIG
Dr. Stephan Malfitano Carvalho	UFU
Dra. Simone Mendes	EMBRAPA

Dr. César Freire Carvalho
Orientador

Dr. Fernando Hercos Valicente
Coorientador

LAVRAS - MG

2015

Ao meu pai, João Pimentel de Ulhôa e a minha mãe Regina Célia Ribeiro Ulhôa,
pelo amor, carinho, orações, apoio e pela minha vida.

A minha irmã Ana Rita Ribeiro Ulhôa Oliveira e meu cunhado Valter Silvio de
Oliveira.

Aos meus queridos sobrinhos Ana Laura Ulhôa Oliveira e João Antônio Ulhôa
Oliveira.

A minha namorada Adriane Hanke pelo amor, incentivo e por estar sempre ao
meu lado,

DEDICO

A Deus por conduzir minha vida e iluminar meu caminho,

AGRADEÇO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras – UFLA, em especial ao Departamento de Entomologia, pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

Ao professor Dr. César Freire Carvalho pela orientação e ensinamentos transmitidos e por sua amizade.

Ao professor Dr. Alcides Moino Jr. pela colaboração e cessão do laboratório de Patologia de Insetos para condução dos experimentos.

Ao pesquisador da EMBRAPA Dr. Fernando Hercos Valicente pela sempre atenção, coorientação e amizade.

À pesquisadora da EMBRAPA Dra. Simone Mendes pela ajuda.

Ao professor da UFU Dr. Stephan Malfitano Carvalho, por sua importante ajuda na condução do trabalho, atenção e amizade.

Ao pesquisador da EMBRAPA Dr. José Alexandre Freitas Barrigossi por sua preciosa ajuda na leitura, revisão e discussão de todos os capítulos do meu trabalho.

Ao pesquisador da EMBRAPA Dr. Claudio Ulhôa Magnabosco pela sua importante leitura e ajuda sempre.

Aos membros da banca por aceitarem o julgamento desse trabalho.

Às funcionárias do Departamento de Entomologia Elaine Aparecida Louzada, Eliana Donizete de Andrade e Nazaré Antônia de Moura Vitorino

Aos Servidores Técnicos Administrativos.

Aos amigos Jander Rodrigues de Souza; Ricardo Fabiano Silveira, Renato Binoto pela ajuda.

À estagiária Daniela Penha Garcia pela preciosa ajuda e dedicação.

A todos os colegas de turma pela amizade.

Aos demais docentes do Departamento de Entomologia pelos ensinamentos.

E a todos aqueles que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

RESUMO GERAL

Conhecer o impacto de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) sobre inimigos naturais é um desafio para compatibilização das estratégias do manejo integrado de pragas. Assim, avaliou-se, em laboratório, o efeito do *B. thuringiensis* presentes nos bioinseticidas Agree®, DipelWG® e Xentari® das proteínas Bt em cultivares de milho transgênico DKB390PRO (VTPRO) e 2B587HX (RI) em adultos e larvas de *Chrysoperla externa* (Hagen), respectivamente. Avaliou-se também a preferência alimentar das larvas do predador para as ninfas de *Schizaphis graminum* (Rondani) e lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), alimentadas do milho transgênico DKB390PRO (VTPRO) e seu isohíbrido. Os biopesticidas em sua dosagem máxima foram adicionados à dieta dos adultos do crisopídeo avaliando-se a oviposição, viabilidade de ovos e longevidade. Observou-se que a oviposição foi influenciada pelas proteínas testadas, obtendo-se aumento de fecundidade quando adultos foram alimentados com dieta contendo bioinseticida. A viabilidade dos ovos foi de 76%, sendo que a longevidade não foi influenciada. Avaliaram-se para larvas alimentadas com as presas oriundas de plantas Bt, consumo, tempo de desenvolvimento, viabilidade de ovos, longevidade de adultos e comprimento de larvas. Não foram constatadas diferenças nos parâmetros avaliados, quando as larvas de *C. externa* foram alimentadas com o pulgão criado nos híbridos DKB390PRO (VTPRO) seu isohíbrido DKB390 e convencional DKB399; 2B587HX (RI), seu isohíbrido 2B587 e convencional 30A68. Para larvas de *C. externa* quando alimentadas com lagartas de *S. frugiperda* criadas no milho Bt DKB390PRO (VTPRO) e 2B587HX (RI), não foram constatadas diferenças no consumo, tempo de desenvolvimento, viabilidade de ovos e longevidade dos adultos. Em relação ao comprimento das larvas de *C. externa*, não foram detectadas diferenças significativas, obtendo-se insetos dentro do padrão da espécie. Em relação ao parâmetro preferência alimentar nos três ínstars de larvas de *C. externa*, também não foram detectadas diferenças significativas quando foram utilizadas como alimento, ninfas de *S. graminum* ou lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* criadas em plantas das cultivares de milho avaliadas.

Palavras-chave: Crisopídeo. Pulgão. Proteína.

GENERAL ABSTRACT

To know the impact of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) upon the natural enemies is a challenge to compatibility of the strategies of the integrated pest management. Thus, the effect of the *B.thuringiensis* present in bioinsecticides Agree®, DipelWG® and Xentari® of Bt proteins on cultivars of transgenic corn DKB390PRO (VTPRO) and 2B587HX (RI) on adults and larvae of *Chrysoperla externa* (Hagen), respectively, was evaluated. Also, the feeding preference of the larvae of the predator for the nymphs of *Schizaphis graminum* (Rondani) and third-instar caterpillars of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) fed the transgenic corn DKB390PRO (VTPRO) and its isohybrid was evaluated. The biopesticides at their maximum dosage were added to the diet of the adults of the lacewings evaluating the oviposition, egg survival and longevity. It was observed that oviposition was influenced by the tested proteins, obtaining increased fecundity when adults were fed diet containing bioinsecticide. The egg survival was of 76%, longevity was not influenced at all. For the larvae fed the preys coming from Bt plants, consumption, development time, egg survival, longevity of adults and length of larvae were evaluated. No differences were found in the evaluated parameters, when the larvae of *C. externa* were fed the aphid reared on the hybrids DKB390PRO (VTPRO), its isohybrid DKB390 and conventional DKB399; 2B587HX (RI), its isohybrid 2B587 and conventional 30A68m. For larvae of *C. externa* when fed caterpillars of *S. frugiperda* raised on the corn Bt DKB390PRO (VTPRO) and 2B587HX (RI), no differences in consumption, development time, egg survival and adults' longevity were found. As regards the length of the larvae of *C. externa*, no significant differences were detected, obtaining insects within the standard of the species. Relative to the standard feeding preference in the three instars of larvae of *C. externa*, also no significant differences were detected when nymphs of *S. graminum*, third instar caterpillars of *S. frugiperda* raised on plants of the evaluated corn cultivars were utilized as a food.

Key words: Green lacewing. Aphid. Protein.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 Introdução geral	9
1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 <i>Bacillus thuringiensis</i> e o controle de pragas	13
2.2 Plantas Geneticamente Modificadas (GM)	15
REFERÊNCIAS	17
CAPITULO 2 Avaliação da fertilidade de <i>Chrysoperla externa</i> (Hagen) alimentada com dieta contaminada com <i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i> Berliner	21
1 INTRODUÇÃO	23
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
2.1 Análise estatística dos dados.....	26
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4 CONCLUSÕES	32
REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO 3 Aspectos biológicos de <i>Chrysoperla externa</i> (Hagen) alimentadas com <i>Schizaphis graminum</i> (Rondani) e <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E.Smith) criados em plantas de milho DKB390PRO, DKB390, DKB399; 2B587HX, 2B587 e 30A68	35
1 INTRODUÇÃO	38
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.1 Análise estatística dos dados.....	43
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
3.1 Biologia de <i>Chrysoperla externa</i> com larvas alimentadas com <i>Schizaphis graminum</i> criados em cultivares de milho DKB390PRO, DKB390 e DKB399; 2B587HX, 2B587 e 30A68	45
3.2 Biologia de <i>Chrysoperla externa</i> com larvas alimentadas com <i>Spodoptera frugiperda</i> criada em cultivares de milho DKB390PRO, DKB390 e DKB399; 2B587HX, 2B587 e 30A68	49
3.3 Preferência alimentar de larvas de <i>Chrysoperla externa</i> por <i>Schizaphis graminum</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> criados em cultivares de milho DKB390PRO e DKB390.....	55
4 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS	63

CAPÍTULO 1 Introdução geral

1 INTRODUÇÃO

A preservação de inimigos naturais de insetos-praga em qualquer agroecossistema é de fundamental importância dentro da filosofia do Manejo Integrado de Pragas – MIP, possibilitando a redução do uso de inseticidas, o que acarreta menor desequilíbrio biológico, menor contaminação ambiental e redução dos custos de produção. Diante dessa relevância, uma das estratégias para manter as populações de insetos benéficos dentro de um agroecossistema é a utilização de compostos inseticidas com baixo impacto sobre organismos benéficos (DEGRANDE et al., 2002; FRAGOSO et al., 2001). Outra estratégia que pode ser analisada é a utilização de plantas geneticamente modificadas com ação inseticida e desenvolvidas pela incorporação dos genes provenientes de microrganismos entomopatogênicos nos genomas das plantas de interesse econômico. Essas plantas podem trazer benefícios no controle de determinadas pragas nas lavouras, como a redução do uso de inseticidas, favorecendo o controle biológico natural pelos insetos benéficos (RODRIGO-SIMÓN et al., 2006).

O Estado do Mato Grosso – MT ocupa a liderança no mercado quanto à utilização de plantas geneticamente modificadas (GM). Para a cultura do milho nesse estado na safra verão 2013/2014, o total de hectares semeados foi de 4,7 milhões. A área cultivada com milho GM no Brasil foi de 12,5 milhões de hectares, com taxa de adoção de 82,7%. Empregando-se a tecnologia RI/TH, isto é, genes combinados resistentes a insetos e tolerantes a herbicida, ocupa a maior área cultivada no País, onde foram semeados 6,3 milhões de hectares (CÉLERES YOUR AGRIBUSINESS INTELIGENCE, 2015).

Durante o desenvolvimento vegetativo, a cultura do milho pode sofrer o ataque de diversos insetos-praga, causando danos severos às plantas cultivadas. Pode-se mencionar a lagarta-do-cartucho, a lagarta das espigas, curuquerê-dos-capinzais, lagarta-rosca, lagarta-elasma, broca-do-colmo, entre outros (ZUCCHI; SILVEIRA NETO; NAKAMO, 1993).

Assim, os métodos de controle dos insetos-praga nessa cultura são os inseticidas. Nesse contexto, tem-se que a preservação dos inimigos naturais em qualquer ambiente natural é essencial para se obter equilíbrio no agroecossistema, colaborando para a regulação populacional de insetos-praga. Assim, destaca-se o crisopídeo *Chrysoperla externa* (Hagen), um inseto de vasta distribuição geográfica, pela capacidade predatória de suas larvas em vários insetos-praga, tais como, lagartas e muitas espécies de pulgões (CARVALHO; SOUZA, 2009).

Com esta pesquisa objetivou-se, então: 1. Avaliar o efeito de alguns bioinseticidas sobre os aspectos biológicos de adultos de *C. externa* alimentados com dieta artificial contaminada com esses compostos; 2. Avaliar alguns aspectos biológicos de larvas desse crisopídeo nos seus três ínstares e alimentadas com lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) e o pulgão *Schizaphis graminum* (Rondani) criados em plantas Bt.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O milho (*Zea mays* L.) ocupa um lugar representativo no mercado mundial de grãos, sendo a terceira planta mais cultivada no mundo. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial, com uma área total de 15,8 milhões de hectares, sendo colhidas 80 milhões de toneladas na safra 2013/2014 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE MILHO - ABRAMILHO, 2015), sendo cultivado em duas épocas de plantio, de verão e inverno (BORÉM; ALMEIDA, 2011). Esse cereal é um dos alimentos mais ricos em nutrientes, sendo utilizado na alimentação humana e de outros animais, devido ao alto teor de carboidratos e qualidades nutricionais, além de constituir-se em indispensável matéria-prima para bioenergia (ROSTAGNO, 2005).

No Brasil, mais de 82,7% do milho plantado é transgênico, ou seja, plantas que expressam genes de interesse, como as toxinas Cry que controlam as pragas, principalmente, lepidópteros. Porém, existem as cultivares isolinhas, que são híbridos “idênticos” ao milho transgênico, nos quais não foi inserida a proteína Bt e também as cultivares convencionais, caracterizadas pelos milhos comerciais sem a proteína Cry (CÉLERES YOUR AGRIBUSINESS INTELLIGENCE, 2015).

A planta do milho pode sofrer injúrias e/ou danos por insetos nas diferentes fases de desenvolvimento. Dentre os diversos insetos que atacam a cultura do milho, destaca-se a lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda*. O controle dessa praga pode ser feito por meio de agentes biológicos (parasitoides e predadores); por inseticidas e com o uso de cultivares transgênicas (CRUZ; OLIVEIRA; VASCONCELOS; 1996; MENDES et al., 2011). É uma das pragas de grande relevância para a cultura, pois pode causar prejuízos em razão da redução no rendimento de grãos da ordem de até 60%. Além disso, os danos provocados em folhas por esse inseto podem variar de acordo com o estágio

fenológico da planta, com perdas de 17 a 38,7% na produção (LIMA et al., 2008).

Para o manejo da lagarta *S. frugiperda* existem alguns métodos de controle, sendo usuais os métodos culturais, químicos e biológicos. O emprego do MIP é uma prática consciente que deve ser efetuada nos programas de controle desse inseto com a finalidade de se obterem resultados eficientes (FARINELLI; FORNASIERI FILHO, 2006).

Outra praga de importância para a cultura é o pulgão-verde *S. graminum*, sendo considerada também uma das principais pragas de poáceas (gramíneas) como o sorgo e trigo. O inseto pode causar injúria às plantas pela sucção de seiva, injeção de toxinas e transmissão de vírus como, por exemplo, o mosaico da cana-de-açúcar (CRUZ; VENDRAMIM, 1995). As injúrias às plantas podem ocorrer desde a emergência até a maturação. As folhas das plantas apresentam manchas amareladas e, posteriormente, evoluem para uma cor arroxeada ocorrendo necrose do tecido. Em altas populações desse inseto, as plantas podem ser totalmente destruídas (CRUZ, 1998).

O controle biológico assume importância cada vez maior em programas de MIP, visto que é um fenômeno natural, em que ocorre a regulação do número de plantas e animais pelos inimigos naturais. Nesse contexto, os insetos predadores formam um grupo diversificado em um agroecossistema natural, influenciando outra população de organismo com efeitos na regulação do crescimento populacional e, conseqüentemente, mantendo o agroecossistema em equilíbrio. Os neurópteros, da família Chrysopidae são predadores polípagos e cosmopolitas. O seu potencial de predação é durante a fase larval. Nessa fase alimentam-se de um número variado de presas, sendo as mais consumidas aquelas compostas de pulgões, ovos e lagartas de lepidópteros, entre outros pequenos artrópodes (CARVALHO; SOUZA, 2009).

Figueira e Lara (2004), ao estudarem a relação predador/presa, em liberações inundativas de *C. externa*, para o controle do pulgão-verde *S. graminum* em sorgo, verificaram que os predadores reduziram a população dos afídeos. Barbosa et al. (2008) avaliaram a eficiência de larvas de primeiro ínstar de *C. externa* no controle de *Myzus persicae* (Sulzer) constataram que as proporções predador/presa 1:5 e 1:10 foram eficientes na redução populacional do pulgão, independentemente da sua densidade inicial.

2.1 *Bacillus thuringiensis* e o controle de pragas

O *Bacillus thuringiensis* Berliner é uma bactéria de solo, gram-positiva (NISHIMOTO et al., 1994), que produz esporos (XU; CÔTÉ, 2006), é aeróbica, isto é, necessita de oxigênio para sua sobrevivência e, quando as condições ambientais se tornam desfavoráveis, podem esporular.

Tanto na sua fase vegetativa quanto na fase de esporulação, essas bactérias produzem toxinas que têm efeito inseticida. Dessas, as mais conhecidas são chamadas de proteínas cristal, com a denominação Cry, que são produzidas durante a fase de esporulação. Em relação à nomenclatura, as famílias de proteínas são organizadas por um código numérico, relacionado, por sua afinidade com grupos de insetos: a família Cry1 atua sobre lepidópteros; Cry3 atua sobre coleópteros e Cry4, sobre dípteros (GILBERT; IATROU; GILL, 2005).

Já foram identificadas diversas proteínas que apresentam efeito tóxico em insetos de diferentes ordens. Os cristais têm demonstrado ação tóxica para cerca de 130 espécies de insetos das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera, as quais incluem importantes pragas agrícolas como os lepidópteros *S. frugiperda*, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner (FATORETTO et al., 2007).

Há um número expressivo de proteínas com efeito inseticida que diferem quanto ao modo de ação e especificidade do alvo. Aquelas que são expressas por cepas de *B. thuringiensis* incluem compostos β -exotoxinas, proteína inseticida vegetativa (VIP), δ -endotoxinas, que incluem as proteínas Cry (cristalinas) e as proteínas Cyt (citolíticas) (HOFTE; WHITELEY, 1989; ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPEMENT – OECD, 2007; SCHNEPF et al., 1998).

São conhecidas as três etapas para que uma proteína-cristal funcione como inseticida: a ingestão, digestão/ativação na região do mesêntero e a ligação em receptores específicos no intestino. Somente com essas três condições é que ocorre o potencial inseticida da proteína. Essa característica torna as proteínas do *B. thuringiensis* eficientes e seguras para uso, e o seu modo de ação altamente específico, uma vez que cada proteína atua em uma determinada ordem de insetos (GILBERT; IATROU; GILL, 2005).

O cristal proteico, após a ingestão, é solubilizado em pH básico (cerca de 9,5), condições comumente encontradas no intestino de lagartas e a protoxina é clivada por uma proteína intestinal, produzindo uma toxina ativa denominada δ -endotoxina (DEACON, 2012). A δ -endotoxina aumenta a permeabilidade das microvilosidades das células a cátions e ânions, causando um colapso na diferença de potencial. Essas alterações propiciam a destruição e a ruptura das células do intestino médio da lagarta e a proliferação de bactérias na hemolinfa, causando a morte das lagartas por septicemia (GILBERT; IATROU; GILL, 2005).

Em relação aos compostos bioinseticidas, o Dipel® é o mais utilizado no mundo e possui como princípio ativo, o *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*, contendo as proteínas Cry1Ab, Cry1Aa, Cry1Ac, Cry2A, Cry2B (SCHNEPF et al., 1998).

O produto comercial Agree® foi obtido por meio de uma linhagem híbrida GC91, fazendo-se a transferência conjugada de um plasmídeo da linhagem *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD191 dentro da linhagem *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* HD135. Esse produto contém ainda as proteínas Cry1Ac, Cry1C, Cry1D e Cry2 (LIU et al., 2004).

O bioinseticida Xentari® é um inseticida que apresenta em sua constituição a bactéria subsp. *aizawai*, contendo as proteínas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1C e Cry1D (LUCHO, 2004).

2.2 Plantas Geneticamente Modificadas (GM)

A biotecnologia é um ramo da ciência que aplica os conceitos da engenharia genética. Assim, o resultado tecnológico é a obtenção de plantas GM, ou seja, é um organismo que recebe um gene de outro organismo doador, e essa alteração no seu DNA faz com que passe a expressar uma característica que não tinha. O mercado de transgênicos na agricultura é cada vez mais expressivo, e no caso da cultura do milho, a cada 100 hectares plantados, 30 são de milho geneticamente modificado (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2015).

Os diferentes métodos de transformação genética do milho podem ser divididos em dois grupos: métodos indiretos e métodos diretos. A transformação genética por meio do método indireto utiliza a bactéria, *Agrobacterium tumefaciens* Smith & Townsend, 1907 para introduzir o gene de interesse (GDI) no genoma do milho. Na transformação por meio de métodos diretos, o GDI é introduzido no genoma sem a intervenção de uma bactéria. O método direto mais usado para a produção de milho (GM) é o bombardeamento de células de milho com micropartículas metálicas. Nesse contexto, os genes Cry que codificam a toxina da bactéria *B. thuringiensis* têm sido utilizados na obtenção

de plantas (GM) resistentes a insetos. A atividade de cada toxina Bt atua de forma diferenciada e apresenta alta especificidade dentro do mesmo grupo de insetos. Estudos toxicológicos revelam diferenças significativas em nível de espécie. Portanto, a estratégia de piramidação de dois ou mais genes Cry, expressando diferentes toxinas numa mesma cultivar, não só contribui para o manejo da resistência, mas também aumenta a eficiência no controle de diferentes espécies de insetos-praga. Nesse contexto, as toxinas Cry 1A(b) e Cry 1F têm atividade em diferentes lepidópteros como *S. frugiperda* e *D. saccharalis*. Assim, uma das principais vantagens referentes à utilização de plantas (GM) com resistência a insetos, é a redução na aplicação de inseticidas, principalmente, os de largo espectro favorecendo a manutenção de inimigos naturais. Outro fator relevante é a redução dos custos de produção na lavoura. Assim, o uso de plantas (GM) torna-se uma ferramenta importante para o MIP (CARNEIRO et al., 2009).

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE MILHO. **Safra global de milho pode superar 1bi t em 2015/16**. Disponível em: <<http://www.abramilho.org.br/noticias.php?cod=3744>>. Acesso em: 14 ago. 2015.

BARBOSA, L. R. et al. Eficiência de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) no controle de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em pimentão (*Capsicum annum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1113-1119, jul./ago. 2008.

BORÉM, A.; ALMEIDA, G. D. de. **Plantas geneticamente modificada: desafios e oportunidades para regiões tropicais**. Visconde de Rio Branco: Suprema, 2011. 390 p.

CARNEIRO, A. A. et al. **Milho Bt: teoria e prática da produção de plantas transgênicas resistentes a insetos-praga**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2009. 25 p. (Circular técnica, n. 135). Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1344498/2767891/milho-bt-teoria-e-pratica-da-producao-de-plantas-transgenicas-resistentes-a-insetos-praga.pdf/4af81f7d-c402-4c02-8ad2-a3700588388f>>. Acesso em: 16 ago. 2015.

CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Métodos de criação e produção de crisopídeos. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2009. cap. 6, p. 77-115.

CÉLERES YOUR AGRIBUSINESS INTELLIGENCE. **Informativo biotecnologia**. Uberlândia, 2015. Disponível em: <http://www.celeres.com.br/docs/biotecnologia/IB1501_150611.pdf>. Acesso em: 16 ago. 2015.

CRUZ, I. **Controle integrado do pulgão verde, *Schizaphis graminum* utilizando cultivares resistente e o predador *Chrysoperla externa***. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 1998. 4 p. (EMBRAPA Milho e Sorgo, n. 29).

CRUZ, I.; OLIVEIRA, L. J.; VASCONCELOS, C. A. Efeito do nível de saturação de alumínio em solo ácido sobre os danos de *Spodoptera frugiperda* (Smith) em milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 293-297, ago. 1996.

CRUZ, I.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de diferentes genótipos de sorgo resistentes no desempenho do pulgão-verde, *Schizaphis graminum* Rond. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 253-263, 1995.

DEACON, J. The microbial world: *Bacillus thuringiensis*. In: INSTITUTE OF CELL AND MOLECULAR BIOLOGY. Edinburgh: University of Edinburgh, 2012. Disponível em: < <http://archive.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/bt.htm>>. Acesso em: 20 ago. 2015.

DEGRANDE, P. E. et al. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 5, p. 71-93.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **A biotecnologia e você**. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/recursos-geneticos-e-biotecnologia/sala-de-imprensa/se-liga-na-ciencia/a-biotecnologia-e-voce>>. Acesso em: 16 ago. 2015.

FARINELLI, R.; FORNASIERI FILHO, D. Avaliação de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares de milho. **Científica**, Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 197-202, 2006.

FATORETTO, J. C. et al. Associação de bioensaios e caracterização molecular para seleção de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* efetivos contra *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 36, n. 5, p. 737-745, set./out. 2007.

FIGUEIRA, L. K.; LARA, F. M. Relação predador:presa de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) para o controle do pulgão-verde em genótipos de sorgo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 447-450, jul./ago. 2004.

FRAGOSO, D. B. et al. Seletividade de inseticidas a vespas predadoras de *Leucoptera coffeella* (Guér.-Mènev.) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 139-144, mar. 2001.

GILBERT, L. L.; IATROU, K.; GILL, S. S. (Ed.). **Comprehensive molecular insect science: reproduction and development**. Oxford: Elsevier, 2005. v. 1, 3200 p.

HOFTE, H.; WHITELEY, H. R. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 53, n. 2, p. 242-255, June 1989.

LIMA, J. F. M. et al. Ação de inseticidas naturais no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho cultivado em agroecossistema de várzea. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 607-613, maio/jun. 2008.

LIU, K. et al. Characterization of cultured insect cells selected by *Bacillus thuringiensis* crystal toxin. **In vitro Cellular & Developmental Biology Animal**, Columbia, v. 40, n. 10, p. 312-317, Nov./Dec. 2004.

LUCHO, A. P. R. **Manejo de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz irrigado**. 2004. 73 p. Dissertação (Mestrado em Diversidade e Manejo da Vida Silvestre) - Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, 2004.

MENDES, S. M. et al. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A (b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 239-244, mar. 2011.

NISHIMOTO, T. et al. Functional analysis of block 5, one of the highly conserved amino acid sequences in the 130 kDa CryIVA protein produced by *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 348, n. 3, p. 249-254, July 1994.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* - derived insect control protein**. Paris, 2007. 109 p. (Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, n. 42).

RODRIGO-SIMÓN, A. et al. Lack of detrimental effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins on the insect predator *Chrysoperla carnea*: a toxicological, histopathological, and biochemical analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 2, p. 1595-1603, Feb. 2006.

ROSTAGNO, H. S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. 186 p.

SCHNEPF, E. et al. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, New York, v. 62, n. 3, p. 775-806, Sept. 1998.

XU, D.; CÔTÉ, J. C. Sequence diversity of the *Bacillus thuringiensis* and *B. cereus* sensu lato flagellin (H Antigen) protein: comparison with H serotype diversity. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 7, p. 4653-4662, July 2006.

ZUCCHI, R. A.; SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O. **Guia de identificação de pragas agrícolas**. Piracicaba: FEALQ, 1993. 139 p.

CAPITULO 2 Avaliação da fertilidade de *Chrysoperla externa* (Hagen) alimentada com dieta contaminada com *Bacillus thuringiensis Berliner*

RESUMO

Não se conhecem os efeitos dos compostos à base de *Bacillus thuringiensis* para insetos predadores como o crisopídeo *Chrysoperla externa*. Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos bioinseticidas Agree®, DipelWG® e Xentari® nas dosagens 1,5 g i.a L⁻¹; 0,8 g i.a L⁻¹ e 0,5 g i.a L⁻¹ respectivamente, sendo adicionada, na dieta para adultos, composta de lêvedo de cerveja + mel (1:1). O experimento foi conduzido em laboratório com temperatura variando de 18°C no período noturno a 26 °C no período diurno. O delineamento foi inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos e dez repetições, sendo cada repetição constituída por um casal de insetos adultos. Avaliou-se o efeito dos bioinseticidas sobre a oviposição, viabilidade de ovos e longevidade. As dietas, contendo bioinseticidas influenciaram na oviposição quando comparadas à testemunha. A viabilidade dos ovos de *C. externa* que se alimentou de dieta contendo DipelWG® foi de 73,6%, diferindo significativamente, para o tratamento com Xentari®, sendo de 77,9%. O tratamento-testemunha e aquele com dieta contendo Agree® não diferiram entre si, com viabilidade de 80,9% e 82,2%, respectivamente. Os compostos não afetaram a longevidade do inseto, sendo que o tempo letal (TL₅₀) médio foi de 60,0 dias e independentemente do composto utilizado, sendo observada sobrevivência de insetos por até 98 dias. Esses compostos não influenciaram no potencial reprodutivo de *C. externa*.

Palavras-chave: Crisopídeo. Controle biológico. Bioinseticida.

ABSTRACT

The effects of the compounds based on *Bacillus thuringiensis* for predator insects such as the lacewing *Chrysoperla externa* are not known. So, the work was intended to evaluate the effect of the bioinsecticides Agree®, DipelWG® and Xentari® at the dosages 1.5 g i.a L⁻¹; 0.8 g i.a L⁻¹ and 0.5 g i.a L⁻¹ respectively, beer yeast + honey compound (1:1) being added to the diet for adults. The experiment was conducted in laboratory with the temperature ranging from 18°C in the night period to 26 °C in the day period. The design was completely randomized with five treatments and ten replications, each replication being made up of a couple of adult insects. The effect of the bioinsecticides upon oviposition, egg survival and longevity was evaluated. The diets containing bioinsecticides influenced the oviposition when compared with the control. The survival of the eggs of *C. externa* which fed on diet containing DipelWG® was of 73.6%, differing significantly for the treatment with Xentari®, being of 77.9%. The control-treatment and the one with diet containing Agree® did not differ from each other, with egg survival of 80.9% and 82.2%, respectively. The compounds did not affect the insect's longevity, the average lethal time (TL50) was of 60.0 days regardless of the utilized compound, insect survival for till 98 days being observed. Those compounds did not influence the reproductive potential of *C. externa*.

Key words: Green lacewing. Biological control. Bioinsecticide.

1 INTRODUÇÃO

A demanda por aumento na produção de alimentos é uma das principais preocupações no mundo atual, tornando-se imperativo o uso dos produtos fitossanitários para o controle de pragas. Os insetos representam o maior grupamento de animais e estima-se que os prejuízos causados às plantas por insetos-praga, em todo mundo, são de aproximadamente 13% (TRIPLEHORN; JOHNSON, 2005).

Nesse contexto, o manejo integrado de pragas – MIP surge como uma ferramenta fundamental para redução do uso indiscriminado dos produtos fitossanitários, buscando a sustentabilidade do ambiente e um sistema agrícola produtivo, a fim de reduzir e/ou minimizar os impactos provocados pelo homem na agricultura (MARTINS; MENDES; ALVARENGA, 2004).

Pesquisas desde a década de 50 que buscam métodos de controle mais eficientes de insetos-praga e menos nocivos ao ambiente são realizadas, como por exemplo, o uso de agentes biológicos. Nesse contexto, o emprego do *Bacillus thuringiensis* Berliner é uma alternativa no controle de pragas. No mercado brasileiro estão registrados para comercialização nove produtos bioinseticidas tendo *B. thuringiensis* como princípio ativo. A utilização desses produtos, no entanto, ainda é limitada, em função da perda de estabilidade, ausência de translocação nas plantas, espectro limitado de ação e degradação rápida pela ação da luz ultravioleta (NAVON, 2000).

A toxicidade do *B. thuringiensis* acontece durante o processo da sua esporulação no sistema digestório, produzindo inclusões proteicas cristalinas, as quais são responsáveis pela intoxicação de várias espécies de insetos. Essas proteínas são compostos polipeptídicos conhecidos como δ -endotoxinas ou proteínas Cry, sendo altamente tóxicas para larvas de diversos insetos-praga (FIUZA, 2010a, 2010b). O *B. thuringiensis* pode produzir várias outras toxinas,

como δ -exotoxina, β -exotoxina, hemolisinas, enterotoxinas, quitinases e fosfolipases que também possuem ação tóxica a insetos (MACEDO, 2012).

Então, os insetos predadores formam um grupo diversificado em ecossistemas naturais e agroecossistemas, atuando na regulação populacional de diversos artrópodes fitófagos, como por exemplo, o crisopídeo *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861). Para essa espécie predadora encontrada na Região Neotropical, não se conhece quais são os efeitos dos bioinseticidas sobre seus aspectos biológicos. Nesse contexto, o predador *C. externa* pode estar exposto aos bioinseticidas quando se alimenta de pólen de diversas plantas. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a fecundidade, a viabilidade de ovos e a longevidade de adultos de *C. externa* alimentados com dieta artificial contendo proteínas Cry presentes nos bioinseticidas Agree®, DipelWG® e Xentari®.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados em laboratório utilizando-se produtos inseticidas à base de *B. thuringiensis* nas dosagens máximas recomendadas para o controle de lepidópteros-praga (Tabela 1).

Cada alíquota do bioinseticida após a pesagem foi diluída em 10 mL de água destilada, homogeneizada e incorporada à dieta à base de lêvedo de cerveja e mel (1:1) até a obtenção de consistência pastosa. Os adultos de *C. externa* foram alimentados com a dieta fornecida em tiras de parafilm® dispostas no interior das gaiolas, sendo substituída a cada dois dias para evitar fermentação. O acondicionamento dos adultos foi em gaiolas de PVC de 10,0 cm diâmetro x 10,0 cm de altura, revestidas internamente com papel de filtro-branco, sendo a extremidade superior coberta com tecido tipo organza e a base apoiada em uma placa de Petri, forrada com papel-filtro. A água foi fornecida por meio de um frasco de 10 mL, com um chumaço de algodão embebido em água destilada.

Tabela 1 Nome técnico, comercial, concentração, grupo químico e proteínas dos bioinseticidas avaliados

Nomes		Concentração: g.i.a.L/água	Grupo Químico	Proteínas
Técnico	Comercial			
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Dipel®	0,008	Biológico	Cry1Ab, Cry1Aa, Cry1Ac, Cry2A, Cry2B
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Xentari®	0,005	Biológico	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1C, Cry1D
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Agree®	0,015	Biológico	Cry1Ac, Cry1C, Cry1D, Cry2

O ensaio foi formado por cinco tratamentos, sendo três com cada um dos bioinseticidas *B. thuringiensis*, um tratamento-testemunha de dieta pura e o quinto tratamento complementar composto pela oxadiazina, na dosagem 0,0008g/10,0 ml de água, considerado altamente tóxico aos adultos de *C. externa*. Esse tratamento foi utilizado para se confirmar a alimentação dos insetos das dietas contaminadas. O delineamento foi inteiramente casualizado com dez repetições e cada uma delas formada por um casal de crisopídeos com até 24hs de idade. Avaliaram-se os parâmetros: período de pré-oviposição, oviposição diária e total até o 34º dia, viabilidade de ovos e longevidade durante toda a fase adulta de machos e fêmeas.

As unidades de contenção foram mantidas em laboratório à temperatura ambiente variando de 18°C no período noturno a 26 °C no período diurno. Três dias após o confinamento dos adultos, iniciaram as avaliações dos parâmetros biológicos relacionadas ao potencial reprodutor desse crisopídeo durante 34 dias consecutivos. Em relação à viabilidade de ovos, foram coletados diariamente e de forma aleatória em todos os tratamentos, 70 ovos que foram individualizados em placas de microtitulação cobertas com filme de PVC transparente. As placas foram mantidas em sala com temperatura em condições naturais durante sete dias, considerado tempo suficiente para iniciar a eclosão das larvas.

2.1 Análise estatística dos dados

Em todos os experimentos os dados obtidos foram analisados utilizando o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014). Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de sobrevivência utilizando o pacote Survival (THERNEAU, 2015) utilizando a distribuição de Weibull. Posteriormente, calcularam-se os valores dos tempos letais médios (LT50) para cada tratamento. Os dados de fecundidade média foram analisados pela rotina

dos modelos lineares generalizados com distribuição de Poisson e função de ligação “logit”, sendo as médias comparadas por meio do contraste entre modelos. Para os dados de viabilidade dos ovos, esses foram submetidos à rotina dos modelos lineares generalizados, porém, assumindo a distribuição binomial e função de ligação “logit” com as médias igualmente comparadas pelo contraste entre modelos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se que no tratamento em que foi usado o composto oxadiazina, os adultos morreram em até três dias. Os resultados obtidos nesse tratamento não foram utilizados nas análises estatísticas, mas foram importantes para validar o protocolo utilizado.

Quando se iniciou a observação do período de pré-oviposição, constatou-se comportamento semelhante em todos os tratamentos avaliados, sendo que a oviposição foi iniciada no sexto dia após acasalamento (Tabela 2).

Evidenciou-se acréscimo na quantidade diária de ovos depositados pelos adultos alimentados com os bioinseticidas cujo princípio ativo era *B. thuringiensis*, em que os compostos Xentari®, Agree® e Dipel® contribuíram para um aumento na oviposição do predador, quando comparado ao tratamento testemunha, durante os 34 dias de avaliação consecutiva dos bioinseticidas. Adultos que se alimentaram de dieta contendo Dipel® ovipositaram $8,57 \pm 0,38$ ovos/dia e para o Xentari® a oviposição foi de $10,00 \pm 0,40$ ovos/dia. Para o tratamento Agree® o número de ovos foi de $9,94 \pm 0,43$ ovos/dia e no tratamento testemunha a média foi de $8,09 \pm 0,37$ ovos/dia (Tabela 2).

Tabela 2 Oviposição diária, total, período embrionário, pré-oviposição e viabilidade em % (\pm EP) de *Chrysoperla externa* alimentada com dieta artificial contendo *Bacillus thuringiensis*

Tratamentos	Número de ovos		Período pré-oviposição	Viabilidade* (%)
	Diário*	Total		
Dipel®	$8,57 \pm 0,40$ b	2.915 b	$6,8 \pm 0,49$ a	$73,61 \pm 0,02$ c
Xentari®	$10,00 \pm 0,40$ d	3.403 d	$6,6 \pm 0,46$ a	$77,90 \pm 0,01$ b
Agree®	$9,94 \pm 0,43$ c	3.381 c	$6,9 \pm 0,28$ a	$82,23 \pm 0,01$ a
Testemunha	$8,09 \pm 0,38$ a	2.751 a	$6,7 \pm 0,32$ a	$80,90 \pm 0,01$ a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo contraste entre modelos.

A fecundidade total durante os 34 dias de avaliação dos adultos que se alimentaram de dieta contendo Xentari®, foi de 3.403 ovos. Para os insetos que se alimentaram de dieta contendo Agree® foi de 3.381 ovos e, para o tratamento contendo Dipel®, a oviposição total foi de 2.915 ovos. Para o tratamento testemunha, a oviposição foi de 2.751 ovos. Constatou-se aumento significativo quando comparado ao tratamento testemunha na porcentagem de oviposição dos adultos, sendo de 5,9% em relação ao controle quando a dieta foi Dipel®, 22,9% ao ser usado o Agree® e de 23,7% quando se empregou o Xentari® (Tabela 2).

Em relação ao parâmetro oviposição, quando utilizando outro inseto, Morse e Zareh (1991) observou que a fecundidade do tripses *Scirtothrips citri* (Moulton, 1909) aumentou significativamente nas folhas de citros que continham inseticidas, quando comparada com folhas não tratadas. Porém, Mason et al (2008) constataram que a toxina Cry1Ab causou uma diminuição do número médio de ovos de *Chrysoperla plorabunda* (Fitch). Possivelmente, os cristais proteicos presentes no Dipel, Xentari e Agree influenciaram no comportamento de oviposição desse crisopídeo, fazendo com que se constatasse aumento no número de ovos depositados. Esse aspecto necessita ser melhor investigado e caracterizado para se determinar qual ou quais fatores interferiram nesse parâmetro biológico.

Pode-se imaginar algum fator, por exemplo, hormoligosis. Esse termo é aplicado ao fenômeno em que quantidades subletais de agentes de stress, tais como produtos químicos, antibióticos, hormônios, temperatura, radiação e etc; são estimuladores de um organismo, proporcionando maior eficiência no desenvolvimento de sistemas metabólicos ou fisiológicos para lidar em um ambiente subótimo. Pode-se considerar que a ocorrência desse fator por meio do emprego de inseticidas na agricultura é um fenômeno comum, mas raramente monitorado. Portanto, avaliação científica desse fenômeno será importante para poder se compreender e entender eventuais surtos de determinadas pragas e

avaliar as eventuais falhas nos programas de controle de pragas causadas por um aumento drástico nas populações de insetos (ABIVARD, 2008).

Em relação à viabilidade dos ovos, evidenciou-se redução nos tratamentos com Dipel® e Xentari® sendo que a viabilidade média para ovos de *C. externa* variou de 73,61% para Dipel®; 82,23% para Agree® e 77,90% para o Xentari® (Tabela 2). Os tratamentos testemunha e aquele contendo Agree® não diferiram entre si, sendo constatadas viabilidades de 80,90% e 82,23%, respectivamente. Esses resultados diferiram daqueles obtidos por Tian et al. (2013), em que não foram detectadas diferenças na viabilidade de ovos quando fêmeas de *C. rufilabris* foram alimentadas com uma dieta contendo a proteína Cry 1Ac, Cry 2Ab e Cry 1F.

Pode-se inferir que os bioinseticidas Dipel® e Xentari® influenciaram na redução significativa do número de ovos de *C. externa*, uma vez que esses compostos possuem maiores concentrações de toxina por grama de produto, isso é 95,0 mg. Quando utilizado o Agree®, em função da concentração 49,0 mg da toxina por grama de produto junto com a dieta, foi superior em relação aos demais compostos e assemelhou-se à testemunha. Considerando as diferenças encontradas no número de ovos e também na viabilidade, torna-se necessário o desenvolvimento de pesquisas futuras para se avaliar o efeito dessas proteínas no aparelho reprodutor de *C. externa*.

Em relação à longevidade dos adultos de *C. externa* alimentados com dietas contendo bioinseticidas com *B. thuringiensis*, constatou-se que os compostos não afetaram a longevidade do inseto. O tempo letal (TL₅₀) médio foi de 60,02 dias, independentemente do tipo de Bt empregada, sendo observada sobrevivência de insetos por até 98 dias (Figura 1).

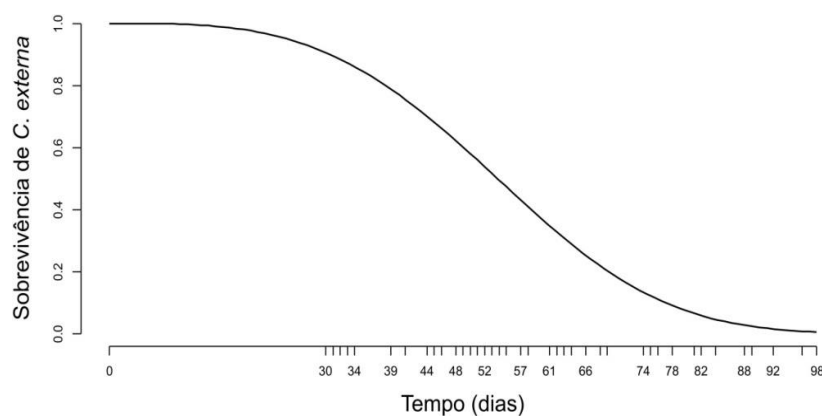


Figura 1 Longevidade de *Chrysoperla externa* alimentada com lêvedo de cerveja + mel (1:1) em associação com bioinseticidas

Os resultados obtidos diferiram daqueles constatados por Dutton et al. (2003), que ao observarem hospedeiros alimentados com Dipel® verificaram que houve um prolongamento no tempo de desenvolvimento do predador *Chrysoperla carnea* (Stephens).

Os resultados dessa pesquisa assemelharam-se aos de Bobrowski et al. (2003), os quais observaram que produtos à base de Bt não causaram efeito deletério sobre predadores e parasitoides. Resultados apresentados por Yamamoto e Bassanezi (2003) com produtos fitossanitários para *C. externa*, evidenciaram que o produto Dipel® mostrou ser inócuo para adultos do predador. De forma semelhante, Bastos et al. (2007) constataram que Dipel® também foi inócuo para *C. externa* evidenciando que os resultados do presente trabalho encontram-se de acordo com aqueles constatados na literatura pertinente.

4 CONCLUSÕES

- a) Adultos alimentados com a dieta contendo os bioinseticidas Dipel®, Xentari® e Agree® provocaram aumento na fecundidade diária e total de *C. externa*.
- b) A viabilidade dos ovos de *C. externa* foi afetada quando adultos foram alimentados com dieta contendo os compostos Dipel® e Xentari®, contudo, não foi observada quando se utilizou dieta contendo o composto Agree®.
- c) A longevidade de machos e fêmeas de *C. externa* não foi influenciada quando foram alimentados com dietas contendo os produtos Dipel®, Xentari® e Agree®.

REFERÊNCIAS

- ABIVARD, C. Pesticide hormoligosis. In: *ENCYCLOPEDIA of entomology*. Dordrecht: Kluwen Academic, 2008. v. 3, p. 2796-2798.
- BASTOS, C. S. et al. **Seletividade de pesticidas à *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae)**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2007. 4 p. (EMBRAPA Algodão, Comunicado técnico, 346).
- BOBROWSKI, V. L. et al. Genes de Bt: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 843-850, set./out. 2003.
- DUTTON, A. et al. Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. **Biological Control**, Orlando, v. 26, n. 2, p. 209-215, Feb. 2003.
- FIUZA, L. M. Mecanismo de ação do *Bacillus thuringiensis*. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 11, n. 38, p. 32-35, 2010a. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio38/bio_38.pdf>. Acesso em: 16 jun. 2015.
- FIUZA, L. M. Produtos de *Bacillus thuringiensis*: registro e comercialização. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 11, n. 38, p. 58-60, 2010b. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio38/bio_38.pdf>. Acesso em: 16 jan. 2015.
- MACEDO, C. L. **Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) (Lepidoptera: Crambidae)**. 2012. 81 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.
- MARTINS, M.; MENDES, A. N. G.; ALVARENGA, M. I. N. Incidência de pragas e doenças em agroecossistemas de café orgânico de agricultores familiares em Poço Fundo-MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 8, n. 6, p. 1306-1313, nov./dez. 2004.

MASON, C. E. et al. Assessment of *Chrysoperla plorabunda* longevity, fecundity, and egg viability when adults are fed transgenic Bt corn pollen. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, Clemson, v. 25, n. 4, p. 265-278, Oct. 2008.

MORSE, J. G.; ZAREH, N. Pesticide-Induced hormoligosis of citrus Thrips (Thysanoptera: Thripidae) fecundity. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 84, n. 4, p. 1169-1174, Aug. 1991.

NAVON, A. *Bacillus thuringiensis* insecticides in crop protection: reality and prospects. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, n. 8/10, p. 669-676, Sept. 2000.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing, reference index. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2014. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 30 jun. 2014.

THERNEAU, T. **A package for survival analysis in S. version 2.38**. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/survival/citation.html>>. Acesso em: 30 jun. 2015.

TIAN, J. C. et al. Bt crops producing Cry1Ac, Cry2Ab and Cry1F do not harm the green lacewing, *Chrysoperla rufilabris*. **PLoS ONE**, São Francisco, v. 8, n. 3, p. 1-6, Mar. 2013.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **An introduction to the study of insects**. 7th ed. Pensilvânia: Saunders College, 2005. 875 p.

YAMAMOTO, P. T.; BASSANEZI, R. B. Seletividade de produtos fitossanitários aos inimigos naturais de pragas dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 24, n. 2, p. 353-382, 2003.

CAPÍTULO 3 Aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* (Hagen) alimentadas com *Schizaphis graminum* (Rondani) e *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) criados em plantas de milho DKB390PRO, DKB390, DKB399; 2B587HX, 2B587 E 30A68

RESUMO

Objetivou-se avaliar a interação entre as cultivares de milho GM DKB390PRO (VTPRO) expressando as proteínas Cry1A105 e Cry2Ab2, seu isohíbrido DKB390 e o convencional DKB399; 2B587HX (RI) expressando Cry1F, seu isohíbrido 2B587 e a cultivar convencional 30A68, com ninfas de *Schizaphis graminum* (Rondani) ou lagarta de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) e larvas de primeiro, segundo e terceiro ínstars de *Chrysoperla externa* (Hagen). Avaliou-se também a preferência alimentar das larvas do predador para as ninfas de *S. graminum* e lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda*, alimentadas do milho transgênico DKB390PRO e seu isohíbrido. As larvas de *C. externa* foram individualizadas em placas de Petri de 5 cm de diâmetro contendo dois grupos de presas, sendo o primeiro formado por aquelas oriundas de plantas Bt e o segundo por seu isohíbrido. Avaliaram-se a preferência pela presa, o tempo de busca e manuseio de larvas de *C. externa*. Para o teste de interação entre as cultivares de milho com larvas de *C. externa* quando alimentadas com hospedeiros mantidos em milho Bt, foram individualizadas 30 larvas por ínstar mantidas em tubos de vidro de 2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura. O delineamento foi inteiramente ao acaso com seis repetições e cada repetição, com cinco larvas para cada ínstar. Para as larvas de *C. externa*, foram ofertadas ninfas de *S. graminum* ou lagartas *S. frugiperda* como alimento avaliando-se o consumo de presas, desenvolvimento, viabilidade dos ovos, longevidade dos insetos oriundos de larvas alimentadas com as presas mantidas nas cultivares de milho. Observou-se que não ocorreu diferença significativa no consumo e no tempo de desenvolvimento dos estágios do predador alimentado com ninfas de *S. graminum*. Também não foram observados efeitos negativos na viabilidade dos ovos e longevidade das larvas de *C. externa* alimentadas com os afídeos, oriundas de milhos transgênicos, isohíbridos e convencional. Quando alimentadas com *S. frugiperda* oriundas das diferentes cultivares de milho, observou-se que o consumo de presa por *C. externa* não foi afetado. Verificou-se que não houve diferença significativa para os parâmetros: tempo de desenvolvimento, viabilidade dos ovos e tamanho das larvas de *C. externa* que se alimentou de lagartas mantidas em cultivar Bt, assim como pelo seu isohíbrido e a cultivar convencional. Para a longevidade dos

adultos oriundos de larvas alimentadas com lagarta *S. frugiperda* o tempo letal (TL₅₀) foi de 59,66 dias, sendo observada a sobrevivência de insetos por até 90 dias. Não foram observadas diferenças preferenciais alimentares entre *S. graminum* e *S. frugiperda*. Constatou-se que o tempo de busca e manuseio da larva de *C. externa* não foi influenciado pela proteína Cry.

Palavras-chave: Predação. Presa. Transgênico

ABSTRACT

The present work intended to evaluate the interaction among the cultivars of corn GM DKB390PRO (VTPRO) expressing proteins Cry1A105 and Cry2Ab2, their isohybrid DKB390 and the conventional DKB399; 2B587HX (RI) expressing Cry1F, its isohybrid 2B587 and a conventional isohybrid 30A68, with third or fourth-instar nymphs of *Schizaphis graminum* or third-instar caterpillar of *Spodoptera frugiperda* and first, second and third instar larvae of the predator *Chrysoperla externa*. Also the feeding preference of the larvae of predator for the nymphs of *S.graminum* (Rondani) and third-instar caterpillars of *S. frugiperda* (J.E. Smith), fed the transgenic corn DKB390PRO and its hybrid was also evaluated. The larvae of *C. externa* were singled on Petri dishes 5 cm in diameter, containing two groups of preys, the first one being formed by those coming from Bt plants and the second one by its isohybrid. Preference for the prey, searching time, the handling of larvae of *C. externa* were evaluated. For the test of interaction among the corn cultivars with larvae of *C. externa* when fed hosts kept on Bt corn, 30 larvae of the predator were singled per instar, evaluated in glass tubes 2.5 cm in diameter x 8.5 cm in height. The design was completely randomized with six replications in each replication with five larvae for each instar of the predator. To the larvae of *C. externa* were given nymphs of *S. graminum* or caterpillars *S. frugiperda* as food and were evaluated the consumption of preys by the predator, the developmental time, egg viability, the longevity of the insects coming from larvae fed the preys kept on the corn cultivars. It was found that no significant difference took place in the consumption and developmental time of the stages of the predator fed nymphs of *S. graminum*. Also, no negative effects on the egg viability and longevity of larvae of *C. externa* fed the aphids coming from transgenic isohybrid and conventional corns were observed. When fed *S. frugiperda*, coming from the different corn cultivars, it was found that the prey consumption by *C. externa* was not affected in a negative way. It was verified that there were significant differences for the parameters: developmental time, egg viability and size of the larvae of *C. externa* which fed on caterpillars kept on Bt cultivar as well as by its isohybrid and the conventional cultivar. For the longevity of the adults coming from larvae fed the caterpillar *S. frugiperda*, the lethal time (TL₅₀) was of 59.66 days, the survival of insects for till 90 days being observed. No preferential feeding differences between *S. graminum* and *S. frugiperda* were found. It was found that search time and handling of the larva of *C. externa* were not influenced by Cry protein. It follows that the feeding in preys which fed on Bt corn did not influence the biological and predation aspects of *C. externa*.

Key words: Predator. Prey. Transgenic.

1 INTRODUÇÃO

O emprego de plantas geneticamente modificadas (GM) traz benefícios para os produtores que necessitam fazer o controle de pragas. Estes visam reduzir os custos de produção com o uso de inseticidas que contribuem de forma indireta, com a fauna de organismos benéficos associados às plantas cultivadas (RODRIGO-SIMÓN et al., 2006).

Nas plantas transgênicas a concentração de proteínas Cry é variável em função da fenologia da planta. Assim, o uso de plantas (GM) pode, em tese, afetar o controle biológico natural por meio de efeitos diretos e indiretos sobre inimigos naturais (BORÉM; ALMEIDA, 2011).

Pesquisadores e ambientalistas têm exteriorizado preocupação em relação ao uso de milho Bt e as consequências ecológicas sobre organismos não alvos, entre eles os que desempenham importante papel no controle de pragas (ROMEIS; MEISSLE; BIGLER, 2006).

As plantas (GM) foram regulamentadas no Brasil pela Lei Nº 11.105/2005 que estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados (OGM) e seus derivados. Seguem também o Decreto 5.591/2005 que regulamenta essa Lei (BRASIL, 2005a, 2005b). Dentre as grandes culturas produzidas no Brasil são comercializadas sementes transgênicas de soja e milho, resistentes a herbicidas e insetos (JAMES, 2010).

Estima-se que a produção global de milho transgênico e convencional na safra 2015/16 poderá atingir o recorde de 1,0 bilhão de toneladas. Na safra 2014/15, a produção mundial foi estimada em 999,4 milhões de toneladas. O Brasil ocupa lugar representativo no mercado de milho, sendo o terceiro maior produtor mundial desse cereal (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE MILHO - ABRAMILHO, 2015). Foram colhidos 80

milhões de toneladas na safra 2013/2014 cultivados em 15,8 milhões de hectares e rendimento de 5.057 kg/ha (BRASIL, 2014). Para a safra 2014/15 estima-se produção de 82,1 milhões de toneladas, com uma área de milho geneticamente modificado de 12,5 milhões de hectare, e uma taxa de adoção e tecnologia de 82,6% (ABRAMILHO, 2015).

Durante o ciclo de desenvolvimento, a cultura do milho pode sofrer injúrias/danos de insetos-praga, causando perdas econômicas ao produtor. A identificação das espécies que são nocivas à cultura é essencial para a adoção de medidas de controle quando necessário. Assim, destacam-se os insetos relacionados à cultura do milho a lagarta do cartucho, lagarta da espiga, curuquerê-dos-capinzais, lagarta-rosca, lagarta-elasma, broca-do-colmo, pulgão-do-milho, entre outros (ZUCCHI; SILVEIRA NETO; NAKAMO, 1993).

Nesse contexto, os insetos predadores formam um grupo diverso no ecossistema e muito importante no MIP. Dentre os predadores de importância para o controle de pragas no ambiente agrícola, os insetos pertencentes à família Chrysopidae, entre eles *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861), destacam-se pela sua ampla distribuição geográfica, ocorrência em vários agroecossistemas, assim como seu potencial de predação dos insetos-praga tais como, pulgões, moscas-brancas, cochonilhas e lagartas entre outros (CARVALHO; SOUZA, 2009).

Para essa espécie predadora encontrada na Região Neotropical não se conhece quais são os efeitos das toxinas presentes nas plantas Bt. Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar a influência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) e o pulgão *Schizaphis graminum* (Rondani) criados em plantas de milho (GM) DKB390PRO expressando as proteínas Cry1A105, Cry2Ab2, 2B587HX com a proteína Cry1F, os isohíbridos DKB390, 2B587; as cultivares convencionais DKB399 e 30A68. Os insetos-praga criados nessas plantas foram utilizados como presa avaliando-se a preferência alimentar das larvas de *C. externa* nos três ínstares em ensaio de livre escolha.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização dos bioensaios, foram semeados o cultivar de sorgo DKB550 Dekalb e do milho Bt da cultivar DKB390PRO contendo Cry1A105 e Cry2Ab2; e também da cultivar 2B587HX contendo Cry1F, sendo semeadas em vasos de 20 cm de diâmetro com 25 cm de altura, mantidos em casa de vegetação e adubados com NPK, na formulação 04-14-08 + 0,3% de Zn, na proporção de três kg/1000kg de solo. Quando as plantas de sorgo e milho atingiram 15 cm de altura, foram transferidas para câmaras climáticas mantidas a $22^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase 12 horas em gaiolas de acrílico de 40 cm de lado x 60 cm de altura revestidas com cartolina branca para melhor visualização dos insetos.

Os pulgões utilizados foram criados em plantas de sorgo mantidas nessas câmaras climáticas durante um período de 15 dias e transferidos para as folhas dos milhos Bt DKB390PRO e 2B587HX, os isohíbridos e milho convencional. Nessas plantas os pulgões foram mantidos durante um período de 20 dias para, posteriormente, com auxílio de um pincel, serem retirados e fornecidos às larvas de *C. externa* que estavam sendo mantidas em tubos de vidro de 2,5cm de diâmetro x 8,5 cm de altura vedados com filme de PVC laminado.

Em relação à obtenção de lagartas de *S. frugiperda*, essas foram criadas em dieta artificial e mantidas a $25 \pm 2^{\circ} \text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas, conforme metodologia utilizada por Sá et al. (2009).

Para a montagem dos bioensaios foram realizados testes preliminares visando determinar a susceptibilidade das lagartas à proteína contida nas cultivares dos milhos Bt. Para esse procedimento empregaram-se em cada condição, 20 lagartas recém-eclodidas e lagartas com 24; 72 e 96 horas de idade. Após dez horas foi observada mortalidade de 100 % das lagartas recém-

eclodidas. Usando lagartas com 24 horas de idade, observou-se mortalidade de 80%. Quando as lagartas estavam com 72 horas, a mortalidade foi de 75% e com lagartas de 96 horas de vida, 80% de indivíduos sobreviveram nas 10 primeiras horas de avaliação. Assim, estabeleceu-se que a idade ideal e comprimento das lagartas a serem oferecidas às larvas de primeiro, segundo e terceiro ínstares *C. externa* seria com 70 horas. Lagartas com 60 horas de idade foram mantidas alimentando-se das folhas de milho Bt por 10 horas, obtendo-se sobrevivência de 60%. Para as cultivares de milho isohíbrido e convencional foram observados sobrevivência de 99% de indivíduos. Para constatar que as lagartas haviam ingerido as folhas de milho, forneceram-se apenas lagartas que apresentavam a coloração esverdeada, sendo o indicativo de que haviam alimentado das folhas dos cultivares.

Visando atender os objetivos propostos, foram realizados os ensaios nas cultivares de milho, sendo: 1. Avaliação do consumo e duração do desenvolvimento de larvas de *C. externa* alimentadas com *S. graminum*; 2. Avaliação da longevidade de machos, fêmeas e viabilidade dos ovos oriundos dos adultos cujas larvas foram alimentadas com pulgões; 3. Avaliação do consumo e duração do desenvolvimento de larvas de *C. externa* alimentadas com *S. frugiperda*; 4. Avaliação da longevidade de machos, fêmeas e viabilidade dos ovos oriundos dos adultos cujas larvas foram alimentadas com lagartas de *S. frugiperda*; 5. Avaliação do tamanho das larvas do predador quando alimentadas com pulgões e/ou lagartas de *S. frugiperda*. Em todos os ensaios utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso e cada tratamento constituído de seis repetições com cinco larvas por repetição por ínstar do predador.

O registro do comprimento de larvas foi feito utilizando-se equipamento fotográfico Nikon D3000, recurso manual, velocidade 1/15, abertura 5.6 e iso 1800. As larvas foram colocadas em uma folha de papel milimetrado, e imediatamente realizadas as fotografias em 10 larvas de primeiro, segundo e

terceiro ínstaes de *C. externa* de cada tratamento, dois dias do início da alimentação com as lagartas *S. frugiperda*, obtendo-se o comprimento das larvas do predador.

Para a determinação da viabilidade dos ovos foram formados casais oriundos do experimento proveniente das larvas de *C. externa* mantidas em condições semelhantes aos ensaios realizados anteriormente. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e 10 repetições, sendo cada parcela constituída por um casal. Em cada tratamento foram coletados aleatoriamente 70 ovos diariamente, os quais eram individualizados em células de placas de microtitulação cobertas com filme de PVC para determinação da viabilidade.

Para realização dos ensaios de preferência alimentar, as plantas de milho das cultivares avaliadas foram mantidas em condições climáticas de forma semelhante aos ensaios precedentes e inoculadas com os pulgões. Simultaneamente, lagartas de *S. frugiperda* de até 60h de idade foram criadas em dieta artificial. Após esse tempo foram transferidas para as plantas de milho, com as mesmas condições climáticas e alimentadas durante o período de 10 horas.

Larvas de primeiro ínstar de *C. externa* provenientes da criação de manutenção, foram individualizadas em tubos de vidro de 2,0 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura, mantidos a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e $70 \pm 10\%$ de umidade e 12 horas de fotofase. Para obtenção de larvas de segundo e terceiro ínstaes de *C. externa*, e mantidas nas mesmas condições foi necessário alimentá-las com ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller).

O delineamento foi inteiramente casualizado com 30 repetições com uma larva por repetição por ínstar do predador; e com duas combinações de cultivares de milho Bt DKB390PRO e o isohíbrido DKB390, as combinações dos insetos *S. frugiperda* e *S. graminum* para os testes de preferência, tempo de

busca e manuseio das larvas do predador. As combinações foram: lagartas *S. frugiperda* mantidas em milho DKB390PRO e DKB390; *S. graminum* mantidos em milho DKB390PRO e DKB390; *S. frugiperda* mantidos em DKB390PRO e *S. graminum* mantidos em DKB390; *S. frugiperda* mantidos em DKB390 e *S. graminum* mantidos em DKB390PRO; *S. frugiperda* mantidos em milho DKB390PRO e *S. graminum* mantidos em milho DKB390PRO; *S. frugiperda* mantidos em DKB390 e *S. graminum* mantidos em DKB390.

As lagartas com 70 horas e os pulgões, que estavam sendo mantidos nas cultivares DKB390PRO e DKB390 foram retirados das folhas do milho com um pincel de ponta fina e colocados em uma placa de Petri e levados ao congelador por um período de 1 minuto para serem imobilizados. Em seguida foram transferidos para uma arena constituída por uma placa de Petri de 5,0 cm de diâmetro contendo os dois grupos de presas para livre escolha. Durante o período de observações dos ensaios foi constatado que as presas permaneciam imóveis durante quatro minutos e vinte segundos. Ao mesmo tempo as larvas de *C. externa* de primeiro, segundo e terceiro ínstares foram mantidas em jejum durante um período de 24 horas e posteriormente foram colocadas no centro da arena com um pincel de ponta fina. Os tempos eram tomados com auxílio de um cronômetro, avaliando-se: a presa escolhida, tempo de busca e manuseio das presas pelas larvas de *C. externa*. O tempo de busca correspondeu ao período em que a presa ficou exposta ao predador, até a sua captura. O período de manuseio correspondeu ao tempo em que o predador ficou em contato com a presa, durante o processo de alimentação.

2.1 Análise estatística dos dados

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014). Nas avaliações de longevidade, de

adultos de *C. externa* os dados de mortalidade foram analisados utilizando o pacote Survival (THERNEAU, 2015) assumindo a distribuição de Weibull, sendo os diferentes tratamentos comparados por meio do contraste entre modelos. Posteriormente, calcularam-se os tempos letais médios (TL₅₀). Os dados de consumo total de presas (pulgão ou lagarta) foram analisados utilizando a rotina de modelos lineares generalizados com distribuição de Poisson e função de ligação “log”. Naquelas situações onde houve diferença significativa, os tratamentos foram comparados por meio do contraste entre modelos com posterior cálculo das médias + erro padrão. Onde foi apresentado o consumo de presa e a duração dos ínstares do predador, calcularam-se somente os valores médios seguidos dos respectivos erros padrão. A viabilidade dos ovos foi submetida à rotina de modelos lineares generalizados com distribuição Binomial e função de ligação “logit”, sendo as médias comparadas por meio do contraste entre modelos. Na avaliação onde se mensurou o comprimento das larvas de *C. externa*, os dados foram analisados pela rotina de modelos lineares generalizados com distribuição de Poisson e função de ligação “identity”. De igual maneira, as médias de cada tratamento foram comparadas por meio de contraste entre modelos. Para o estudo de preferência alimentar, utilizou-se o teste de homogeneidade de qui-quadrado que tem como objetivo verificar se uma variável aleatória apresenta comportamento similar entre as duas condições impostas. Nos estudos de tempo de busca da presa e tempo de manuseio da primeira presa, os valores de tempo em horas foram submetidos à análise estatística, assumindo a rotina de modelos lineares generalizados com distribuição normal e função de ligação “identity”. Como as comparações foram realizadas entre pares, os quais eram formados pelas diferentes condições, somente o resultado da ANOVA foi suficiente para avaliar a diferença estatística entre cada tratamento. Posteriormente, calcularam-se as médias e os erros padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Biologia de *Chrysoperla externa* com larvas alimentadas com *Schizaphis graminum* criados em cultivares de milho DKB390PRO, DKB390 e DKB399; 2B587HX, 2B587 e 30A68

Da observação dos experimentos de consumo e tempo de desenvolvimento de *C. externa* quando alimentadas com pulgões *S. graminum* mantidos nos cultivares DKB390PRO e 2B587HX, constatou-se que não houve diferença entre os tratamentos, ao se comparar o consumo em função do ínstar (Tabela 1). Foi observado que para larvas de primeiro ínstar ocorreu uma média de consumo de 13,27 pulgões com um tempo de desenvolvimento de 2,53 dias. Para larvas de segundo ínstar observou-se uma média de consumo de 31,42 pulgões e um tempo de desenvolvimento de 5,46 dias e para larvas de terceiro ínstar obteve-se um consumo médio de 95,88 pulgões com uma duração de 8,85 dias.

Foi constatado também que o consumo total de afídeos por larvas de *C. externa* variou de $52,18 \pm 2,13$ a $53,25 \pm 2,24$ pulgões, não diferindo quando o predador se alimentou dos afídeos nos diferentes tratamentos (Tabela 1).

Com base nesses resultados, uma hipótese a ser considerada é que o pulgão tenha ingerido uma quantidade de seiva contendo baixo teor de proteína tóxica, a qual foi insuficiente para provocar algum tipo de dano às larvas de *C. externa*. Pode-se também considerar que o predador não seja sensível às proteínas e isso pode ser um dos fatores de não ter sido causado nenhum dano ao predador quando ingeriu pulgões mantidos em cultivares Bt.

Tabela 1 Consumo, tempo de desenvolvimento em dias (\pm EP), consumo total e a viabilidade (%) de larvas de *Chrysoperla externa* alimentada com *Schizaphis graminum* mantidos em cultivares DKB390PRO, DKB390 e DKB399; 2B587HX, 2B587 e 30A68

CULTIVARES	1º instar		2º instar		3º instar		Consumo Total*	Viabilidade* (%)
	Consumo*	Tempo de desenvolvimento*	Consumo*	Tempo de desenvolvimento*	Consumo*	Tempo de desenvolvimento*		
DKB390PRO	13,19 \pm 0,43 a	2,38 \pm 0,10 a	31,37 \pm 0,50 a	5,29 \pm 0,08 a	93,86 \pm 0,95 a	8,82 \pm 0,11 a	52,18 \pm 2,13 a	86,47 \pm 0,01 a
DKB390	13,15 \pm 0,40 a	2,55 \pm 0,10 a	31,92 \pm 1,40 a	5,51 \pm 0,08 a	96,55 \pm 0,61 a	8,89 \pm 0,12 a	52,69 \pm 2,19 a	84,49 \pm 0,01 a
DKB399	13,02 \pm 0,40 a	2,66 \pm 0,10 a	32,36 \pm 1,50 a	5,57 \pm 0,09 a	96,00 \pm 1,02 a	9,11 \pm 0,12 a	53,17 \pm 2,20 a	84,76 \pm 0,01 a
2B587HX	13,37 \pm 0,50 a	2,59 \pm 0,10 a	30,66 \pm 1,16 a	5,53 \pm 0,07 a	95,92 \pm 1,11 a	8,89 \pm 0,11 a	53,09 \pm 2,25 a	86,74 \pm 0,01 a
2B587	13,43 \pm 0,44 a	2,47 \pm 0,10 a	31,18 \pm 0,91 a	5,42 \pm 0,07 a	96,14 \pm 1,03 a	8,64 \pm 0,11 a	52,29 \pm 2,24 a	87,71 \pm 0,01 a
30A68	13,50 \pm 0,47 a	2,53 \pm 0,10 a	31,03 \pm 1,91 a	5,49 \pm 0,07 a	96,81 \pm 0,84 a	8,80 \pm 0,11 a	53,25 \pm 2,24 a	84,68 \pm 0,00 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo contraste entre modelos.

Os resultados da presente pesquisa assemelharam-se àqueles de Mota et al. (2012), que analisaram o efeito da toxina Cry1Ac sobre o predador *C. externa* alimentado com pulgão *Aphis gossypii* (Glover) mantidos em algodão Bt (NuOPAL) e convencional (DeltaOPAL). Os resultados observados revelaram que a biologia e o desenvolvimento de larvas de *C. externa* não foram afetados quando se alimentaram de pulgões mantidos em plantas Bt quando comparados com plantas não Bt.

Os resultados aproximam-se dos de Torres, Ruberson e Adang (2006), em que não observaram nenhum efeito nas características biológicas do predador *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister) quando alimentou-se de afídeos que estavam em algodão contendo a proteína Cry1Ac.

O presente estudo corrobora com os resultados observados por Romeis et al. (2014), evidenciados em uma compilação de trabalhos com afídeos, na qual o predador *C. carnea* não é afetado pelo milho contendo Cry 1Ab. Esses resultados podem ser positivos para o uso associado de plantas Bt e o inimigo natural para o controle de pragas no campo.

Ainda em relação ao parâmetro consumo, foi observada uma diferença gradativa entre o consumo de pulgões e o de larvas de primeiro, segundo e terceiro ínstares de 13,19; 31,37 e 93,86 pulgões, respectivamente. Os resultados da pesquisa assemelharam-se aos de Maia et al. (2004), que estudando o consumo de *C. externa* em *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), observaram um aumento proporcional em função do estágio de desenvolvimento da larva do crisopídeo, sendo o consumo maior no terceiro ínstar do predador. As observações do aumento do consumo de larvas de *C. externa* relacionam-se com os trabalhos de Alcantra et al. (2008), Auad et al. (2007) e Souza et al. (2008), em que larvas do terceiro ínstar são as mais vorazes, representando cerca de 66% do total dos alimentos consumidos pelo predador nessa fase. Assim, os resultados observados do aumento de consumo de pulgões por larvas de *C.*

externa devem-se à maior necessidade nutricional à medida que mudam de instar, aliado ao seu crescimento corporal propriamente dito.

Ao se avaliarem as viabilidades dos ovos de *C. externa* quando oriundos de adultos alimentados com *S. graminum* mantidos nos diferentes cultivares de milho, observou-se que não houve diferenças significativas, com médias entre $84,5 \pm 0,01$ a $87,7 \pm 0,01\%$ (Tabela 1). Os resultados obtidos no presente trabalho são semelhantes aos de Guo et al. (2008), os quais observaram que pulgões *A. gossypii* mantidos em algodões transgênicos GK12 e NUCOTN99B e oferecidos a *Chrysopa pallens* (Rambur) não causaram diferença na viabilidade dos ovos oriundos de fêmeas do predador que se alimentou de plantas transgênicas.

Em relação à longevidade, verificou-se que não houve diferença significativa para *C. externa* alimentadas com *S. graminum* mantidas nos diferentes cultivares na fase larval. O tempo médio foi de 53 dias, sendo registrada a morte do último inseto aos 98 dias após a emergência dos adultos (Figura 1).

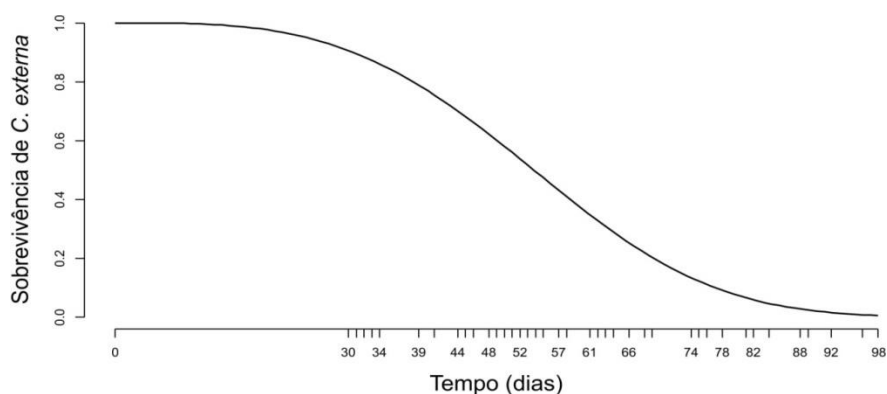


Figure 1 Longevidade de *Chrysoperla externa* alimentados na fase larval com pulgão *Schizaphis graminum*

Assim, pode-se mencionar que as larvas de *C. externa* parecem não sofrer efeito de nenhuma das proteínas Bt nas condições observadas no presente

estudo, e isso é um fator positivo para utilização do controle biológico com esse crisopídeo associado ao uso de plantas Bt.

3.2 Biologia de *Chrysoperla externa* com larvas alimentadas com *Spodoptera frugiperda* criada em cultivares de milho DKB390PRO, DKB390 e DKB399; 2B587HX, 2B587 e 30A68

As observações da susceptibilidade das lagartas de *S. frugiperda* às proteínas contidas nas cultivares dos milhos avaliados no estudo, observou-se que essas quando recém-eclodidas são muito sensíveis à proteína tóxica, ocorrendo 100% de mortalidade nas primeiras 24 horas. Para lagartas com 24 horas de idade, 80% de indivíduos morreram nas dez primeiras horas de avaliação. Quando as lagartas estavam com 72 horas de idade, observou-se 75% de sobrevivência e com lagartas com 96 horas de vida, 80% dos indivíduos sobreviveram nas 10 primeiras horas de avaliação. Os resultados obtidos foram semelhantes às de Dutton, Romeis e Bigler (2005), onde lagartas de *Spodoptera littoralis* (Biosduval) criadas em plantas de milho Bt N4640 apresentaram maior sensibilidade nos primeiros ínstar às proteínas tóxicas, enquanto que aquelas em ínstar mais avançados apresentaram menor mortalidade.

Em relação ao consumo e tempo de desenvolvimento de larvas de *C. externa* alimentadas com lagartas *S. frugiperda* mantidas nos cultivares DKB390PRO e 2B587HX, constatou-se que não houve diferença entre os tratamentos ao se comparar o consumo em função do ínstar (Tabela 2). Foi observado que para larvas de primeiro ínstar ocorreu uma média de consumo de 7,67 lagartas com um tempo de desenvolvimento de 3,43 dias. Para larvas de segundo ínstar observou-se uma média de consumo de 20,78 lagartas e um tempo de desenvolvimento de 3,00 dias e para larvas de terceiro ínstar obteve-se um consumo médio de 52,78 lagartas com uma duração de 4,37 dias. O consumo

total de lagartas *S. frugiperda* por *C. externa* variou entre $26,49 \pm 1,45$ a $28,09 \pm 1,31$, não diferindo quando o predador alimentou-se das lagartas nos diferentes tratamentos (Tabela 2).

Para o parâmetro viabilidade média das larvas de *C. externa* que foram alimentadas com lagartas criadas nas cultivares de milho, constatou-se que essa porcentagem variou de um mínimo de $68,12 \pm 0,02\%$ até um máximo de $76,78 \pm 0,04\%$ nas cultivares DKB390PRO e 2B587, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 Consumo, tempo de desenvolvimento em dias (\pm EP), consumo total e a viabilidade (%) de larvas de *Chrysoperla externa* alimentada com *Spodoptera frugiperda* mantidos em cultivares DKB390PRO, DKB390 e DKB399; 2B587HX, 2B587 e 30A68

CULTIVARES	1º instar		2º instar		3º instar		Consumo Total*	Viabilidade* (%)
	Consumo*	Tempo de desenvolvimento*	Consumo*	Tempo de desenvolvimento*	Consumo*	Tempo de desenvolvimento*		
DKB390PRO	6,92 \pm 0,34 a	2,60 \pm 0,25 a	20,44 \pm 0,67 a	3,27 \pm 0,10 a	50,05 \pm 1,79 a	4,44 \pm 0,18 a	26,49 \pm 1,45 a	68,12 \pm 0,02b
DKB390	7,71 \pm 0,27 a	3,68 \pm 0,11 a	20,76 \pm 0,58 a	2,87 \pm 0,10 a	52,45 \pm 1,74 a	4,45 \pm 0,12 a	27,81 \pm 1,36 a	70,00 \pm 0,02b
DKB399	7,60 \pm 0,23 a	3,66 \pm 0,09 a	20,21 \pm 0,57 a	2,84 \pm 0,09 a	52,78 \pm 1,71 a	4,48 \pm 0,13 a	27,92 \pm 1,35 a	68,91 \pm 0,01b
2B587HX	7,65 \pm 0,31 a	3,06 \pm 0,22 a	21,15 \pm 0,64 a	3,10 \pm 0,20 a	53,83 \pm 1,93 a	4,50 \pm 0,23 a	27,15 \pm 1,50 a	74,55 \pm 0,03 a
2B587	7,80 \pm 0,25 a	3,80 \pm 0,10 a	20,92 \pm 0,57 a	2,90 \pm 0,08 a	53,71 \pm 1,83 a	4,30 \pm 0,11 a	27,27 \pm 1,38 a	76,78 \pm 0,04 a
30A68	8,34 \pm 0,25 a	3,83 \pm 0,08 a	21,22 \pm 0,52 a	3,03 \pm 0,03 a	53,90 \pm 1,68 a	4,10 \pm 0,09 a	28,09 \pm 1,31 a	72,11 \pm 0,03 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo contraste entre modelos.

Os resultados do presente trabalho assemelharam-se aos de Hilbeck et al. (1998) em milho GM contendo a proteína Cry 1Ab e alimentando lagartas de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) e *S. littoralis* e àqueles de Simón et al. (2006) em que não foram evidenciados efeitos prejudiciais a *C. carnea* quando lagartas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) ingeriram as proteínas Cry1Ac, Cry1Ab e Cry2Ab.

Os resultados do presente trabalho também não diferiram daqueles de Sharma, Arora e Pampapathy (2007) em que ao avaliarem plantas de algodão Bt contendo a proteína Cry1Ac não constataram efeito deletério dessa cultivar na abundância de predadores de *C. carnea*, por exemplo, aranhas e coccinelídeos. Contudo, foram divergentes daqueles mencionados por Lawo, Wackers e Romeis (2010), os quais constaram que larvas de *C. carnea* foram sensíveis à proteína e apresentaram efeitos adversos quando ingeriram *H. armigera* que estava em algodão Bt.

Torres, Ruberson e Adang (2006) relacionaram que os teores de proteínas Cry em diferentes predadores, entre eles *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister), são variáveis. Como exemplo, tem-se essa espécie de crisopídeo que foi alimentada com lagartas de lepidópteros que estavam sendo mantidas em algodão contendo a toxina Cry1Ac. Assim, pode-se também observar que os teores de proteínas variam conforme o estágio e tipo de planta, influenciando na ingestão e absorção da proteína pelo predador. Nguyen e Jehle (2007) mostraram que os teores de Cry1Ab variam fortemente entre indivíduos de diferentes plantas e também dos estágios de desenvolvimento da cultura.

Os resultados referentes ao tempo de desenvolvimento dos ínstar de *C. externa* divergiram das observações realizadas por Tian et al. (2013) em que foi observada a duração média de 15 dias para o desenvolvimento larval do predador *C. rufilabris* alimentado com lagartas *S. frugiperda* expostas à proteína Cry1Ac, Cry2Ab e Cry1F e milho não Bt. Nessa situação, deve-se considerar

que foi avaliado inseto do mesmo grupo, contudo, trata-se de outra espécie e também oriunda de outra região zoogeográfica.

Pode-se considerar que os resultados referentes ao tempo de desenvolvimento dos ínstaes de *C. externa* foram decorrentes da temperatura do laboratório que variou de 17°C no período noturno e 26°C no período diurno. Outros fatores que podem ter contribuído foram a idade de 70 horas de *S. frugiperda*, a qualidade nutricional da presa, a população, a variabilidade genética, o comportamento e o tamanho do hospedeiro, uma vez que todos esses fatores podem interferir no desenvolvimento do predador (CANARD, 1970).

Para o parâmetro viabilidade média dos ovos de *C. externa* cujas larvas foram alimentadas com lagartas mantidas nas cultivares de milho, houve variação de $68,12 \pm 0,02\%$ a $76,78 \pm 0,04\%$ (Tabela 2). As diferenças não foram significativas entre os cultivares de milho DKB390PRO, DKB390 e no DKB399. Porém, ocorreu uma diferença significativa nos cultivares, 2B587HX, 2B587 e 30A68 quando comparados aos demais, com viabilidades de $74,55 \pm 0,03\%$, $76,78 \pm 0,04\%$ e $72,11 \pm 0,03\%$, respectivamente.

Os resultados desse estudo divergem daqueles constatados por Tian et al. (2013) nos quais observaram que os hospedeiros *Trichoplusia ni* (Hübner) e *S. frugiperda* alimentados com plantas contendo as proteínas Cry1Ac, Cry2Ab e Cry1F e oferecidas as larvas de *C. rufilabris*, não apresentaram diferenças na viabilidade dos ovos, obtendo-se uma variação de 81,94% para não Bt e 84,72% para milho Bt. Os resultados referentes ao parâmetro viabilidade também são discrepantes das observações realizadas por Maison et al. (2008) em que o número médio de ovos de *Chrysoperla plorabunda* (Fitch) foi significativamente menor para aquelas alimentadas com pólen contendo Cry 1Ab em comparação às fêmeas alimentadas com pólen da planta não Bt.

No presente estudo quando ofertadas ao predador lagartas que se alimentaram das diferentes cultivares, não houve influência na longevidade do

inseto, sendo o tempo letal (TL_{50}) médio de 59,66 dias e independente da cultivar, observando-se insetos sobreviventes por até 90 dias (Figura 2).

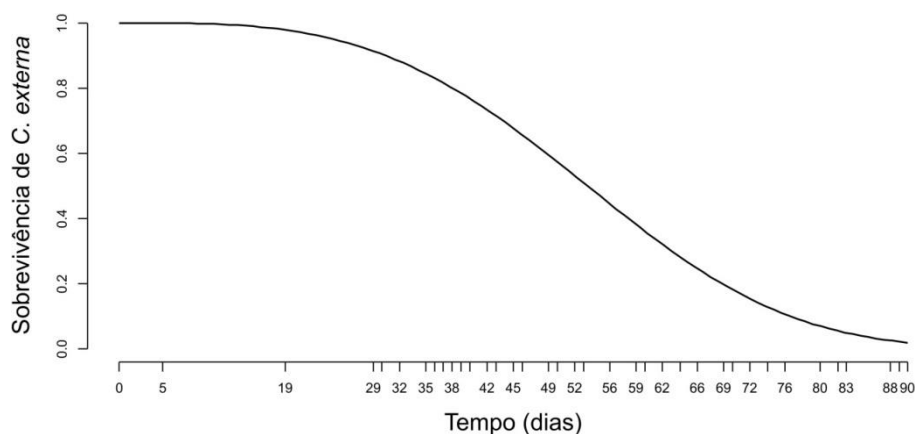


Figura 2 Longevidade de *Chrysoperla externa* alimentada com lagartas criadas em diferentes cultivares de milho

Em relação ao tamanho das larvas de *C. externa* nos seus três ínstares e alimentadas com lagartas de *S. frugiperda* criadas nas cultivares de milho DKB390PRO, DKB390, DKB399, 2B587HX, 2B587 e 30A68, constatou-se que não houve diferenças significativas no comprimento das larvas (Tabela 3), já que se constatou que o comprimento médio das larvas de primeiro, segundo e terceiro instar foi de 3,18; 5,07 e 9,05mm, respectivamente.

Tabela 3 Comprimento mm (\pm EP) de larvas de primeiro, segundo e terceiro ínstares de *Chrysoperla externa* alimentadas com *Spodoptera frugiperda* nas cultivares DKB390PRO, DKB390, DKB399, 2B587HX, 2B587 E 30A68

Cultivares	Comprimento (mm)		
	1º instar*	2º instar*	3º instar*
DKB 390PRO	2,95 \pm 0,05 a	5,05 \pm 0,05 a	9,05 \pm 0,05 a
DKB390	3,30 \pm 0,11 a	5,10 \pm 0,06 a	9,10 \pm 0,06 a
DKB399	3,30 \pm 0,13 a	5,05 \pm 0,05 a	9,10 \pm 0,06 a
2B587HX	2,85 \pm 0,07 a	5,10 \pm 0,10 a	9,05 \pm 0,05 a
2B587	3,30 \pm 0,11 a	5,10 \pm 0,06 a	9,00 \pm 0,00 a
30A68	3,40 \pm 0,12 a	5,05 \pm 0,05 a	9,05 \pm 0,05 a

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo contraste entre modelos.

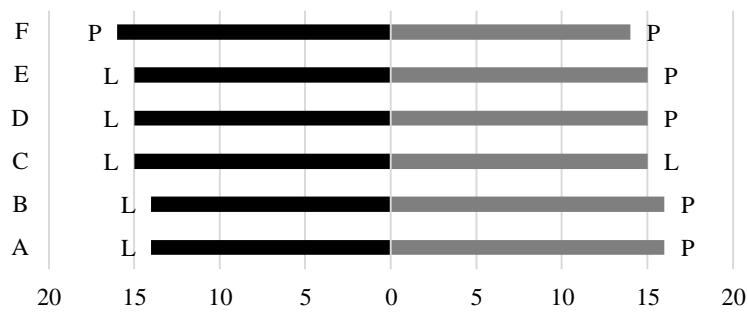
3.3 Preferência alimentar de larvas de *Chrysoperla externa* por *Schizaphis graminum* e *Spodoptera frugiperda* criados em cultivares de milho DKB390PRO e DKB390

Foi observado para esse parâmetro que as larvas de primeiro, segundo e terceiro ínstares de *C. externa* não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, não sendo constatada preferência do predador quando submetido ao teste de escolha, alimentando-se do pulgão ou de lagartas (Figura 3). Esses resultados, então, diferiram daqueles constatados por Nordlund e Morrison (1990) os quais observaram preferência alimentar de *C. rufilabris* quando alimentada com lagartas de *H. virescens* (Fabrícus) e em comparação com o pulgão *A. gossypii*, e que esse afídeo foi a presa preferida do crisopídeo quando comparado a ovos do noctuídeo utilizados como presa.

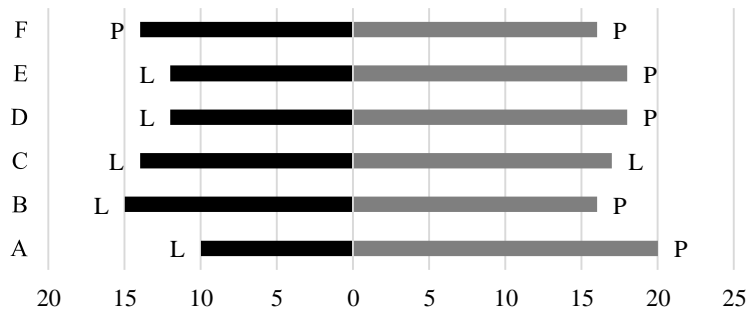
Os resultados obtidos na presente pesquisa foram semelhantes àqueles constatados por Meier e Hilbeck (2001) em que larvas de primeiro e segundo ínstares de *C. carnea* não apresentaram preferência na escolha entre *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus) alimentado no milho Bt ou alimentado com milho não Bt. Entretanto, os resultados diferiram daqueles constatados pelos

autores, para larvas de terceiro ínstar, em que se observou que o predador *C. carnea* apresentou preferência significativa por lagartas de *S. littoralis* que estavam sendo alimentadas com hospedeiros que foram mantidos no milho não Bt.

Larvas de primeiro ínstar de *C. externa*



Larvas de segundo ínstar de *C. externa*



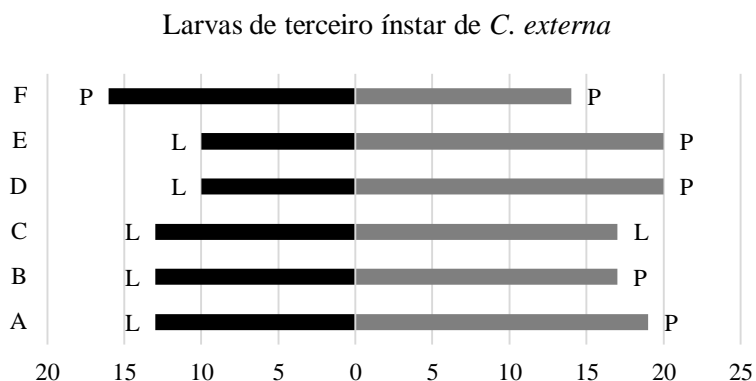


Figura 3 Preferência alimentar de *Chrysoperla externa* em função da presa em cultivares de milho DKB390PRO e DKB390. Graus de liberdade = 4 / X^2 tabelado = 9,487729. A - Lagarta e Pulgão em isolinha; B - Lagarta em isolinha + Pulgão em DKB390PRO; C - Lagarta em DKB360PRO + Lagarta em isolinha; D - Lagarta em DKB360PRO + Pulgão em isolinha; E - Lagarta em DKB360PRO + Pulgão em DKB360PRO; F - Pulgão em DKB390PRO + Pulgão em isolinha. Preferência alimentar pelo teste de homogeneidade de qui-quadrado

Quando se avaliou o tempo de busca da primeira presa, pulgão ou lagarta, nos diferentes tratamentos por larvas de primeiro ínstar de *C. externa*, observou-se não haver diferença significativa entre as diferentes condições (Tabela 4).

Para o tempo de busca de larvas de segundo ínstar de *C. externa*, constatou-se uma diferença significativa na condição da lagarta mantida em milho transgênico e pulgão mantido em milho não transgênico, quando comparado às demais condições; enquanto os outros tratamentos não diferiram entre si (Tabela 4). Para larvas do terceiro ínstar do crisopídeo, constatou-se uma diferença no tempo de busca de lagartas mantida em milho transgênico e dos pulgões mantidos em milho transgênico. Porém, não ocorreram diferenças com as demais combinações avaliadas.

Tabela 4 Tempo médio (horas) de busca e manuseio (EP±) de larvas de *Chrysoperla externa* alimentadas com *Schizaphis graminum* e *Spodoptera frugiperda*. Larvas de primeiro ínstar de *Chrysoperla externa*.

Tempo (médio)	Tratamentos																	
	A			B			C			D			E			F		
	L	+	P	L	+	P	L	+	L	L	+	P	L	+	P	P	+	P
Busca	0,048±0,02		0,049±0,02 _s n	0,039±0,01		0,049±0,02 _s n	0,045±0,02		0,052±0,02 _{ns}	0,037±0,01		0,035±0,01 _s n	0,046±0,02		0,046±0,02 _s n	0,040±0,01		0,036±0,02 _s n
Manuseio	1,41±0,68		0,79±0,52*	1,43±0,74		0,82±0,17*	1,37±0,87		1,39±0,65 _{ns}	1,47±0,10		0,83±0,67*	1,47±0,74		0,91±0,15*	0,71±0,13		0,86±0,26*

Larvas de segundo ínstar de *Chrysoperla externa*

Tempo (médio)	Tratamentos																	
	A			B			C			D			E			F		
	L	+	P	L	+	P	L	+	L	L	+	P	L	+	P	P	+	P
Busca	0,022±0,01		0,020±0,01 _s n	0,018±0,50		0,017±0,06 _s n	0,018±0,07		0,020±0,05 _{ns}	0,019±0,07		0,014±0,03*	0,019±0,07		0,019±0,05 _s n	0,016±0,05		0,015±0,07 _s n
Manuseio	0,58±0,75		0,30±0,67*	0,54±0,40		0,33±0,61*	0,56±0,59		0,57±0,65 _{ns}	0,59±0,13		0,33±0,54*	0,56±0,70		0,34±0,79*	0,31±0,44		0,31±0,56 _{ns}

Larvas de terceiro ínstar de *Chrysoperla externa*

Tempo (médio)	Tratamentos																	
	A			B			C			D			E			F		
	L	+	P	L	+	P	L	+	L	L	+	P	L	+	P	P	+	P
Busca	0,014±0,07		0,011±0,02 _s n	0,012±0,04		0,011±0,04 _s n	0,014±0,02		0,013±0,04 _{ns}	0,011±0,04		0,009±0,03 _s n	0,016±0,01		0,012±0,03*	0,008±0,04		0,010±0,06 _s n
Manuseio	0,32±0,53		0,10±0,24*	0,31±0,43		0,08±0,22*	0,32±0,60		0,34±0,23 _{ns}	0,30±0,50		0,10±0,24*	0,32±0,29		0,09±0,22*	0,09±0,24		0,09±0,22 _{ns}

EP= erro padrão da média.

A - Lagarta e Pulgão em DKB390

B - Lagarta em DKB390 + Pulgão em DKB390PRO

D - Lagarta em DKB390PRO + Pulgão em DKB390

F - Pulgão em DKB390PRO + Pulgão em DKB390

* = Significativo pela comparação de média em amostras pareadas (F≤0,05)

ns = não significativo

C - Lagarta em DKB390PRO + Lagarta em DKB390

E - Lagarta em DKB390PRO + Pulgão em DKB360PRO

Ao considerar o efeito neutro constatado no tempo de busca para as larvas de primeiro ínstar de *C. externa*, pode-se acreditar que as proteínas Cry presentes no hospedeiro não foram suficientes para provocar qualquer distúrbio a essa espécie de crisopídeo. Assim, não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Os resultados observados para as larvas do segundo e terceiro ínstars de *C. externa* evidenciaram diferenças significativas, podendo ser atribuído ao aspecto comportamental, tamanho do hospedeiro, químio reconhecimento e cor, dentre outros. Esses fatores possivelmente influenciaram na busca pela presa, sem desconsiderar que um parâmetro dessa natureza está sempre ligado ao acaso.

Ainda nesse mesmo contexto, Nordlund e Morrison (1990) observaram em teste de laboratório que as larvas de *C. rufilabris* que receberam *Uroleucon ambrosiae* (Thomas) nos dois primeiros ínstars, tiveram o tempo de busca significativamente menor quando comparado ao das larvas que receberam apenas ovos de *Sitotroga cereallevella* (Olivier). Assim, constatou-se no presente trabalho que alimentar as larvas de segundo e terceiro ínstars de *C. externa* com ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) poderá ser um dos fatores que influenciou na capacidade de busca do predador.

Quando observado o tempo de manuseio foram constatadas diferenças significativas no primeiro, segundo e terceiro ínstars, e nas combinações lagarta mantida em milho DKB390 e pulgão mantido em milho DKB390; lagarta mantida em milho DKB390 e pulgão mantido em milho DKB390PRO; lagarta mantida em milho DKB390PRO e pulgão mantido em milho DKB390 e lagarta mantido em milho DKB390PRO e pulgão mantido em milho DKB390PRO. Entretanto, nas demais combinações não se detectaram diferenças significativas (Tabela 4).

Foi observado tempo maior de manuseio de larvas de *C. externa* de primeiro ínstar quando comparado ao segundo e terceiro ínstaes. Resultados semelhantes, foram constatados por Sultan e Khan (2014) que estudaram resposta funcional em condições de laboratório e observaram menor tempo de manuseio para larvas de terceiro ínstar do predador *C. carnea* seguido do segundo e primeiro ínstaes do predador, sendo os tempos de 1,5; 1,7 e 1,9 horas, respectivamente, quando estavam predando a praga da cana-de-açúcar *Aleurolobus barodensis* (Maskell).

O maior tempo de manuseio para larvas de primeiro ínstar, quando comparado aos demais ínstaes de desenvolvimento de *C. externa*, pode ser atribuído ao volume corporal da larva do crisopídeo, sendo menor que o afídeo e o lepidóptero.

Para a condição de pulgão alimentado em milho transgênico e em milho não transgênico, sugere-se que os afídeos possam ter adquirido baixas quantidades de proteínas, dessa forma, não ocorrendo danos ao predador e conseqüentemente, diferença significativa entre os tratamentos. Para a condição lagarta alimentada com milho transgênico e com milho não transgênico, acredita-se que o predador tenha ingerido a proteína quando se alimentou do hospedeiro, porém, a quantidade da proteína ingerida pode ter sido baixa. Assim, os teores de proteínas variam conforme o estágio e tipo de planta e isso pode influenciar na aquisição da proteína pelo hospedeiro e conseqüentemente pelo predador.

De acordo com os resultados, observou-se que em relação ao tempo de manuseio das larvas do primeiro ínstar de *C. externa* houve cinco condições com diferenças. E, para larvas de segundo e terceiro ínstaes ocorreram quatro diferenças. A dinâmica predador-presa, tamanho e cor, pode ter influenciado nas diferentes condições de manuseio. Para a condição pulgão mantido em milho transgênico e em milho não transgênico onde não ocorreu diferença, sugere-se

que o afídeo possa ter adquirido baixas quantidades de proteínas. Para a condição lagarta oriunda de planta transgênica e não transgênica, acredita-se que o predador ingeriu a proteína quando se alimentou do hospedeiro, porém, a quantidade da toxina ingerida pode ter sido pequena.

Então, ao explorar as observações feitas no trabalho e associá-las para condições de campo, vê-se que os resultados obtidos nos ensaios de busca e manuseio com *C. externa* indicaram que o predador não consegue distinguir hospedeiros oriundos de milho com e sem Bt; o que pode ser útil em programas de MIP, para utilização em controle biológico associado ao uso de plantas transgênicas.

4 CONCLUSÕES

- a) Não foram observadas influências das proteínas no consumo, duração das larvas, longevidade de adultos e viabilidade de ovos de *C. externa* alimentada com *S. graminum*, conseqüentemente, não houve influência das proteínas no inimigo natural.
- b) Não foram constatadas diferenças significativas no consumo das larvas de *C. externa* quando alimentadas com *S. frugiperda* mantidas em milho Bt, isohíbrido e convencional.
- c) Larvas de *C. externa* alimentadas com lagartas de *S. frugiperda* não influenciaram na longevidade dos adultos do predador.
- d) A viabilidade de ovos de *C. externa* não foi influenciada quando larvas foram alimentadas com *S. frugiperda* em milho Bt, isohíbrido e convencional.
- e) O comprimento das larvas de *C. externa* não foi influenciado quando se empregou lagartas de *S. frugiperda* com a proteína tóxica.
- f) Não se constatou influência das proteínas Cry1A105 e Cry2Ab2 quanto à escolha da presa e tempo de busca das larvas de *C. externa*.

REFERÊNCIAS

ALCANTRA, E. et al. Biological aspects and predatory capacity of *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) fed on *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae) under different temperatures. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1047-1054, July/Aug. 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE MILHO. **Safra global de milho pode superar 1bi t em 2015/16**. Disponível em: <<http://www.abramilho.org.br/noticias.php?cod=3744>>. Acesso em: 15 ago. 2015.

AUAD, A. M. et al. Potencial de *Chrysoperla externa* (Hagen) no controle de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B em tomateiro. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 29-32, 2007.

BORÉM, A.; ALMEIDA, G. D. de. **Plantas geneticamente modificada: desafios e oportunidades para regiões tropicais**. Visconde de Rio Branco: Suprema, 2011. 390 p.

BRASIL. **Decreto-lei nº 5.591**, de 22 de novembro de 2005. Regulamenta dispositivos da Lei nº 11.105., de 24 de março 2005 que regulamenta os incisos II, IV, e V§ 1º do art. 225 da Constituição e dá outras providências. Brasília, 2005a. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/Decreto/D5591.htm>. Acesso em: 30 jun. 2015.

BRASIL. **Lei nº 11.105**, de 24 março de 2005. Estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados. Brasília, 2005b. Disponível em: <http://planalto.gov.br/ccivil_03/_Atos2004-2006/2005/Lei/L11105.htm>. Acesso em: 30 jun. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos-décimo primeiro levantamento, agosto/2013**. Brasília, 2014. 29 p. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/MilhoTotalSerieHist.xls>>. Acesso em: 13 set. 2015.

CANARD, M. Incidences de la valeur alimentaire de divers pucerons (Homoptera: Aphididae) sur le potentiel de multiplication de *Chrysopa perla* (L.) (Neuroptera: Chrysopidae). **Annales de Zoologie ÉcologieAnimale**, Paris, v. 2, n. 3, p. 345-355, 1970.

CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Métodos de criação e produção de crisopídeos. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2009. cap. 6, p. 77-115.

DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 114, n. 3, p. 161-169, Mar. 2005.

GUO, J. Y. et al. Trophic interaction Between Bt cotton, the Herbivore *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae), and the predator *Chrysopa pallens* (Rambur) (Neuroptera: Chrysopidae). **Environmental Entomology**, Oxford, v. 37, n. 1, p. 263-270, Feb. 2008.

HILBECK, A. et al. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Environmental Entomology**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 480-487, Apr. 1998.

JAMES, C. **Global status of commercialized biotech/GM crops: 2010**. New York: ISAAA, 2010. (ISAAA Brief, n. 42). Disponível em: <<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/42/download/isaaa-brief-42-2010.pdf>>. Acesso em: 30 jun. 2015.

LAWO, N. C.; WACKERS, F. L.; ROMEIS, J. Characterizing indirect prey quality mediated effects of a *Bt* cropon predatory larvae of the green lacewing, *Chrysoperla carnea*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 56, n. 11, p. 1702-1710, Nov. 2010.

MAIA, W. J. M. e S. et al. Capacidade predatória e aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1259-1268, nov./dez. 2004.

MAISON, C. E. et al. Assessment of *Chrysoperla plorabunda* longevity, fecundity, and egg viability when adults are fed transgenic Bt corn pollen. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, Clemson, v. 25, n. 4, p. 265-278, Oct. 2008.

MEIER, M. S.; HILBECK, A. Influence of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on prey preference of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Basic and Applied Ecology**, New York, v. 2, n. 1, p. 35-44, Mar. 2001.

MOTA, T. A. et al. Tritrophic interactions between Bt cotton plants, the aphid *Aphis gossypii* Glover, 1827 (Hemiptera: Aphididae), and the predator, *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 7, n. 44, p. 5919-5924, Nov. 2012.

NGUYEN, H. T.; JEHLE, J. A. Quantitative analysis of the seasonal and tissue-specific expression of Cry1Ab in transgenic maize Mon810. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 114, n. 2, p. 82-87, 2007.

NORDLUND, D. A.; MORRISON, R. K. Handling time, prey preference, and functional response for *Chrysoperla rufilabris* in the laboratory. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 57, n. 3, p. 237-242, Dec. 1990.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing, reference index. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2014. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 30 jun. 2015.

RODRIGO-SIMÓN, A. et al. Lack of detrimental effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins on the insect predator *Chrysoperla carnea*: a toxicological, histopathological, and biochemical analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 2, p. 1595-1603, Feb. 2006.

ROMEIS, J. et al. The end of a myth-Bt (Cry 1Ab) maize does not harm green lacewings. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 5, n. 391, p. 1-10, Aug. 2014.

ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, New York, v. 24, n. 1, p. 63-71, Jan. 2006.

SÁ, V. G. M. de et al. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 1, p.108-115, jan./fev. 2009.

SHARMA, H. C.; ARORA, R.; PAMPAPATHY, G. Influence of transgenic cottons with *Bacillus thuringiensis* cry1Ac gene on the natural enemies of *Helicoverpa armigera*. **BioControl**, Dordrecht, v. 52, n. 4, p. 469-489, Aug. 2007.

SIMÓN, A. R. et al. Lack of detrimental effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins on the insect predator *Chrysoperla carnea*: a toxicological, histopathological, and biochemical analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 2, p. 1595-1603, Feb. 2006.

SOUZA, B. et al. Predation among *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) and *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) larvae under laboratory conditions. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 712-716, May/June 2008.

SULTAN, A.; KHAN, M. F. Functional response of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) to sugarcane Whitefly *Aleurolobus barodensis* (Maskell) in laboratory conditions. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 27, n. 4, p. 454-461, July 2014.

THERNEAU, T. **A package for survival analysis in S. version 2.38**. Disponível em: <<https://cran.rproject.org/web/packages/survival/citation.html>>. Acesso em: 30 jun. 2015.

TIAN, J. C. et al. Bt crops producing Cry1Ac, Cry2Ab and Cry1F do not harm the green lacewing, *Chrysoperla rufilabris*. **PLoS ONE**, São Francisco, v. 8, n. 3, p. 1-6, Mar. 2013.

TORRES, J. B.; RUBERSON, J. R.; ADANG, M. J. Expression of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protein in cotton plants, acquisition by pests and predators: a tritrophic analysis. **Agricultural and Forest Entomology**, Malden, v. 8, n. 3, p. 191-202, Aug. 2006.

ZUCCHI, R. A.; SILVEIRA NETO, S. S.; NAKANO, O. **Guia de identificação de pragas agrícolas**. Piracicaba: FEALQ, 1993. 139 p.