

INTERAÇÃO ENTRE O ALGODOEIRO BOLLGARD™, O ÁCARO RAJADO, *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) E O PREDADOR *Phytoseiulus macropilis* (BANKS) (ACARI: PHYTOSEIIDAE)

por

ALBERTO BELO ESTEVES FILHO

(Sob Orientação do Professor José Vargas de Oliveira)

RESUMO

Plantas de algodoeiro têm sido geneticamente transformadas com genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) os quais conferem resistência a certas espécies de lepidópteros-praga. O algodoeiro Bt Bollgard™ possui genes que expressam a toxina Cry1Ac. Com esta nova variável interagindo nos agroecossistemas, algumas questões foram levantadas sobre a ação de toxinas Cry em artrópodos não-alvo, motivando o desenvolvimento de pesquisas para gerar os esclarecimentos necessários. O ácaro rajado, *Tetranychus urticae* Koch, adquire da planta e mantém em seu corpo concentrações elevadas de toxinas Cry (Cry1Ab do milho Bt e Cry1Ac do algodoeiro Bt). Este resultado leva ao questionamento sobre os possíveis efeitos da toxina sobre este ácaro fitófago e aos seus predadores. Assim, este trabalho investigou a biologia e comportamento de *T. urticae* e do seu predador, *Phytoseiulus macropilis* (Banks) em algodoeiro Bt e não-Bt. Os resultados, obtidos durante três gerações consecutivas, mostram que o algodoeiro Bt não afetou negativamente o tempo de desenvolvimento, a viabilidade das formas imaturas e a reprodução dos dois ácaros. Também, a preferência para a colonização e postura de *T. urticae* e de *P. macropilis* foram similares entre os algodoeiros Bt e não-Bt. Além disso, não houve alteração na preferência de *P. macropilis*, quando predando de *T. urticae* criado em algodoeiro Bt e não-Bt.

O ácaro rajado adquiriu e concentrou em seu corpo aproximadamente 3,97 vezes a quantidade de Cry1Ac expressada na planta de algodoeiro.

PALAVRAS-CHAVE: Toxina Cry1Ac, interação tritrófica, controle biológico, planta transgênica, biologia, comportamento

INTERACTION BETWEEN THE COTTON BOLLGARD™, THE TWOSPOTED SPIDER
MITE, *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) AND ITS PREDATORY
MITE *Phytoseiulus macropilis* (BANKS) (ACARI: PHYTOSEIIDAE).

by

ALBERTO BELO ESTEVES FILHO

(Under the Direction of Professor José Vargas de Oliveira)

ABSTRACT

Cotton plants have been genetically transoformed with genes from the bacterium *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) which confers the plant resistance against certain lepidopoteran pest species. The Bt-cotton carries genes that express the toxin Cry1Ac. This creates new interactions in the agroecosystems encouraging researches to answer the questions about the potential impact on nontarget organisms. In the cotton ecosystem, the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, acquires and mantain in its body high concentrations of Cry toxins (Cry1Ab from Bt-corn and Cry1Ac from Bt-cotton). This finding leads to the question about the potential long term impact on the phytophagous minte, a nontarget, and their predators. Thus, this work investigated the biology and behavior of *T. urticae* and its predatory mite, *Phytoseiulus macropilis* (Banks) on Bt-cotton. The results obtained during three successive generations showed that the Bt-cotton does not affect negatively its development, viability of immature stages and reproductive output. Furthermore, the preference for feeding and oviposition of *T. urticae* and its predator, *P. macropilis*, were similar on both cotton types. In addition, *P. macropilis* exhibited similar

predatory behavior on *T. urticae* fed on both cotton types. Despite of similar results, *T. urticae* acquired about 3.97 times more Cry1Ac than that expressed in the Bt-cotton plants

KEY WORDS: Cry1Ac toxin, tritrophic interaction, biological control, transgenic plants cotton, biology, behavior

INTERAÇÃO ENTRE O ALGODOEIRO BOLLGARD™, O ÁCARO RAJADO, *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) E O PREDADOR *Phytoseiulus macropilis* (BANKS) (ACARI: PHYTOSEIIDAE)

por

ALBERTO BELO ESTEVES FILHO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2008

INTERAÇÃO ENTRE O ALGODOEIRO BOLLGARD™, O ÁCARO RAJADO, *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) E O PREDADOR *Phytoseiulus macropilis* (BANKS) (ACARI: PHYTOSEIIDAE).

por

ALBERTO BELO ESTEVES FILHO

Comitê de Orientação:

José Vargas de Oliveira - UFRPE

Manoel Guedes Correa Gondim Junior - UFRPE

Jorge Braz Torres - UFRPE

RECIFE - PE

Fevereiro – 2008

INTERAÇÃO ENTRE O ALGODOEIRO BOLLGARD™, O ÁCARO RAJADO, *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) E O PREDADOR *Phytoseiulus macropilis* (BANKS) (ACARI: PHYTOSEIIDAE)

por

ALBERTO BELO ESTEVES FILHO

Orientador: _____
José Vargas de Oliveira – UFRPE

Examinadores: _____
Jorge Braz Torres – UFRPE

Manoel Guedes Corrêa Gondim Júnior - UFRPE

Cláudia Helena Cysneiros Matos de Oliveira – UAST/UFRPE

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Alberto Belo e Sônia Maria, e
aos meus avós Ilo Tavares (*In memorian*) e Ivone
Belo (*In memorian*).

Ofereço.

À minha noiva Sthefania Castro,
minhas irmãs Raquel e Vanessa e a meu
sobrinho Leonardo Filho.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

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

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), respectivamente, pela realização do curso e pela concessão da Bolsa.

Aos meus pais Alberto Belo Esteves e Sônia Maria de Oliveira Esteves, pelo amor, respeito, sentido de vida que me ensinaram e todo esforço que tiveram para que eu pudesse chegar até aqui (sem vocês nada disso seria possível).

À minhas irmãs Raquel de Oliveira Esteves e Vanessa Maria de Oliveira Esteves, e meu sobrinho Leonardo Filho por simplesmente me amarem.

À minha noiva Sthefania Rocha de Castro, pelo amor, respeito, atenção e paciência, ou seja, simplesmente por existir em minha vida.

Aos meus segundos pais IloTavares (*In memorian*), Manoel de Oliveira, Ivone Belo (*In memorian*) e Cleonice Vera-Cruz, por me amarem intensamente. Amo vocês.

Aos meus tios Ilo Tavares Filho e Fátima Belo por todo amor e apoio que sempre me deram.

A toda minha família, pelo amor e por sempre torcerem por mim (vocês são meu alicerce).

Aos meus afilhados Camilla e Matheus por alegrarem minha vida e me fazerem esquecer as preocupações por alguns instantes.

Ao meu orientador e amigo Prof. José Vargas de Oliveira, pelos ensinamentos, orientação, confiança, por ter me acolhido e principalmente pela amizade durante todos esses anos (pessoa fundamental na minha vida acadêmica e profissional).

Aos meus co-orientadores Profs. Jorge Braz Torres e Manoel Guedes Corrêa Gondim Júnior, pelas valiosas sugestões, orientações e amizade.

A todos os professores do PPGEA, por contribuírem para o meu crescimento profissional e pessoal e pela amizade.

Aos amigos de turma Alicely, Fernanda, Lígia, Érika, Ariana, Roberta, Andréia, Agna, Shênia, Menezes Júnior, Marcos, Tarcísia e Christian, pelos bons momentos que tivemos (diversão e ralação).

Aos amigos do Laboratório de Entomologia Agrícola Solange, Mariana, Nívea, Raquel, Alexandra, Joilma, Zilândia, Marcileyne e Rodrigo pelos momentos de descontração, pelas festas e também pelos momentos “sérios”.

Aos funcionários da área de Fitossanidade Darcy, Romildo e Luiz pela amizade e por sempre estarem solícitos.

Aos professores do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, Roberto Soares de Castro e Rinaldo Aparecido Mota e a Dra. Michele Moreira Martins de Oliveira pela ajuda na realização dos testes de ELISA.

Aos amigos da Igreja Nossa Senhora da Conceição (Iputinga) por sempre estarem rezando por mim (estaremos sempre unidos em oração).

A todos os meus amigos de graduação, pois de alguma forma contribuíram para o meu sucesso.

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

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

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
LITERATURA CITADA.....	06
2 BIOLOGIA COMPARADA E COMPORTAMENTO DE <i>Tetranychus urticae</i> KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) E <i>Phytoseiulus macropilis</i> (BANKS) (ACARI: PHYTOSEIIDAE) EM ALGODOEIRO BOLLGARD™	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO	13
MATERIAL E MÉTODOS	15
RESULTADOS.....	19
DISCUSSÃO.....	21
AGRADECIMENTOS.....	24
LITERATURA CITADA.....	24

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O Brasil é, atualmente, o quinto produtor mundial de algodão, tendo cultivado em 2007 1.109,062 ha, com produção e produtividade de algodão em caroço de 3.853,449 t e 3.475 Kg/ha, respectivamente (IBGE 2008, USDA 2008).

Dentre os ácaros que infestam o algodoeiro no Brasil, o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) se destaca como praga de considerável importância econômica (Chiavegato *et al.* 1983, Souza Filho *et al.* 1994). Este ácaro se desenvolve na superfície abaxial das folhas e causa manchas avermelhadas na superfície adaxial; posteriormente ocorre necrose e queda das folhas (Gallo *et al.* 2002), além de efeitos indiretos, afetando as características das fibras e das sementes (Oliveira & Calcagnolo 1975).

Durante o seu desenvolvimento, os tetraniquídeos passam pelos estágios de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. Os estágios ninfais e adulto iniciam-se durante intervalos intercalados de inatividade referidos como “protocrisálida”, “deutocrisálida” e “telocrisálida” (Flechtmann 1983). Na maioria das espécies de tetraniquídeos, a reprodução é sexuada, mas pode ocorrer partenogênese, onde fêmeas fertilizadas produzem fêmeas e as não fertilizadas, apenas machos (Flechtmann 1982). Silva *et al.* (1985 a) estudaram a biologia comparada do ácaro rajado nos cultivares de algodoeiro IAC-17, IAC-18 e IAC-19, à temperatura entre 24 e 26 °C, umidade relativa entre 52,0 e 62,0% e fotofase de 14h. Observaram que não houve influência dos cultivares na duração das fases imaturas, no período de pré-oviposição e capacidade de postura, porém o cultivar IAC-19 foi o menos adequado ao desenvolvimento do ácaro, de vez que, proporcionou uma menor viabilidade do período ovo a adulto, menor duração para o período de postura e menor

longevidade de fêmeas. Outros estudos desenvolvidos por Silva *et al.* (1985b) com os mesmos cultivares mostraram, também, que os ácaros criados no cultivar IAC-19 apresentaram menor sobrevivência e taxa líquida de reprodução.

Para as condições do Estado de São Paulo, o ácaro rajado atinge o pico populacional na cultura do algodoeiro em fevereiro, justamente quando ocorreu à formação de maçãs e as infestações foram estabelecidas no início do florescimento (algodão plantado em outubro). Foram observadas colônias compactas nas páginas inferiores das folhas e abundante teia, e certa preferência pela região mediana da planta, seguida pelas regiões do baixeiro e ponteiro (Chiavegato 1972). Temperaturas elevadas e baixa umidade relativa favorecem o desenvolvimento populacional de tetraniquídeos, enquanto que chuvas abundantes contribuem para a redução da infestação. O estado nutricional da planta hospedeira também interfere na dinâmica populacional do ácaro rajado (Oliveira & Calcagnolo 1975).

O controle do ácaro rajado no Brasil é feito, praticamente, com acaricidas sintéticos que, apesar de eficientes, podem provocar ressurgência, surtos de pragas secundárias e seleção de populações resistentes. Estes problemas constituem um dos maiores entraves para o uso de acaricidas no manejo integrado de ácaros fitófagos (Gough 1990, Souza Filho *et al.* 1994, Jacobson *et al.* 1999, Ashley *et al.* 2006, Sato *et al.* 2007). Mais recentemente, vem sendo utilizado em algumas culturas o manejo ecológico, associando-se o controle biológico com ácaros da família Phytoseiidae (Watanabe *et al.* 1994, Morris *et al.* 1999, Greco *et al.* 2005) e práticas de manejo ambiental, incluindo o uso de agroquímicos seletivos (Gravena 2005).

Os ácaros fitoseídeos durante o seu desenvolvimento, também passam pelos estágios de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto (Flechtmann 1983). Constituem, atualmente, os predadores mais eficientes utilizados no controle biológico de ácaros da família Tetranychidae, em diferentes culturas a nível mundial (McMurtry & Croft, 1997, Koehler 1999, Sato *et al.* 2002).

Baseando-se no hábito alimentar, McMurtry & Croft (1997) classificaram os ácaros da família Phytoseiidae em quatro tipos, sendo *P. macropilis* enquadrado no Tipo I, que é especializado na predação de ácaros da família Tetranychidae. Prasad (1967) estudou a biologia de *Phytoseiulus macropilis* Banks em laboratório sob temperatura de 26 °C e 60% de umidade relativa, alimentando-se de *Tetranychus tumidus* Banks. Observou longevidade de 44,6 e 42,1 dias, respectivamente, para fêmeas e machos. A duração dos estágios de ovo, larva, protoninfa e deutoninfa foram de 1,79; 0,54; 0,89 e 0,95 dias, respectivamente. Fêmeas adultas tiveram preferência alimentar por ovos, larvas e ninfas inativas da presa. Durante o estágio ninfal, a taxa de consumo por predador foi de 10 ovos, 12 larvas, 5 ninfas ou 2 adultos da presa. De acordo com Silva *et al.* (2005) a longevidade de fêmeas e machos foi, respectivamente, de 44,0 e 35,8 dias e a fecundidade de 72,2 ovos por fêmea, à temperatura de 26 °C, 60% de umidade relativa e fotofase de 12h.

Com o advento da engenharia genética, diversas plantas cultivadas estão sendo transformadas com a introdução de genes que conferem resistência a pragas. Neste contexto, a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) é, sem dúvida, o organismo mais utilizado como fonte de genes para plantas transgênicas, visando resistência a pragas e, também, em formulações comerciais de inseticidas biológicos, contendo proteínas tóxicas. O algodoeiro transgênico (algodão Bt) possui genes que expressam, entre outras, a toxina Cry1Ac (Guerrante 2003). Em 2006 foram plantados 19 milhões de hectares com plantas transgênicas resistentes a insetos (James 2006). Estas plantas têm se tornado uma tática amplamente utilizada no mundo no manejo de pragas do algodoeiro desde a metade da década de 1990, por serem específicas no controle de lepidópteros (O'Callaghan *et al.* 2005). Segundo Shelton *et al.* (2002), quatro δ -endotoxinas (Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Ab e Cry9c) são capazes de proteger o milho Bt e o algodão Bt do ataque de lepidópteros-praga. Existem, atualmente, mais de 295 genes codificando diferentes toxinas

contra insetos e nematóides (Crickmore *et al.* 2007). Diferentes toxinas possuem toxicidade diferenciadas para ordens de insetos, principalmente, larvas de lepidópteros (Cry1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1L, 1J, 2A, 9A, 9B, 15A), larvas de coleópteros (Cry1B, 1L, 3A, 3B, 3C, 7A, 8A, 8B, 8C, 14A), larvas de dípteros (Cry4A, 4B, 10A, 11A, 2A), e nematóides (Cry5A, 6A, 6B, 12A, 13A). No entanto, a susceptibilidade às toxinas Cry entre as espécies de mesma ou diferente ordem de insetos pode diferir (Slaney *et al.* 1992, Glare & O'Callaghan 2000).

A toxina Cry1Ac presente no algodoeiro Bt confere resistência ao complexo de lagartas de maçãs do algodoeiro dos gêneros *Helicoverpa*, *Heliothis* e *Pectinophora*, bem como à lagarta desfolhadora, *Alabama argillacea* Hübner (Torres 2005). Os possíveis efeitos prejudiciais desta toxina no agroecossistema do algodoeiro sobre artrópodos não-alvo vêm sendo estudados por diversos pesquisadores. Jing-Yuan *et al.* (1999) avaliaram a contribuição do algodoeiro Bt para o manejo integrado de pragas e observaram a sua eficiência no controle de *Helicoverpa armigera* Hübner. No entanto, houve um aumento de populações de *Aphis gossypii* Glover, *Tetranychus cinnabarius* Boisduval e *Empoasca biguttula* Shiraki, e em contra partida, um decréscimo de *Thrips tabaci* Lindeman. Em relação aos inimigos naturais, quando comparado ao algodoeiro não-Bt, houve diminuição no número de *Coccinella septempunctata* L., *Propylaea japonica* Thunberg e *Orius minutus* L., e aumento de *Chrysopa* sp. Outras pesquisas mostraram que não há registro de efeitos negativos diretos da toxina Cry1Ac para predadores e parasitóides, porém parasitóides podem ser prejudicados, se o hospedeiro for afetado pelas toxinas Bt (Armstrong *et al.* 2000, Betz *et al.* 2000, Baur & Boethel 2003, Lövei & Arpaia 2005, Naranjo *et al.* 2005, Torres *et al.* 2006, Zhang *et al.* 2006).

Os estudos, no entanto, enfocam as pragas-alvo e seus inimigos naturais, mas pouco se sabe sobre os possíveis efeitos do algodão Bt sobre as pragas não-alvo. O'Callaghan *et al.* (2005), revisando esse assunto, concluíram que apesar de ainda não se ter registro de problemas sobre

esses artrópodos, são necessárias pesquisas detalhadas com polinizadores, predadores e parasitóides e insetos de solo, visando evidenciar ou não os efeitos das toxinas Cry.

Os possíveis riscos de inimigos naturais (IN) entrarem em contato com as toxinas Cry podem ser analisados, através de duas hipóteses diretas: (i) os IN se alimentarem diretamente da planta Bt; (ii) Alimentarem-se do herbívoro proveniente da planta Bt, e três hipóteses indiretas: (i) o herbívoro ao se alimentar da planta Bt pode ter a sua qualidade reduzida, prejudicando a alimentação dos IN; (ii) a planta Bt perderia a sua qualidade, bem como o herbívoro e os IN deste; (iii) a planta Bt perderia qualidade e os IN poderiam se alimentaria diretamente desta planta de baixa qualidade. Como conseqüência poderia haver uma resposta ecológica para os inimigos naturais, como mortalidade, redução de postura, dentre outros efeitos sub-letais (Andow *et al.* 2006).

O ácaro rajado é susceptível a formulações comerciais de Bt (Hoy *et al.* 1998, Dutton *et al.* 2003), sendo capaz de adquirir e manter toxinas Cry1Ab de milho Bt (Dutton *et al.* 2002) e de Cry1Ac de algodão Bt (Torres & Ruberson 2008), em níveis até 10 vezes maior que nas folhas de plantas transgênicas. Assim, existe o questionamento sobre o possível efeito destas toxinas sobre o ácaro rajado e seus predadores. Obrist *et al.* (2006) avaliaram os efeitos da toxina Cry1Ab sobre o fitoseídeo, *Neoseiulus cucumeris* Oudemans, alimentado com ácaro rajado em milho Bt e não-Bt. A mortalidade, tempo de desenvolvimento e taxa de oviposição não foram afetados pela toxina. No entanto, quando fêmeas do predador foram alimentadas com pólen Bt, tiveram tempo de desenvolvimento 9% maior e redução na fecundidade de 17%, fato que pode ser explicado pela diferença nutricional entre os pólenes de plantas Bt e não-Bt.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da toxina Cry1Ac de algodoeiro Bt sobre o desenvolvimento, reprodução e comportamento de *T. urticae* e do predador, *P. macropilis*, durante três gerações sucessivas.

Literatura Citada

- Andow, D.A., G.L. Lövei & S. Arpaia. 2006.** Ecological risk assessment for Bt crops. *Nature Biotechnol.* 24: 749-751.
- Armstrong, J.S., J. Leser & G. Kraemer. 2000.** An inventory of the key predators of cotton pests on Bt and non Bt cotton in west texas, p. 1030-1033. In P. Dugger & D.A. Richter (eds.), *Beltwide Cotton Conferences*, v.2. National cotton council of America, Memphis, TN.
- Ashley, J.L., D.A. Herbert, E.E. Lewis, C.C. Brewster & R. Huckaba. 2006.** Toxicity of three acaricides to *Tetranychus urticae* (Tetranychidae: Acari) and *Orius insidiosus* (Anthocoridae: Hemiptera). *J. Econ. Entomol.* 99: 54-59.
- Baur, M.E. & D.J. Boethel. 2003.** Effect of Bt-cotton expressing Cry1A(c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. *Biol. Control.* 26: 325-332.
- Betz, F.S., B.G. Hammond & R.L. Fuchs. 2000.** Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Regul. Pharmacol. Toxicol.* 32: 156-173.
- Chiavegato, L.G. 1972.** Ácaros da cultura algodoeira. São Paulo, Instituto Agronômico, 28p. (Circular nº. 17).
- Chiavegato, L.G., M.M. Mischán & M.P. Picinato. 1983.** Resistência do ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) proveniente de diferentes regiões algodoeiras aos acaricidas. *Rev. Científica* 11: 57-62.
- Crickmore, N., D.R. Zeigler, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, A. Bravo & D.H. Dean. 2007.** *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. http://www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/
- Dutton, A., H. Klein, J. Romeis & F. Bigler. 2002.** Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol. Entomol.* 27: 441-447.
- Dutton, A., H. Klein, J. Romeis & F. Bigler. 2003.** Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. *Biol. Control.* 26: 209-215.
- Flechtmann, C.H.W. 1982.** Cariótipos de ácaros tetraniquídeos do Brasil (Acari, Prostigmata, Tetranychidae). *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"* 39: 803-808.
- Flechtmann, C.H.W. 1983.** Ácaros de importância agrícola. São Paulo, Nobel, 189p.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia Agrícola*. Piracicaba, FEALQ, 920 p.

- Glare, T.R., & M. O'Callaghan. 2000.** *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety. John Wiley & Sons, Chichester, 350p
- Gough, N. 1990.** Evaluation of miticides for control of two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch on field roses in southern Queensland. *Crop Prot.* 9: 119-127.
- Gravena, S. 2005.** Manual prático de manejo ecológico de pragas dos citros. Jaboticabal, S.Gravena, 372p.
- Greco, N.M., N.E. Sánchez & G.G. Liljesthröm. 2005.** *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) as a potencial control agent of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): effect of pest/predator ratio on pest abundance on strawberry. *Exp. Appl. Acarol.* 37: 57-66.
- Guerrante R.D.S. 2003,** Transgênicos: uma visão estratégica. Rio de Janeiro, Interciência, 173p.
- Hoy, C.W., J. Feldman, F. Gould, G.G. Kennedy, G. Reed & J.A. Wyman. 1998.** Naturally occurring biological controls in genetically engineered crops, p. 185-205. In P. Brabosa (ed.), *Conservation biological control*. San Diego, Academic Press, 396p.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. 2008.** Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 04.jan. 2008.
- Jacobson, R.J., P. Croft & J. Fenlon. 1999.** Response to fenbutatin oxide in populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in UK protected crops. *Crop Prot.* 18: 47-52.
- James, C. 2006.** Situação global da comercialização das lavouras GM: 2006. Sumário executivo. Brief 35. Disponível em: <http://www.isaaa.org>. Acesso: 06.jan.2008.
- Jing-Yuan, X., C. Jia, M. Li-hua, D. Shuang-ling & C. Xue-Fan. 1999.** The role of transgenic Bt cotton in integrated insect pest management. *Acta Gossypii Sin.* 11: 37-64.
- Koehler, H.H. 1999.** Predatory mites (Gamasida, Mesostigmata). *Agric. Ecosyst. Environ.* 74: 395-410.
- Lövei, G.L. & S. Arpaia. 2005.** The impact of transgenic plants on natural enemies: a critical review of laboratory studies. *Entomol. Exp. Appl.* 114: 1-14.
- McMurtry, J.A. & B.A. Croft. 1997,** Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. *Annu. Rev. Entomol.* 42: 291-321.
- Morris M.A., R.E. Berry & B.A. Croft. 1999.** Phytoseiid mites on peppermint and effectiveness of *Neoseiulus fallacis* to control *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) in arid growing regions. *J. Econ. Entomol.* 92: 1072-1078.
- Naranjo, S.E., G. Head & G.P. Dively. 2005.** Field studies assessing arthropod Nontarget effects in Bt transgenic crops: introduction. *Environ. Entomol.* 34: 1078-1080.

- O'Callaghan, M., T.R. Glare, E.P.J. Burgess & L.A. Malone. 2005.** Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. *Annu. Rev. Entomol.* 50: 271-292.
- Obrist, L.B., H. Klein, A. Dutton & F. Bigler. 2006.** Assessing the effects of Bt maize on the predatory mite *Neoseiulus cucumeris*. *Exp. Appl. Acarol.* 38: 125-139.
- Oliveira, C.A.L., & G. Calcagnolo. 1975.** Ação do ácaro "rajado" *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) na depreciação quantitativa da produção algodoeiro. *Biológico* 41: 307-327.
- Prasad, V. 1967.** Biology of the predatory mite *Phytoseiulus macropilis* in Hawaii (Acarina: Phytoseiidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 60: 905-908.
- Sato, M.E., M. Silva, L.R. Gonçalves, M.F. Souza Filho & A. Raga. 2002.** Toxicidade diferencial de agroquímicos a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em morangueiro Neotrop. *Entomol.* 31: 449-456.
- Sato, M.E., M.Z. Silva, K.G. Cangani & A. Raga. 2007.** Seleções para resistência e suscetibilidade, detecção e monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* ao acaricida clorfenapir. *Bragantia* 66: 89-95.
- Shelton, A.M., J.Z. Zhao & R.T. Roush. 2002.** Economic, ecological, food safety, and Social consequences of the deployment of bt transgenic plants. *Annu. Rev. Entomol.* 47: 845-881.
- Silva, F.R., G.J.N. Vasconcelos, M.G.C. Gondim Jr. & J.V. Oliveira. 2005.** Exigências térmicas e tabela de vida de fertilidade de *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae). *Neotrop. Entomol.* 34: 291-296.
- Silva, M.A., J.R.P. Parra & L.G. Chiavegato. 1985a.** Biologia comparada de *Tetranychus urticae* em cultivares de algodoeiro. I Ciclo biológico. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 20: 741-748.
- Silva, M.A., J.R.P. Parra & L.G. Chiavegato. 1985b.** Biologia comparada de *Tetranychus urticae* em cultivares de algodoeiro. II Tabela de vida de fertilidade. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 20: 1015-1019.
- Slaney, A. C., H. L. Robins, and L. English. 1992.** Mode of action of *Bacillus thuringiensis* toxin cryIII_A: an analysis of toxicity in *Leptinotarsa decemlineata* (Say) and *Diabrotica undecimpunctata howardi* (Barber). *Insect Biochem. Mol. Biol.* 22: 9-18.
- Souza Filho, M.F., N. Suplicy Filho, M.E. Sato & A.P. Takematsu. 1994.** Suscetibilidade do ácaro rajado proveniente de videira de Pilar do Sul, SP, a diversos acaricidas. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 29: 1187-1192.
- Torres J. B. 2005.** Interactions of arthropod predators and cry 1Ac-transgenic cotton. Ph.D. Dissertation, University of Georgia, Athens, Georgia, 235p.

Torres, J.B. & J.R. Ruberson. 2008. Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. *Transg. Res.* (available online 15 June 2007) doi: 10.1007/s11248-007-9109-8

Torres, J.B., J.R. Ruberson & M.J. Adang. 2006. Expression of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protein in cotton plants, acquisition by pests and predators: a tritrophic analysis. *Agric. For. Entomol.* 8: 191-202.

USDA (United States Department of agriculture) 2008.
<http://www.fas.usda.gov/cotton/circular/2008/January/cotton0108.pdf>. Acesso: 15.jan.2008.

Watanabe, M.A., G.J. Moraes, I. Gastaldo Junior & G. Nicolella. 1994. Controle biológico do ácaro rajado com ácaros predadores fitoseídeos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) em culturas de pepino e morango. *Sci. Agric.* 51: 75-81.

Zhang, G., F. Wan, W. Liu & J. Guo. 2006. Early response to plant-delivered Bt-toxin in a herbivore (*Spodoptera litura*) and a predator (*Propylaea japonica*). *Crop Prot.* 25: 527-533

CAPÍTULO 2

BIOLOGIA COMPARADA E COMPORTAMENTO DE *Tetranychus urticae* KOCH
(ACARI: TETRANYCHIDAE) E *Phytoseiulus macropilis* (BANKS) (ACARI:
PHYTOSEIIDAE) EM ALGODOEIRO BOLLGARD™

ALBERTO B. ESTEVES FILHO, JOSÉ V. OLIVEIRA, JORGE B. TORRES E MANOEL G. C. GONDIM JR

Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom
Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos 52171-900 Recife, PE.

Esteves Filho, A.B., J.V. Oliveira, J.B. Torres & M.G.C. Gondim Jr. Biologia comparada e comportamento de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae) em algodoeiro Bollgard™. Neotropical Entomology.

RESUMO – O ácaro *Tetranychus urticae* Koch, herbívoro não alvo das plantas Bt, adquire e concentra em seu corpo níveis da toxina Cry acima daquela expressada na planta. Assim, o presente trabalho investigou o desenvolvimento e a reprodução de *T. urticae* e do seu predador, *Phytoseiulus macropilis* Banks, durante três gerações sucessivas, além dos comportamentos de preferência alimentar, de postura e de predação em algodoeiro não-Bt e Bt Bollgard™. O desenvolvimento e reprodução de *T. urticae* e *P. macropilis* foi conduzido empregando discos de folhas dos algodoeiros Bt e não-Bt, durante três gerações sucessivas. Os experimentos de comportamento, também, empregou arenas contendo discos de folhas conectados por uma lamínula de vidro. Os níveis de Cry1Ac nos discos de folhas empregados, em *T. urticae* e seu predador *P. macropilis* foram determinados através de teste de ELISA. As médias dos resultados de três gerações consecutivas mostram que o algodoeiro Bt não afetou o tempo de desenvolvimento, a viabilidade das formas imaturas e a reprodução dos dois ácaros. Também, a preferência para a colonização e postura de *T. urticae* e de *P. macropilis* foram similares entre os algodoeiros Bt e não-Bt. Além disso, não houve alteração na preferência de *P. macropilis*, quando predando *T. urticae* criado em algodoeiro Bt e não-Bt. Apesar desses resultados, o ácaro rajado adquiriu e concentrou em seu corpo aproximadamente 3,97 vezes a quantidade de Cry1Ac expressada na planta de algodoeiro.

PALAVRAS-CHAVE: Algodão transgênico, Cry1Ac, interação tritífica, artrópodos não-alvo

COMPARED BIOLOGY AND BEHAVIOR OF THE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI:
TETRANYCHIDAE) AND *Phytoseiulus macropilis* (BANKS) (ACARI: PHYTOSEIIDAE), IN
BOLLGARD™ COTTON

ABSTRACT – The two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch is a nontarget herbivorous of Bt-cotton, but acquires and accumulates in its body levels of Cry toxin higher than that expressed by transgenic plants. Thus, this work investigated the development and reproduction of *T. urticae* and of its predator *Phytoseiulus macropilis* Banks, during three successive generations. In addition, behavioral studies of feeding preference, oviposition, and predation were carried out on Bt and non-Bt cottons. The development and reproduction of *T. urticae* and *P. macropilis* was conducted using leaf discs of Bt and non-Bt cottons. Arena containing leaf discs from both cotton types connected by a slide coverslip were also used in the behavioral studies. The levels of Cry1Ac present in the cotton leaf discs, *T. urticae* and its predator *P. macropilis* were quantified using ELISA's test. The three generations means showed that the Bt-cotton does not affect the development, viability of immature stages, and reproductive output of *T. urticae* and its predator, *P. macropilis*. Furthermore, the preference for feeding and oviposition of *T. urticae* and its predator, *P. macropilis*, were similar on both cotton types. In addition, *P. macropilis* exhibited similar predatory behavior on *T. urticae* fed on both cotton types. Despite of similar results, *T. urticae* acquired about 3.97 times more Cry1Ac than that expressed in the Bt-cotton plants. Despite of the amount of toxin acquired by the prey, *T. urticae*, no detectable levels of Cry1Ac was found in the predatory mite, *P. macropilis* preying on *T. urticae* fed Bt-cotton.

KEY WORDS: Transgenic cotton, Cry1Ac, tritrophic interactions, nontarget arthropods

Introdução

O algodoeiro constitui uma das principais culturas para o agronegócio do Brasil, sendo este o quinto maior produtor mundial com produção estimada de 3,85 milhões de toneladas em 2007, com produtividade de 3.475 Kg/ha e área cultivada de mais de 1,1 milhões de hectares (IBGE 2008, USDA 2008). No mundo, em 2006, foram plantados 117,7 milhões de hectares de culturas geneticamente modificadas (GM), sendo 16% somente constituída de algodoeiro Bt (James 2007). O algodoeiro durante os seus estádios fenológicos hospeda um grande número de artrópodos pragas como os ácaros (Degrande 1998). Dentre os ácaros, destaca-se o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch, como praga de grande importância econômica por provocar perdas na produção do algodoeiro e nas características das fibras e sementes (Oliveira & Calcagnolo 1975).

A transformação genética de plantas tem sido conduzida empregando diversos genes objetivando conferir resistência a pragas. Neste contexto, a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) é, sem dúvida, o organismo mais utilizado como fonte de genes para a transformação de plantas visando a resistência, principalmente a lepidópteros e coleópteros pragas no mundo. O algodoeiro transgênico BollgardTM foi produzido para expressar a toxina Cry1Ac (Perlak *et al.* 2001), o qual foi liberado recentemente para o cultivo no Brasil. Mundialmente, o algodoeiro BollgardTM vêm se tornado uma tática importante no manejo de pragas do algodoeiro por possuírem entre outras características especificidade e eficácia no controle de lepidópteros-praga (O'Callaghan *et al.* 2005). Segundo Shelton *et al.* (2002), quatro δ -endotoxinas (Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Ab e Cry9c) são capazes de proteger o milho e o algodoeiro Bt do ataque de lepidópteros. Essas toxinas são produzidas constitutivamente pela planta durante toda a sua fenologia com predominância em determinadas partes das plantas como as folhas. Ao serem expressas

continuamente, as toxinas ficam expostas aos demais herbívoros não alvos e, conseqüentemente, aos seus inimigos naturais. Por exemplo, Dutton *et al.* (2002) observaram que a toxina Cry1Ab produzida pelo milho Bt foi adquirida e acumulada por *T. urticae* em concentrações cerca de 10 vezes mais que os níveis encontrados nas folhas das plantas, fato também comprovado por Obrist *et al.* (2006a) para este ácaro e para a lagarta parcialmente susceptível *Spodoptera littoralis* (Boisduval). Em algodoeiro, Torres & Ruberson (2008) encontraram cerca de 16 vezes mais Cry1Ac em *T. urticae* que no próprio algodoeiro Bt cultivar DPL 555. Além disso, a toxina presente no ácaro fitófago foi adquirida pelos percevejos predadores *Geocoris punctipes* (Say), *Nabis roseipennis* Reuter e *Orius insidiosus* (Say). Em condições controladas ou, mesmo em campo, predadores estão expostos à toxina Cry1Ac produzida pelo algodoeiro Bt, a qual é adquirida pelos herbívoros, especialmente por aqueles não alvos e, portanto, não susceptíveis (Torres *et al.* 2006). Entretanto, todos os trabalhos realizados até o momento não avaliaram os possíveis efeitos subletais das toxinas Cry ao longo de gerações ou indiretos, através da planta e comportamentais, na biologia e comportamento de *T. urticae*, praga não-alvo do algodoeiro Bt, mas que apresenta considerável exposição à toxina. Também, pelo fato do ácaro rajado apresentar susceptibilidade a formulações comerciais de Bt (Hoy *et al.* 1998) e, também, pela sua capacidade em adquirir e manter toxinas Cry da planta hospedeira (ex. algodoeiro Bt) no seu corpo (Torres & Ruberson 2008), têm-se o questionamento sobre o possível efeito dessa toxina sobre os seus predadores, como *Phytoseiulus macropilis* (Banks) que se alimenta, especialmente, de ácaros da família Tetranychidae (McMurtry & Croft 1997).

As informações existentes na literatura sobre a interação da toxina Cry1Ac em ácaros-pragas e predadores são escassas e, assim, o presente trabalho objetivou avaliar se a exposição a Cry1Ac produzida pelo algodoeiro Bollgard™ afetaria o desenvolvimento e a reprodução de *T. urticae* e de *P. macropilis*, durante três gerações sucessivas (i) e; se o ácaro fitófago e seu

predador apresentam alterações comportamentais de preferência alimentar e postura em algodoeiro Bt.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Entomologia Agrícola da Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em estufa incubadora do tipo B.O.D, à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $57 \pm 4\%$ para os experimentos com *T. urticae*, e umidade relativa de $56 \pm 3,5 \%$ para os experimentos com *P. macropilis*, monitorados com termohigrógrafo digital, e fotofase de 12h.

Criação de *T. urticae*. Os ácaros foram criados em plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis* D.C.), cultivadas em casa-de-vegetação em vasos plásticos de 5L de capacidade, contendo solo arenoso. Decorridos 10 dias após o plantio, as plantas foram infestadas com fêmeas adultas do ácaro rajado, obtidas da criação estoque do laboratório. Também foram utilizadas plantas de algodoeiro Acala DP 90B (Bt) e sua isolinha Acala DP 90 (não-Bt), cultivadas em vasos plásticos de 5L contendo solo e húmus de minhoca, na proporção de 2:1, 10g de calcário e 10g de NPK (na formulação 4-14-8), as quais foram infestadas aos 35 dias após o plantio. Os ácaros, também, foram criados no laboratório, em discos de folhas colocados em placas plásticas, idênticas às utilizadas no estudo da biologia de *T. urticae*.

Obtenção e Criação de *P. macropilis*. O predador foi obtido no campus da UFRPE em plantas de feijão-de-porco (*C. ensiformis* D.C.), previamente infestadas com o ácaro rajado. A criação foi mantida em laboratório à temperatura média de 25°C , em arenas, utilizando-se o ácaro rajado como fonte de alimento. Folhas de *C. ensiformes* foram postas sobre papel de filtro, circundadas por algodão hidrófilo, para evitar a fuga dos ácaros, sobrepostas a uma esponja saturada em água, no interior de bandejas plásticas. As folhas foram trocadas semanalmente.

Biologia de *T. urticae*. Estudou-se o desenvolvimento e reprodução de *T. urticae* em discos de folhas de algodoeiro Bt (Acala DP 90B) e sua isolinha não-Bt (Acala DP 90), durante três gerações sucessivas. Folhas da região mediana das plantas, naturalmente preferidas pela praga (Chiavegato 1972) com 35 a 60 dias de idade, foram retiradas para confecção de discos com 5cm de diâmetro. Estes foram dispostos sobre papel de filtro sobrepostos a uma esponja de polietileno umedecida em água de 1cm de espessura. Este conjunto foi mantido no interior de placas plásticas de 15 cm de diâmetro. Foram construídas 12 arenas, cada uma composta por cinco discos de folha de algodão, contendo dois ovos de *T. urticae* com idade de 0–6 h, obtidos da criação em feijão de porco. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos (Bt e não-Bt) e 60 repetições. As arenas foram examinadas a cada 12h, avaliando-se a duração e viabilidade de cada estágio de desenvolvimento. Após a emergência, as fêmeas foram acasaladas com machos obtidos da criação, observando-se, diariamente, o número de ovos produzidos e a longevidade dos adultos. A razão sexual foi determinada na segunda e terceira gerações. Os resultados foram submetidos à análise de variância, após atender os testes de homogeneidade e normalidade dos dados, e analisados pelo teste t de Student dentro de cada geração, utilizando-se o programa computacional SAS version 8.02 (SAS Institute 2001). As curvas de sobrevivência específica dos adultos de *T. urticae* criados em algodoeiros Bt e não-Bt foram comparadas pelo teste Long-Rank através do método Kaplan-Meyer usando o Proc LIFETEST of SAS (SAS Institute 2001).

Biologia de *P. macropilis*. Ácaros, *T. urticae*, foram criados em algodoeiro Bt e não-Bt durante várias gerações e, em seguida, oferecidos aos ácaros predadores em arenas, visando avaliar o efeito da toxina Cry1Ac, adquirida pelos ácaros fitófagos, sobre a biologia de *P. macropilis*. As arenas foram semelhantes às utilizadas nos experimentos de biologia de *T. urticae*, no entanto os discos de folhas foram circundados com algodão hidrófilo, para evitar a fuga dos predadores,

formando assim 12 arenas. Cada arena foi composta por dois discos de folha, cada um contendo um ovo do predador com idade de 0–12 horas. Os experimentos foram realizados no delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e 24 repetições. A duração e viabilidade de cada estágio de desenvolvimento foram avaliadas a cada 12h. Após a emergência, as fêmeas foram confinadas com machos obtidos da criação, observando-se, diariamente, o número de ovos, sobrevivência de fêmeas e machos e razão sexual na segunda e terceira gerações. Os resultados foram submetidos à análise de variância, de acordo com a homogeneidade e normalidade dos dados e analisados de forma semelhante aos experimentos de biologia de *T. urticae*.

Preferência alimentar de *T. urticae*. Foram utilizados discos de folhas de 5cm de diâmetro, obtidos da parte central de folhas medianas de algodão Bt e não-Bt. Os discos foram colocados lado a lado e conectados por uma lamínula de vidro de 18 x 18mm (J.V. Oliveira, dados não publicados). Este conjunto foi disposto sobre papel de filtro, sobreposto a uma esponja saturada em água, no interior de placas plásticas. Na porção mediana da lamínula foram liberadas, com auxílio de pincel, seis fêmeas fecundadas de *T. urticae*, obtidas da criação em feijão de porco, e após 24h avaliou-se o número de fêmeas e o número de ovos depositados em cada disco. Foram utilizados os tratamentos Bt vs Bt, Bt vs não-Bt e não-Bt vs não-Bt em 10 repetições (60 fêmeas por tratamento). Os resultados foram submetidos à análise de frequência de escolha e avaliados pelo teste qui-quadrado, mediante o programa computacional SAS version 8.02 (SAS Institute 2001).

Preferência alimentar de *P. macropilis*. Os experimentos foram conduzidos de forma semelhante aos anteriores, no entanto o conjunto foi circundado com algodão hidrófilo para evitar a fuga dos predadores. Cada disco foi infestado com 20 fêmeas de *T. urticae* obtidas da criação de feijão de porco e após 12h, os ácaros foram retirados e os discos deixados com 60 ovos cada, alimento preferido pelo predador (Prasad 1967, Oliveira *et al.* 2007a). Em seguida, na distância mediana da

lamínula foram liberadas, com auxílio de pincel de pelo fino, quatro fêmeas fecundadas de *P. macropilis*. Decorridas 24h, avaliou-se o número de fêmeas presentes em cada disco, o número de ovos depositados e o número de ovos predados. Foram utilizados os tratamentos Bt vs Bt, Bt vs não-Bt e não-Bt vs não-Bt em 10 repetições. Todos os experimentos foram realizados com ácaros predadores obtidos da criação estoque do laboratório. Os resultados foram submetidos a análise de frequência de escolha e avaliados pelo teste qui-quadrado, mediante o programa computacional SAS version 8.02 (SAS Institute 2001).

Quantificação da toxina Cry1Ac. Os níveis de Cry1Ac nas amostras dos materiais coletados em algodoeiro Bt e não Bt foram quantificados, usando-se placas PathoScreen[®] já preparadas com anticorpos para Bt-Cry1Ac/Cry1Ab ELISA e conjugados com a enzima peroxidase (Agdia[®] Inc., Elkhart, IN). Amostras de folhas de algodoeiro Bt e não-Bt foram coletadas e acondicionadas em tubo Eppendorf de 1,5 mL e congeladas até a extração. Da mesma forma, amostras de ácaro rajado (machos e fêmeas), foram coletadas das plantas, mediante o uso de pincel de pelo fino e colocadas dentro dos tubos. As amostras foram, então, congeladas a -20°C até a extração da toxina, e sua posterior quantificação pelo teste de ELISA. Foram utilizadas três amostras de 10 mg de folha e de 6 mg de *T. urticae*. A extração da toxina foi feita pelo maceramento das amostras em solução salina fostatada e Tween²⁰ (PBST), fornecidos pelos kits adquiridos da Agdia[®] Inc. (Elkhart, IN). O material congelado foi pesado e transferido para outros tubos Eppendorf, adicionando-se a solução PBST 1:10 (peso/volume), sendo esta concentração utilizada para as folhas de algodoeiro. Devido à alta concentração da toxina esperada a ser quantificada no ácaro rajado (Dutton *et al.* 2002, Torres *et al.* 2006), foi empregado a diluição 1:40 (peso/volume) para a extração da toxina do ácaro rajado. O produto sobrenadante foi transferido para novos tubos e centrifugados a 5000 rpm por um minuto. A quantificação dos níveis de toxinas nas amostras foi determinada através das leituras de absorvância com leitor de placa de ELISA a 450

nm. Uma curva padrão de detecção foi empregada utilizando as concentrações 0,75; 1,25; 2,5; 5; 10; 20 e 40 ng/mL do positivo fornecido no kit, da qual foi estimada a concentração de Cry1Ac nas amostras coletadas.

Resultados

Biologia *T. urticae*. Os resultados de desenvolvimento de *T. urticae* não caracterizaram diferenças entre as médias das três gerações quando criado em algodoeiros Bt e não-Bt. No entanto, diferenças na duração de alguns dos estágios imaturos de desenvolvimento de *T. urticae* foram verificadas ao longo das gerações e nas interações entre o tipo de algodoeiro, gerações e estágios de desenvolvimento do ácaro (Tabela 1). Considerando a média das gerações, houve semelhança entre os estágios de desenvolvimento de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e período de ovo a adulto. No entanto, quando se considera cada geração separadamente, observa-se diferenças, nos estágios de larva e protoninfa (1ª geração); deutoninfa e período ovo-adulto (2ª geração); larva e protoninfa (3ª geração) e viabilidade total (1ª e 2ª gerações) (Tabela 2).

Quanto às características avaliadas da fase adulta de *T. urticae*, a fecundidade na segunda geração diferiu estatisticamente entre os algodoeiros Bt e não-Bt ($F_{1, 91} = 17,48$; $P < 0,0001$), com médias de 135,5 e 211,0 ovos, respectivamente, e semelhante nas demais gerações bem como na média geral das três gerações (Tabela 3). A viabilidade de ovos produzidos por fêmeas de ácaros criadas em algodoeiros Bt e não-Bt, em cada geração bem como na média das três gerações, foi semelhante. Da mesma forma, a sobrevivência específica de adultos de *T. urticae* foi semelhante quando criados em algodoeiro Bt e não-Bt, cujos valores foram, respectivamente, de 19,0 e 18,8 dias, na média das três gerações (teste Long-Rank; $\chi^2 = 2,41$; $P = 0,1241$).

Biologia de *P. macropilis*. A duração dos estágios de desenvolvimento do ácaro predador *P. macropilis* alimentados com presa (ácaro rajado) criada em algodoeiros Bt e não-Bt foi

semelhante (Tabela 1). Entretanto, é verificado que houve efeito de gerações, dos estágios de desenvolvimento e suas respectivas interações. O efeito dentro de cada geração e diferenças em alguns dos estágios de desenvolvimento resultou em interação significativa entre estes fatores como verificado para os estágios de larva (1ª geração e média geral); protoninfa e período de ovo-adulto (2ª geração). Esta diferença, entretanto, não persistiu para o período de ovo-adulto na média das três gerações consecutivas do predador alimentando com *T. urticae* provenientes dos algodoeiros Bt e não-Bt. Da mesma forma, não foi observado diferença na viabilidade da fase imatura de *P. macropilis* (Tabela 2).

Em relação as características da fase adulta como o número total de ovos depositados em cada geração, viabilidade de ovos e razão sexual, os resultados foram semelhantes entre os algodoeiros Bt e não-Bt (Tabela 3). Também, foi observada semelhança para a sobrevivência específica para os adultos durante a fase adulta em ambos os tipos de algodoeiro (teste Long-Rank; $\chi^2 = 0,7731$; $P = 0,3793$)

Preferência alimentar de *T. urticae*. Nos testes de preferência alimentar e de postura, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos Bt ($\chi^2 = 0,1335$; $P = 0,7148$) e não-Bt ($\chi^2 = 0,1270$; $P = 0,7216$), respectivamente. Da mesma forma, não houve diferença nas combinações de livre escolha entre os algodoeiros não-Bt vs não-Bt; Bt vs Bt; Bt vs não-Bt. A proporção de fêmeas de *T. urticae* presentes em discos de folhas de algodoeiro Bt e não-Bt, com livre chance de escolha, foi de 53,3 e 46,6%, respectivamente. O tipo de algodoeiro, também, não afetou a taxa de oviposição sendo que 48,6 e 51,4% dos ovos foram encontrados nos discos de folha de algodoeiro Bt e não-Bt, respectivamente.

Preferência alimentar de *P. macropilis*. Nos testes de comportamento do ácaro predador *P. macropilis* submetidos as diferentes combinações de escolha entre os algodoeiros Bt e não-Bt não foi observado alterações quanto a preferência alimentar (Bt vs não-Bt, $\chi^2 = 0,9996$; $P = 0,3174$; Bt

vs Bt, $\chi^2 = 1,0905$; $P = 0,2964$; não-Bt vs não-Bt, $\chi^2 = 0,0835$; $P = 0,7726$), a taxa de oviposição (Bt vs não-Bt, $\chi^2 = 1,5027$; $P = 0,2203$; Bt vs Bt, $\chi^2 = 0,000$; $P = 1,000$; não-Bt vs não-Bt, $\chi^2 = 0,0770$; $P = 0,7814$) e, quanto a taxa de predação (Bt vs não-Bt, $\chi^2 = 0,2159$; $P = 0,6422$; Bt vs Bt, $\chi^2 = 2,2981$; $P = 0,1295$; não-Bt vs não-Bt, $\chi^2 = 0,9455$; $P = 0,3309$). Os percentuais observados para fêmeas, postura e predação foram 64; 63,4 e 51,5% (Bt) e 36,0; 36,6 e 48,5% (não-Bt), respectivamente. Assim, constatou-se que a predação de ovos do ácaro rajado criados e oferecidos em discos de folhas do algodoeiro Bt e não-Bt ao predador foram, em médias, 23,4 e 22 ovos por disco durante 24h de exposição, respectivamente.

Quantificação da toxina Cry1Ac. O nível médio de toxina Cry1Ac (média \pm EP) presente nas folhas do algodoeiro Bt das diferentes coletas feitas ao longo do estudo de biologia de *T. urticae*, foi de $0,31 \pm 0,001$ μg de Cry1Ac/g de peso fresco de folhas. Ao atingirem a fase adulta, *T. urticae* continha, em média, $1,24 \pm 0,03$ μg Cry1Ac/g de peso fresco de ácaro. Assim, a quantidade relativa de Cry1Ac entre a planta hospedeira e o ácaro fitófago é cerca de 3,97 vezes mais toxina em *T. urticae* que na folha do algodoeiro Bt. Os níveis da toxina em folhas de algodoeiro Bt utilizadas nos experimentos de comportamento de *T. urticae* e *P. macropilis* foram, em média, de $0,28 \pm 0,001$ e $0,29 \pm 0,007$ μg de Cry1Ac/g de peso fresco de folha, respectivamente. A toxina Cry1Ac não foi detectada no algodoeiro não-Bt, nem em *T. urticae* criado neste hospedeiro.

Discussão

A toxina Cry1Ac produzida pelo algodoeiro Bt não afetou o desenvolvimento, longevidade, número total de ovos, viabilidade de ovos e razão sexual de *T. urticae*, considerando-se a média de três gerações sucessivas. Estudos sobre as toxinas Cry presentes em plantas transgênicas sobre

ácaros (herbívoros não-alvo), ainda, são incipientes (Carter *et al.* 2004, Rovenská *et al.* 2005, Obrist *et al.* 2006b), mas demonstraram que esses organismos geralmente não são afetados, apesar da grande exposição via aquisição e acúmulo da toxina em seu corpo como encontrado neste estudo. Desta forma podemos descartar o possível efeito direto da toxina Cry1Ac ingerida e presente no corpo de *T. urticae* ser deletéria a este ácaro. Da mesma forma, o efeito indireto da possível alteração da qualidade da planta transgênica de algodoeiro como hospedeiro para *T. urticae*. A qualidade da planta hospedeira é fator determinante para o desempenho de um herbívoro, pois é sabido que alterações na fisiologia e bioquímica da planta afetam diretamente a fecundidade desses (Awmack & Leather 2002). O fato demonstra que o ácaro rajado é realmente um organismo não alvo da toxina Cry1Ac apesar da sua exposição e que possíveis variações populacionais desta espécie em algodoeiro pode estar associado a outros fatores não que o algodoeiro Bt em si. Vale salientar que as mudanças na escolha dos inseticidas, como a não utilização de inseticidas de largo espectro e a frequência de pulverizações podem ser as causas de maior ocorrência de *T. urticae* em lavouras de algodoeiro Bt como observado na China (Men *et al.* 2004, Ma *et al.* 2006). Por outro lado, o ácaro predador *P. macropilis* possui grande potencial para ser utilizado em programas de manejo deste ácaro e, também, não é afetado pela sua exposição à toxina Cry1Ac.

A alimentação pelo ácaro predador, *P. macropilis*, em presas (ácaros) contendo a toxina Cry1Ac não afetou os estágios imaturos (ovo, protoninfa, deutoninfa), o período de ovo-adulto, a longevidade de adultos, número total de ovos, viabilidade de ovos, razão sexual e sobrevivência de adultos durante três gerações consecutivas. Na maioria das pesquisas sobre produção de plantas Bt, tem sido desconsiderado o papel que estas plantas exercem sobre o comportamento de forrageamento de inimigos naturais (Poppy & Sutherland 2004). É conhecido que a inserção de genes do Bt em plantas de algodoeiro promove mudanças em compostos secundários associados

com a interação planta-herbívoros (Jallow *et al.* 1999, Yan *et al.* 2004). De acordo com Yan *et al.* (2004) plantas de algodoeiro Bt produzem 5,5 e 2,8 vezes mais os voláteis α -pineno e β -pineno que algodoeiro não-Bt. De acordo com estes autores, estes compostos foram aqueles responsáveis por excitação das antenas de adultos da mariposa *Helicoverpa armigera* (Hübner), praga importante do algodoeiro. Desta forma, diferenças na composição química dos voláteis produzidos, constitutivamente, ou em resposta a herbivoria, podem alterar a atratividade de plantas para algumas espécies de artrópodes predadores ou torná-las de baixa qualidade. Entretanto, estes possíveis efeitos não foram observados neste caso entre o algodoeiro Bt BollgardTM, o ácaro rajado *T. urticae* e o seu predador *P. macropilis*, em laboratório.

Ácaros, aparentemente, não são susceptíveis às bactérias de modo geral (Van Der Geest *et al.* 2000). Fato que sugere que esses não possuem receptores específicos para os tipos de toxinas Cry presentes até o momento em plantas transgênicas. A ausência de efeito do milho Bt que expressa a toxina Cry1Ab, também, foi observado por Dutton *et al.* (2003). O mesmo ocorreu com a toxina Cry1Ac presente no algodão BollgardTM sobre o desenvolvimento dos estágios imaturos, sobrevivência de adultos e imaturos e o consumo alimentar (número de peletes fecais) de *Scheloribates praeincisus* (Berlese) (Acari: Oribatida) (Oliveira *et al.* 2007b). *Rhizoglyphus robini* (Claparède) (Acari: Acaridae), também, não foi afetado pela toxina Cry3Bb1 presente no milho Bt, em relação à sobrevivência de adultos e imaturos coletados em armadilhas no milho Bt e em quatro isolinhas não-Bt (Carter *et al.* 2004). Similar aos resultados encontrados para *P. macropilis*, Obrist *et al.* (2006a) verificaram que a toxina Cry1Ab no milho Bt, também, não afetou *Neoseiulus cucumeris* Oudemans (Acari: Phytoseiidae), alimentado com *T. urticae*. No entanto, neste estudo as fêmeas de *N. cucumeris* alimentadas com pólen Bt, apresentou cerca de 9% de alongamento no tempo de desenvolvimento e fecundidade reduzida em cerca de 17%. Os

autores explicaram esse resultado pelas possíveis diferenças nutricionais existentes entre os pólenes de plantas Bt e não-Bt.

Os algodoeiros Bt e não-Bt não influenciaram na preferência de adultos e deposição de ovos nas diferentes combinações. Por outro lado, de acordo com Rovenská *et al.* (2005), *T. urticae* preferiu plantas transgênicas de berinjela (*Solanum melongena* L.) expressando a toxina Cry3Bb, e depositou maior quantidade de ovos, em relação à planta não-Bt. O mesmo comportamento foi observado com o ácaro *R. robini* em raízes de milho, contendo a toxina Cry3Bb1 (Carter *et al.* 2004). Em testes de livre escolha, *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot preferiu se alimentar de *T. urticae*, proveniente de plantas de berinjela não-Bt (Rovenská *et al.* 2005). Esse fato indica que o comportamento de ácaros pode ser influenciado pela planta hospedeira, aleloquímicos e tipo de toxina expressada pela planta. Entretanto, no presente trabalho não se observou alteração na preferência de postura e predação de *P. macropilis* entre as combinações de algodoeiro Bt e não-Bt. Estes resultados demonstram que estudos de casos específicos devem ser conduzidos para melhor elucidar o efeito de toxinas Cry sobre ácaros fitoseídeos, na interação praga-planta-inimigo natural.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão de bolsa ao primeiro autor, e a Andreia Serra Galvão pela ajuda nas análises estatísticas. A Roberto Soares de Castro e Rinaldo Aparecido Mota e a Dra. Michele Moreira Martins de Oliveira pela disponibilidade de equipamentos na realização dos testes de ELISA.

Literatura Citada

- Awmack, C.S. & S.R. Leather. 2002.** Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annu. Rev. Entomol.* 47: 817-844.
- Carter, M.E., M.G. Villani, L.L. Allee & J.E. Losey. 2004.** Absence non-target effects of two *Bacillus thuringiensis* coleopteran active δ -endotoxins on the bulb mite, *Rhizoglyphus robini* (Claparède) (Acari, Acaridae). *J. Appl. Entomol.* 128: 56-63.
- Chiavegato, L.G. 1972.** Ácaros da cultura algodoeira. São Paulo, Instituto Agronômico, 28p. (Circular nº. 17).
- Degrande, P.E. 1998.** Guia prático de controle das pragas do algodoeiro. Dourados, UFMS, 60p.
- Dutton, A., H. Klein, J. Romeis & F. Bigler. 2002.** Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol. Entomol.* 27: 441-447.
- Dutton, A., H. Klein, J. Romeis & F. Bigler. 2003.** Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. *Biol. Control.* 26: 209-215.
- Hoy, C.W., J. Feldman, F. Gould, G.G. Kennedy, G. Reed & J.A. Wyman. 1998.** Naturally occurring biological controls in genetically engineered crops, p. 185-205. In: P. Brabosa (ed.), Conservation biological control. San Diego, Academic Press, 396p.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2008.** Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 04.jan. 2008.
- Jallow, M.F.A., M.P. Zalucki & G.P. Fitt. 1999.** Role of chemical cues from cotton in mediating host selection and oviposition behavior in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Aust. J. Entomol.* 38: 359-366.

- James, C. 2007.** Situação global da comercialização das lavouras GM: 2007. Sumário executivo. Brief 37. Disponível em: <http://www.isaaa.org>. Acesso: 06.fev.2008.
- Ma, X.M., X.X. Liu, Q.W. Zhang, J.J. Li & A.M. Ren. 2006.** Impact of transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton on a non-target pest *Tetranychus* spp. in northern China. *Insect Sci.* 8: 279-286.
- McMurtry, J.A. & B.A. Croft. 1997.** Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. *Annu. Rev. Entomol.* 42: 291-321.
- Men, X., Ge, F., Edwards, C.A. & E.N. Yardim. 2004.** Influence of pesticide applications on pest and predatory arthropods associated with transgenic Bt cotton and nontransgenic cotton plants. *Phytoparasitica* 32: 246-254.
- O'Callaghan, M., T.R. Glare, E.P.J. Burgess & L.A. Malone. 2005.** Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. *Annu. Rev. Entomol.* 50: 271-292.
- Obrist, L.B., A. Dutton, J. Romeis & F. Bigler. 2006a.** Biological activity of Cry1Ab toxin expressed by Bt maize following ingestion by herbivorous arthropods and exposure of the predator *Chrysoperla carnea*. *BioControl* 51: 31-48.
- Obrist, L.B., H. Klein, A. Dutton & F. Bigler. 2006b.** Assessing the effects of Bt maize on the predatory mite *Neoseiulus cucumeris*. *Exp. Appl. Acarol.* 38: 125-139.
- Oliveira, C.A.L., & G. Calcagnolo. 1975.** Ação do ácaro "rajado" *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) na depreciação quantitativa da produção algodoeiro. *Biológico.* 41: 307-327.
- Oliveira, H., A. Janssen, A. Palini, M. Venzon, M. Fadini & V. Duarte. 2007a.** A phytoseiid predator from the tropics as potential biological control agent for the spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Biol. Control* 42: 105-109.

- Oliveira, A.R., T.R. Castro, D.M.F. Capalbo & I. Delalibera Jr. 2007b.** Toxicological evaluation of genetically modified cotton (Bollgard[®]) and Dipel[®] WP on the non-target soil mite *Scheloribates praeincisus* (Acari: Oribatida). *Exp. Appl. Acarol.* 41: 191-201.
- Perlak, F.J., M. Oppenhuizen, K. Gustafson, R. Voth, S. Sivasupramaniam, D. Heering, B. Carey, R.A. Ihrig & J.K. Roberts. 2001.** Development and commercial use of Bollgard[®] cotton in the USA – early promises versus today reality. *Plant J.* 27: 489-501.
- Poppy, G.M. & J.P. Sutherland. 2004.** Can biological control benefit from genetically-modified crops? Tritrophic interactions on insect-resistant transgenic plants. *Physiol. Entomol.* 29: 257-268.
- Prasad, V. 1967.** Biology of the predatory mite *Phytoseiulus macropilis* in Hawaii (Acarina: Phytoseiidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 60: 905-908.
- Rovenská, G.Z., R. Zemek, J.E.U. Schmidt & A. Hilbeck. 2005.** Altered host plant preference of *Tetranychus urticae* and prey preference of its predator *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) on transgenic Cry3Bb-eggplants. *Biol. Control* 33: 293-300.
- SAS Institute 2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.2, TS level 2MO. SAS Institute. Inc., Cary, N.C.
- Shelton, A.M., J.Z. Zhao & R.T. Roush. 2002.** Economic, ecological, food safety, and Social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. *Annu. Rev. Entomol.* 47: 845-881.
- Torres, J.B. & J.R. Ruberson. 2008.** Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. *Transg. Res.* (available online 15 June 2007) doi: 10.1007/s11248-007-9109-8.
- Torres, J.B., J.R. Ruberson & M.J. Adang. 2006.** Expression of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protein in cotton plants, acquisition by pests and predators: a tritrophic analysis. *Agric. For. Entomol.* 8: 191-202.

USDA (United States Department of agriculture). 2008.

<http://www.fas.usda.gov/cotton/circular/2008/January/cotton0108.pdf>. Acesso: 15.jan.2008.

Van Der Geest, L.P.S., S.L. Elliot, J.A.J. Breeuwer & E.A.M. Beerling. 2000. Diseases of mites. *Exp. Appl. Acarol.* 24: 497-560.

Yan, F., M. Bengtsson, P. Anderson, L. Ansebo, C. Xu & P. Witzgall. 2004. Antennal response of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) to volatiles in transgenic Bt cotton. *J. Appl. Entomol.* 128: 354-357.

Tabela 1. Resultados da análise de variância para fatores principais referentes à duração dos estágios imaturos de *T. urticae*, criados em discos de folha de algodoeiro Bt e não-Bt, e do predador *P. macropilis*. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $57 \pm 4\%$ (presa) e $56,0 \pm 3,5\%$ (predador) e fotofase de 12h.

Causas de variação	<i>T. urticae</i>			<i>P. macropilis</i>		
	GL	F	P	GL	F	P
Algodoeiro ^a	1	0,21	0,6463	1	0,58	0,4485
Gerações ^b	2	29,31	<0,0001	2	9,38	<0,0001
Algodoeiro*Gerações	2	14,55	<0,0001	2	6,37	0,0018
Estágios ^c	3	2958,81	<0,0001	3	371,02	<0,0001
Algodoeiro*Estágios	3	0,78	0,5031	3	4,07	0,0071
Geração*Estágios	6	36,46	<0,0001	6	6,24	<0,0001
Algodoeiro*Geração*Estágios	6	5,24	<0,0001	6	1,62	0,1389
Erro	1373			540		

^aTratamentos (Bt e não-Bt); ^bTrês gerações consecutivas de *T. urticae* e *P. macropilis* e ^cOvo, larva, protoninfa e deutoninfa.

Tabela 2. Duração média (dias), dos estágios de desenvolvimento de *T. urticae* (n = 60) criados em discos de folha de algodoeiro Bt (Acala DP 90B) e na sua isolinha não-Bt (Acala DP 90), e do predador *P. macropilis* (n = 24). Temp.: 25 ± 1°C, UR: 57,4 ± 3,8% (presa) e 56,0 ± 3,5% (predador) e Fotofase de 12h.

Estágios	1ª Geração		2ª Geração		3ª Geração		Média Geral	
	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt
<i>T. urticae</i>								
Ovo	3,7 ± 0,32	3,7 ± 0,37	3,8 ± 0,03	3,8 ± 0,03	3,7 ± 0,03	3,8 ± 0,03	3,7 ± 0,02	3,7 ± 0,02
Larva	1,6 ± 0,06*	1,4 ± 0,05	1,6 ± 0,05	1,3 ± 0,08	1,5 ± 0,02*	1,3 ± 0,03	1,4 ± 0,35	1,37 ± 0,32
Protoninfa	1,8 ± 0,04	2,0 ± 0,03*	1,2 ± 0,04	1,3 ± 0,07	1,5 ± 0,04*	1,2 ± 0,03	1,5 ± 0,03	1,5 ± 0,04
Deutoninfa	1,9 ± 0,1	1,7 ± 0,06	2,0 ± 0,07	2,2 ± 0,06*	1,5 ± 0,04	1,7 ± 0,05	1,8 ± 0,04	1,8 ± 0,04
Ovo-adulto	9,3 ± 0,09	9,2 ± 0,06	8,9 ± 0,06	9,1 ± 0,04*	8,9 ± 0,03	8,9 ± 0,03	9,0 ± 0,04	9,0 ± 0,03
Viabilidade (%)	70,0 ± 4,20	86,7 ± 3,12*	90,0 ± 2,75*	75,8 ± 3,92	98,3 ± 1,75	99,2 ± 0,83	86,1 ± 1,82	87,2 ± 1,76
<i>P. macropilis</i>								
Ovo	2,5 ± 0,11	2,4 ± 0,08	2,3 ± 0,08	2,6 ± 0,07	2,3 ± 0,08	2,27 ± 0,10	2,4 ± 0,05	2,4 ± 0,05
Larva	1,4 ± 0,03*	1,0 ± 0,06	1,0 ± 0,03	1,0 ± 0,03	1,3 ± 0,05	1,3 ± 0,05	1,3 ± 0,03*	1,1 ± 0,03
Protoninfa	1,5 ± 0,10	1,50 ± 0,07	1,2 ± 0,05	1,4 ± 0,05*	1,4 ± 0,06	1,4 ± 0,05	2,4 ± 0,05	2,4 ± 0,05
Deutoninfa	1,6 ± 0,07	1,8 ± 0,05	1,6 ± 0,06	1,74 ± 0,05	1,4 ± 0,06	1,4 ± 0,05	1,6 ± 0,04	1,6 ± 0,04
Ovo-adulto	7,5 ± 0,21	7,3 ± 0,14	6,8 ± 0,15	7,3 ± 0,15*	6,7 ± 0,15	6,8 ± 0,12	7,0 ± 0,11	7,1 ± 0,08
Viabilidade (%)	91,7 ± 5,76	87,5 ± 6,89	95,8 ± 4,16	95,8 ± 4,16	95,8 ± 4,16	95,8 ± 4,16	94,4 ± 2,72	93,0 ± 3,02

*Médias (± EP), dentro de cada geração, diferem estatisticamente pelo teste de “t” entre os tipos de algodoeiro (P < 0,05).

Tabela 3. Longevidade, número total de ovos, viabilidade de ovos e razão sexual de *T. urticae* criados em discos de folha de algodoeiro Bt (Acala DP 90B) e sua isolinha não-Bt (Acala DP 90), e seu predador *P. macropilis*. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$. UR: $57,4 \pm 3,8\%$ (presa) e $56,0 \pm 3,5\%$ (predador) e fotofase de 12h.

Características	1ª Geração		2ª Geração		3ª Geração		Média Geral	
	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt	Não-Bt	Bt
<i>T. urticae</i>								
No. de ovos/♀	167,4 ± 14,95 (40)	201,1 ± 16,03 (46)	211,0 ± 13,76* (48)	135,5 ± 11,48 (45)	162,7 ± 10,44 (53)	145,9 ± 9,42 (58)	180,5 ± 7,61 (141)	159,9 ± 7,38 (149)
Viabilidade de ovos (%)	95	94	95	95	94	94	95	94
Longevidade de adultos	16,7 ± 0,88 (45)	16,6 ± 0,80 (55)	16,8 ± 0,83 (56)	15,7 ± 0,67 (47)	19,7 ± 1,11 (60)	19,4 ± 1,11 (60)	18,8 ± 0,96 (161)	19,0 ± 0,93 (163)
Razão sexual	-	-	0,9	0,9	0,9	0,8	0,9	0,8
<i>P. macropilis</i>								
No. de ovos/♀	21,2 ± 3,6 (18)	21,5 ± 2,84 (18)	31,4 ± 3,74 (20)	31,9 ± 2,30 (18)	31,4 ± 5,82 (21)	24,3 ± 2,62 (20)	28,4 ± 2,71 (58)	25,8 ± 1,59 (57)
Viabilidade de ovos (%)	98,3	98,5	98,6	98,7	98,8	99,1	98,6	98,8
Longevidade de adultos	28,9 ± 3,44 (22)	36,8 ± 4,05 (21)	32,2 ± 3,92 (23)	30,1 ± 3,15 (23)	27,3 ± 2,90 (23)	31,7 ± 3,01 (23)	29,5 ± 1,92 (68)	33,0 ± 1,97 (67)
Razão sexual	-	-	0,8	0,7	0,9	0,8	0,8	0,8

*Médias (\pm EP), dentro de cada geração, diferem estatisticamente pelo teste “t” entre os tipos de algodoeiro ($P < 0,05$).