

Boletim de Pesquisa 202

e Desenvolvimento ISSN 1676 - 340

Dezembro, 2007

**AVALIAÇÃO ECOLÓGICA DE RISCOS DE
ALGODOEIRO RESISTENTE A INSETOS:
LEVANTAMENTO E SELEÇÃO DE
LEPDÓPTEROS NÃO-ALVO**



Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 202

AVALIAÇÃO ECOLÓGICA DE RISCOS DE ALGODOEIRO RESITENTE A INSETOS: LEVANTAMENTO E SELEÇÃO DE LEPDÓPTEROS NÃO- ALVO

Fontes E. M. G.¹

Pires C. S. S.¹

Pinheiro E. M.L.²

Teixeira M. M.³

Sujii E..R.⁴

Becker V. O.⁵

E.R. Paula D.P.⁷

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Serviço de Atendimento ao Cidadão
Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) –
Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624
<http://www.cenargen.embrapa.br>
e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Sergio Mauro Folle*
Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*
Membros: *Arthur da Silva Marante*
Maria de Fátima Batista
Maurício Machain Franco
Regina Maria Dechechi Carneiro
Sueli Correa Marques de Mello
Vera Tavares de Campos Carneiro
Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*
Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*
Editoração eletrônica: *Daniele Alves Loiola*

1ª edição

1ª impressão (2007):

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A 945 Avaliação ecológica de riscos de algodoeiro resistente a insetos: levantamento e seleção de lepdópteros não-alvo / E. M. G. Fontes ... [et al.]. -- Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.
19 p. -- (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1676 - 1340; 202).

1. Algodoeiro - avaliação ecológica. 2. Algodoeiro - resistente a insetos. I. Fontes, E. M. G. II. Série.

632.96 - CDD 21.

SUMÁRIO

| | |
|---|----------|
| Resumo..... | 3 |
| Abstract..... | 4 |
| 1. Introdução..... | 5 |
| 2. Materiais e Métodos..... | 6 |
| 3. Resultados e Discussão..... | 8 |
| 4. Conclusões..... | 8 |
| 5. Referências Bibliográficas..... | 9 |

AVALIAÇÃO ECOLÓGICA DE RISCOS DE ALGODOEIRO RESISTENTE A INSETOS: LEVANTAMENTO E SELEÇÃO DE LEPDÓPTEROS NÃO-ALVO

Fontes E. M. G.¹

Pires C. S. S.¹

Pinheiro E. M.L.²

Teixeira M. M.³

Sujii E..R.⁴

Becker V. O.⁵

E.R. Paula D.P.¹

Resumo

Várias espécies de Lepidoptera visitam campos de algodão em busca de néctar ou pólen ou se alimentam no estágio imaturo de plantas daninhas associadas à cultura. Este estudo teve como objetivo avaliar o impacto do algodão geneticamente modificado que expressa proteínas inseticidas para o controle de lagartas-pragas sobre a diversidade de lepidópteros não-alvo. Foram realizadas coletas semanais em algodão convencional de espécies que visitam flores e nectários extra-florais ou se alimentam das plantas daninhas associadas à cultura para selecionar aquelas que estariam potencialmente em risco. Adultos foram coletados com rede entomológica no período da manhã. Plantas daninhas encontradas no campo de algodão e arredores foram vistoriadas à procura de lagartas, coletadas, herborizadas e identificadas. Foram coletadas 41 espécies de lepidópteros distribuídas em 11 famílias e 39 espécies de plantas invasoras distribuídas em 9 famílias. Nenhuma das espécies de lepidópteros coletadas está incluída na lista de animais brasileiros ameaçados de extinção. Lagartas de apenas uma espécie, *Chlosyne lacinia* (Nymphalidae), foram encontrada alimentando em *Blainvillea biaristata* (picão-grande), espécie invasora dentro e ao redor do campo de algodão. *C. lacinia* e *B. biaristata* foram as espécies mais frequentes e abundantes na área de estudo. Baseado nos critérios de especialização de hábitat, proporção do hábitat ocupado, abundância no campo de algodão e em outras plantas, sincronismo do ciclo de vida com o da cultura do algodoeiro, especialização de hábito alimentar e probabilidade de exposição direta e indireta às toxinas expressas pela planta, *C. lacinia* foi selecionada como herbívoro não-alvo e será usada como modelo biológico para estudos de impacto ecológico. Para tanto está sendo desenvolvida uma metodologia de criação e estabelecida uma colônia de laboratório.

Palavras-Chave: *Closyne lacinia*, organismos não-alvo, diversidade de espécies, matriz de seleção, planta hospedeira, plantas invasoras.

¹ Bióloga. Dra., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Bióloga, BsC

³ Bióloga, Graduanda, Universidade de Brasília

⁴ Eng. Agr., Dr. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Eng. Agr., Dr. Consultor

Abstract

Ecological risk assessment of *Bt* cotton: survey and selection of non-target Lepidoptera

Several Lepidoptera species are found in cotton fields feeding on nectar or pollen of cotton and weeds, or on weed leaves during the immature stages. The objective of this study was to evaluate the ecological impact of genetically modified (GM) cotton expressing insecticide proteins on non-target Lepidoptera. Field surveys were conducted to collect flower visiting Lepidoptera and caterpillars that feed on weeds in and around cotton fields in central Brazil, with the objective of selecting non-target species that could be affected by the toxin expressed by GM plants. Adults were collected using sweeping nets. Invasive plants found inside and around the cotton field were inspected for the presence of caterpillars, and were collected and pressed for future identification. Forty one Lepidoptera species distributed in 11 families were collected, as well as 39 plant species belonging to 9 families. None of the Lepidoptera species collected is included in the Brazilian list of endangered animal species. Only one species, *Closyne lacinia*, was found feeding in the immature stage on *Blainvillea biaristata* (picão-grande), a serious invasive species of cotton fields. *C. lacinia* and *B. biaristata* were the more frequent and abundant species found. Based on criteria of habitat specialization, proportion of habitat occupation, abundance on cotton and on other plants present in the area, life cycle synchronism with the crop, habitat specialization and probability of direct and indirect exposure to the toxin expressed by the GM plant, *C. lacinia* was selected as a non-target herbivore and will be used as a biological model for risk assessment studies. For this, a methodology for laboratory rearing is being developed and a laboratory colony of this insect is being established.

Key words: *Closyne lacinia*, non-target organisms, species diversity, selection matrix, weeds

Introdução

Os insetos-praga constituem o principal problema agrônomico de várias culturas agrícolas em vários países, causando grandes prejuízos econômicos anualmente (ESTRUCH et al., 1997). Como alternativa de controle dos insetos-praga foram desenvolvidas variedades de plantas transgênicas resistentes a insetos, graças à incorporação de genes que codificam proteínas inseticidas oriundos da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) (HEAD et al., 2001; BOBROWSKI et al., 2003). O uso de plantas Bt resistentes a insetos-praga possibilita a redução do uso de pesticidas, baixando o custo da lavoura e o impacto sobre o meio ambiente (ROMEIS et al., 2004). No entanto, essa tecnologia apresenta riscos potenciais, tais como o impacto sobre a biodiversidade agrícola.

De acordo com a regulamentação dada pela nova Lei de Biossegurança (nº 11.105/2005), a autorização do uso de plantas geneticamente modificadas (GM) pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) requer uma avaliação de risco anterior à liberação no meio ambiente. A avaliação de risco exige o fornecimento de dados e informações científicas sobre os potenciais impactos ambientais do plantio experimental ou comercial de plantas GM, visando seu uso seguro para o meio ambiente e para o consumo humano e animal.

Várias espécies de Lepidóptera que são pragas de plantas cultivadas visitam campos de algodoeiro em busca de néctar ou pólen ou se alimentam no estágio imaturo de plantas daninhas associadas a esta cultura. Adultos de lepidóptera são agentes polinizadores de importância e também são apreciados pelo valor estético. Tendo em vista a importância da função ecológica de polinização nos ambientes agrícolas, esse estudo teve como objetivo geral investigar os efeitos adversos potenciais de plantas geneticamente modificadas para resistência a lagartas pragas sobre borboletas que se alimentam de néctar nas flores do algodoeiro. Um levantamento foi feito em fazendas cotonicultoras do Distrito Federal no período de 2002-2003, e espécies modelos que poderiam ser indicadoras de significativo efeito adverso à herbívoros não-alvo foram selecionadas para posterior avaliação de risco baseando-se em critérios estruturados em matrizes seqüenciais como distribuição geográfica, abundância na cultura e ambientes do entorno, associação com a cultura, significância como polinizador/visitante floral na cultura transgênica, em outras culturas e em áreas naturais e também levando-se em conta a probabilidade de exposição direta e indireta à toxina expressa nas plantas (ARPAIA et al., 2006). Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- 1) Inventariar os adultos e larvas de lepidópteros que visitaram as flores e nectários extra-florais da planta de algodoeiro ou de plantas invasoras que ocorriam dentro e ao redor da cultura, que poderiam ser afetadas pela introdução do algodoeiro *Bt*;
- 2) Inventariar as lagartas que alimentam das plantas invasoras presentes nos campos cultivados com algodoeiros;
- 3) Com base nos inventários, selecionar espécies predominantes com o intuito de conduzir estudos de impacto ecológico.

Material e métodos

Este estudo foi conduzido em um campo de algodoeiro convencional da Fazenda Coperbrás localizada no Núcleo Rural de Tabatinga em Brasília, DF. O campo de estudo possuía uma área de cerca de 4 hectares. Foi feito um levantamento para determinar a presença de fases imaturas de espécies de lepidóptera não-alvo através de saídas de campo semanais. Cinco coletores vistoriavam as plantas aleatoriamente por uma hora à procura de lagartas de espécies de lepidóptera que não são pragas do algodoeiro, totalizando um esforço de 5 horas de coleta. As plantas eram cuidadosamente vistoriadas à procura de lagartas sobre as folhas, caule e dentro ou sobre as flores da planta de algodão. Insetos imaturos e ovos eram levados para o laboratório para criação.

Foram também vistoriadas quinzenalmente as plantas invasoras encontradas dentro e ao redor da cultura à procura de lagartas. Quando encontradas, estas eram levadas para o laboratório e criadas para identificação do adulto. Todas as espécies de plantas invasoras presentes no campo de algodoeiro e arredores foram coletadas em dois períodos (aproximadamente 60 e 120 dias após o plantio), prensadas e preparadas para identificação taxonômica.

O levantamento dos adultos de lepidópteros foram realizados através de coletas semanais durante todo o período da cultura (de novembro de 2002 a maio de 2003). As coletas foram feitas com rede entomológica no período da manhã, entre 9 e 12 horas.

A lista brasileira de espécies animais ameaçadas de extinção, disponível no endereço <http://www.mma.gov.br/port/sbf/fauna/index.cfm>, foi consultada para checar se algumas das espécies de Lepidoptera coletadas faziam parte da mesma.

Usando-se a metodologia desenvolvida pelo projeto GMO ERA (HILBECK et al., 2006), foi feita uma seleção de espécies indicadoras de potencial efeito adverso de algodoeiro GM resistente a lagartas, baseando-se nos seguintes critérios: a) distribuição geográfica; b) abundância na cultura e ambientes do entorno; c) associação com a cultura; d) significância como polinizador/visitante floral/praga secundária na cultura transgênica, em outras culturas e em áreas naturais e também levando-se em conta a probabilidade de exposição direta e indireta à toxina expressa nas plantas (ARPAIA et al., 2006).

Das espécies selecionadas, *Chlosyne lacinea* foi escolhida para a continuidade da avaliação de risco devido ao fato de que insetos imaturos desta espécie foram coletados com frequência na área de estudo se alimentando da planta daninha mais abundante na cultura, o picão grande. Uma metodologia de criação deste inseto em laboratório está sendo desenvolvida para a produção de insetos de qualidade e com idade conhecida para estudos posteriores. A criação de larvas está sendo conduzida em densidade de 10 indivíduos por gaiola plástica (capacidade de 500 ml) alimentados com folha de girassol em ambiente a 21 ± 2 °C, 50 ± 10 % U.R e 16 h de fotoperíodo (Foto 7). Os adultos estão sendo criados em gaiola telada (120 x 40 x 40 cm) contendo vaso de girassol-anão e alimentados com dieta artificial de mel a 30 % (m/v) em ambiente a 25 ± 2 °C, 50 ± 10 % U.R e 14 h de fotoperíodo (Foto 8).

Estudos também foram conduzidos para a estimativa da expressão da toxina Cry1Ac no néctar e pólen do algodoeiro Bt cultivado em casa-de-vegetação a 30 ± 8 °C e umidade relativa de 50 ± 10 % U.R., utilizando-se a técnica de ELISA indireta (*Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay*).

Resultados

Quarenta e uma espécies de lepidópteros distribuídos em 11 famílias foram coletadas na área de estudo (Tabela 1). Os lepidópteros das famílias Pieridae (Fotos 1, 2, 3 e 4), Nymphalidae (Fotos 5 e 6), e Hesperidae foram as mais abundantes, tendo sido coletadas em quase todos os estágios fenológicos da cultura (da fase vegetativa até a senescência) (Tabela 1). Trinta e nove espécies de plantas invasoras distribuídas em nove famílias foram encontradas dentro e ao redor da área de estudo (Tabela 2).

Apenas uma espécie de lepidóptera, *Chlosyne lacinia* (Geyer), foi encontrada se alimentando durante o estágio imaturo (Foto 5) da planta invasora *Blainvillea biaristata* DC (picão grande) dentro do campo de algodoeiro. Esta borboleta (Foto 6) e esta planta invasora foram as mais frequentes e abundantes na área de estudo. Nenhuma das espécies de lepidópteros coletadas está incluída na lista de animais brasileiros ameaçados de extinção.

Estudos sobre a bionomia e o ciclo de vida de *C. lacinia* estão sendo conduzidos em laboratório na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Tabela 3) para a realização dos bioensaios de toxicidade, haja vista a escassez de estudos relativos à biologia dessa espécie. Os testes de toxicidade de proteínas inseticidas a lagartas e adultos terão como objetivo investigar se a proteína inseticida contida na dieta da lagarta pode ser transferida para o corpo do adulto e posteriormente para os ovos. Utilizando-se a técnica de ELISA indireta (*Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay*) pôde-se detectar traços da presença da toxina ($3,6 \pm 0,5$ ng) para cada 5 µl de néctar coletado (o correspondente a produção média de uma flor de algodoeiro) e traços ($1,0 \pm 0,6$ ng) por mg de pólen (o valor médio de pólen coletado por flor foi de cerca de 2 mg); valores esses similares aos já relatados na literatura científica (SIMS, 1995). Estudos adicionais serão conduzidos para a avaliação comparativa da expressão da toxina nas condições abióticas do cerrado.

Discussão

Um número grande de espécies de Lepidoptera que não são pragas do algodoeiro foram coletadas nos campos de algodão. Lagartas de algumas destas espécies, como *C. lacinia*, também se alimentam nos algodoados, indicando que existe a possibilidade destas espécies serem adversamente afetadas pelas plantas GM que produzem toxinas contra lagartas-pragas. O resultado do levantamento evidenciou alta frequência de larvas do lepidóptero *C. lacinia* se

alimentando de plantas da família Compositae associadas à cultura do algodoeiro, bem como adultos se alimentando do néctar das flores desta planta.

Aplicando-se a metodologia de seleção, essa espécie foi apontada como indicadora para avaliação preliminar do risco ecológico da utilização do algodoeiro Bt nos agroecossistemas do Distrito Federal. Tal avaliação exige a criação do inseto em laboratório para a condução de estudo laboratorial sobre a toxicidade de proteínas inseticidas presentes no algodoeiro Bt e em outras plantas GM resistentes a insetos. Constatando-se efeitos letais ou subletais significativos nos indivíduos (larvas ou adultos) do lepidóptero, estudos adicionais de toxicidade serão conduzidos também no campo, bem como o aprofundamento da análise do risco de exposição no Distrito Federal, tais como: o estudo da distribuição espacial e temporal da borboleta na cultura do algodoeiro Bt; a abundância de espécies de plantas hospedeiras da larva e do adulto em associação com a cultura do algodoeiro Bt no cerrado; a ocorrência e distribuição regional do lepidóptero, bem como a proporção de sua população que compartilha *habitat* com o agro-ecossistema do algodoeiro Bt.

A seleção dessa espécie de lepidóptero também se apresenta relevante considerando-se a ampla distribuição e ocorrência do gênero *Chlosyne*, sendo encontradas populações desde o norte da Argentina até os EUA (DRUMMOND et al., 1970). No Brasil, são relatadas 14 espécies de plantas hospedeiras da lepidóptera, sendo 12 da família Compositae: carrapicho-decarneiro (*Acanthospermum hispidum*); cravorana (*Ambrosia polystachia*); picão-preto (*Bidens pilosa*); serralha (*Emilia sonchifolia*); picão-branco (*Galinsoga parviflora*); girassol (*H. annuus*), losna-branca (*Parthenium hysterophorus*); mariamole (*Senecio brasiliensis*); serralha-lisa (*Sonchus oleraceus*), assa-peixe (*Vernonia* sp.); malmequer (*Wedelia glauca* e *W. paludosa*); *Verbesina virginica* (L.); *Silpium* sp.; *Viguiera dentada* (Cav.); *Simsia calva* (Gray); uma Leguminosae: soja (*Glycine max*) e uma Rubiaceae (*Richardia brasiliensis*) (MOSCARDI, 1986; DRUMMOND et al., 1970). Há ainda que se considerar a elevada probabilidade de exposição ecológica graças à sobreposição do clímax populacional da borboleta com o das plantas hospedeiras e do período agrícola da cultura do algodoeiro no Brasil, que estão associados ao período de chuvas das estações de primavera e verão.

Trabalhos pioneiros de avaliação de impacto de culturas GM em lepidópteros despertaram a atenção da comunidade científica internacional, tais como os de avaliação da toxicidade do pólen do milho Bt (evento 176) que naturalmente se depositava sobre a planta hospedeira (*Asclepias syriaca*) da borboleta monarca (*Danaus plexippus*) associada àquela cultura agrícola nos agroecossistemas norte-americanos (LOSEY et al., 1999; STANLEY et al., 2001).

Tabela 1. Famílias, número de indivíduos por espécies e plantas hospedeiras das larvas de lepidópteros associados à cultura do algodoeiro na área de estudo, nos diferentes estágios fenológicos da cultura.

| Família | Espécie | Nº ind. | Estágio Fenol.* | Plantas Invasoras** |
|---------------|---------------------------|---------|-----------------|---|
| Arctiidae | <i>Utetheisa ornatrix</i> | 8 | 2, 3 | Leguminosae <i>Senna occidentalis</i> , <i>S. obtusifolia</i> , <i>S. rugosa</i> , <i>Crotalaria indico</i> |
| Geometridae | <i>Macaria abydata</i> | 1 | 3 | |
| Hesperiidae | <i>Aguna albistria</i> | 2 | 2 | |
| | <i>Chioides catillus</i> | 5 | 1, 2, 3, | |
| | | 1 | 3 | |
| | <i>Heliopetes arsalte</i> | 1 | 3 | Gramineae <i>Cenchrus echinatus</i> |
| | <i>Hylephila phyleus</i> | 7 | 2, 3 | Gramineae <i>Cenchrus echinatus</i> , <i>Panicum maximum</i> |
| | <i>Panoquina lucas</i> | 2 | 2, 3 | |
| | <i>Pyrgus orcus</i> | 1 | 2 | Malvaceae <i>Sida corolifolia</i> , <i>S. santanensis</i> , <i>S. rhombifolia</i> |
| | <i>Urbanus dorantes</i> | 1 | 3 | |
| | <i>Urbanus proteus</i> | 4 | 3 | |
| Lycaenidae | <i>Leptotes cassius</i> | 1 | 5 | Leguminosae <i>Senna occidentalis</i> , <i>S. obtusifolia</i> , <i>S. rugosa</i> |
| | <i>Rekoa eliida</i> | 3 | 2, 3 | |
| | <i>Rekoa stagira</i> | 1 | 3 | |
| Megalopygidae | <i>Megalopyge</i> | 1 | 2 | |
| Nymphalidae | <i>Anartia jatrophae</i> | 2 | 3 | |
| | <i>Callicore sorana</i> | 1 | 3 | |
| | <i>Chlosyne lacinia</i> | 37 | 1, 2, 3 | Compositae <i>Blainvillea biaristata</i> |
| | | 2 | 2, 3 | |
| | <i>Danaus gilippus</i> | 3 | 2, 3 | |
| | <i>Dircenna dero</i> | 2 | 3 | |
| | <i>Dryadula</i> | 1 | 1 | |
| | <i>Junonia evarete</i> | 3 | 2, 3 | |
| | <i>Phystis simois</i> | 2 | 2, 3 | |
| | <i>Tegosa similis</i> | 1 | 3 | |
| | <i>Vanessa</i> | 3 | 2, 3 | |
| Noctuidae | <i>Helicoverpa zea</i> | 1 | 2 | |
| Papilionidae | <i>Battus polydamas</i> | 6 | 2 | |
| Pieridae | <i>Anteos clorinde</i> | 3 | 1, 2, 3 | |
| | <i>Aphrissa statira</i> | 1 | 2 | Leguminosae <i>Senna occidentalis</i> , |
| | <i>Ascia monuste</i> | 3 | 2 | " |
| | <i>Eurema deva</i> | 1 | 3 | Leguminosae <i>Senna occidentalis</i> , <i>S. obtusifolia</i> , <i>S. rugosa</i> |
| | <i>Eurema elathea</i> | 21 | 2, 3 | Leguminosae <i>Senna occidentalis</i> , <i>S. obtusifolia</i> , <i>S. rugosa</i> , <i>Zornia latifolio</i> |
| | <i>Phoebis argante</i> | 4 | 1, 2 | Leguminosae <i>Senna occidentalis</i> , <i>S. obtusifolia</i> , <i>S. rugosa</i> |
| | <i>Phoebis philea</i> | 1 | 2 | " |
| | <i>Phoebis sennae</i> | 9 | 2, 5 | " |
| | <i>Phoebis trite</i> | 1 | 1 | |
| Riodinidae | <i>Stalactis phlegia</i> | 4 | 2, 3 | |
| Sphingidae | <i>Neogene dynaeus</i> | 1 | 2 | |

*Estágios Fenológicos: 1 - Vegetativo, 2 - Início de floração, 3 - Flores e Frutos, 4 - Deiscência dos frutos, 5 - Senescência

** Plantas encontradas dentro e ao redor dos campos de algodoeiro.

Tabela 2. Espécies invasoras coletadas dentro e ao redor do campo de algodão, e espécies de Lepidópteros encontradas que se alimentam destas plantas invasoras.

| Família | Espécies de plantas invasoras | Lepidópteros associados coletados na área. |
|----------------|---|--|
| Compositae | <i>Ageratum conyzoides</i> <i>Blainvillea biaristata</i> <i>Blainvillea rombroide</i> <i>Blainvillea yhomboidea</i> <i>Brotens alba</i> <i>Emilia sonchifolia</i> <i>Eupatorium laevigatum</i> <i>Erechtites hieraciifolius</i> <i>Gnaphalum</i> sp <i>Vernonia aurea</i> | |
| Convolvulaceae | <i>Ipomoea ramosissima</i> <i>Ipomoea triloba</i> | |
| Euphorbiaceae | <i>Euphorbia heterophylla</i> <i>Ricinus communis</i> | |
| Eupteorbaceae | <i>Croton glandulosus</i> | |
| Gramineae | <i>Andropogon gaynus</i> <i>Brachiaria decumbens</i> <i>Brachiaria ruziziensis</i> <i>Brachiaria suzantha</i> <i>Cenchrus echinatus</i> <i>Eleusine indica</i> <i>Eragrostis piloso</i> <i>Melinis minutiflora</i> <i>Panicum maximum</i> <i>Panicum sanguinolis</i> <i>Pennisetum setosum</i> <i>Rhynchelitrum repeus</i> | <i>Mocis latipes</i> <i>Hylephila phyleus</i> <i>Mocis latipes</i> <i>Mocis latipes,</i> <i>Hylephila phyleus</i> <i>Mocis latipes</i> |
| Labiatae | <i>Hyptis cophanta</i> <i>Hyptis suaveolens</i> | |
| Leguminosae | | |

| Família | Espécies de plantas invasoras | Lepidópteros associados coletados na área. |
|-----------|-------------------------------|--|
| | <i>Crotalaria indico</i> | <i>Utetheisa ornatix</i> |
| | <i>Senna occidentalis</i> | <i>Utetheisa ornatix</i> , <i>Leptotes cassius</i> , <i>Aprissa statyra</i> , <i>Ascia monuste</i> , <i>Eurema deva</i> , <i>Eurema elathea</i> , <i>Phoebis philea</i> , <i>Phoebis sennae</i> , <i>Phoebis trite</i> |
| | <i>Senna obtusifolia</i> | “ |
| | <i>Senna rugosa</i> | “ |
| | <i>Zornia latifolio</i> | <i>Eurema elathea</i> |
| Malvaceae | <i>Sida corolifolia</i> | <i>Pyrgus orcus</i> |
| | <i>Sida santanensis</i> | “ |
| | <i>Sida yhombifolia</i> | “ |
| Rubiaceae | <i>Diodia teres</i> | |
| | <i>Richardia scabna</i> | |

Tabela 3. Biologia¹ de *C. lacinia* de três gerações criadas no Laboratório de Ecologia, Semioquímicos e Biossegurança da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em 2007. Colônia iniciada a partir de posturas coletadas no próprio campo da Embrapa – DF, no início da primavera.

| Ovos/postura | Duração em cada estágio (dias) | | | | | | Pupa | Adulto |
|--------------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| | Ovos | 1º ínstar | 2º ínstar | 3º ínstar | 4º ínstar | 5º ínstar | | |
| 82 ± 4 | 7,7 ± 0,6 | 3,3 ± 0,6 | 4,3 ± 0,5 | 3,3 ± 0,6 | 4 ± 1,0 | 4,7 ± 0,6 | 7,3 ± 0,6 | 14,3 ± 3,8 |

¹ Valores médios representados com seus respectivos desvios-padrão.

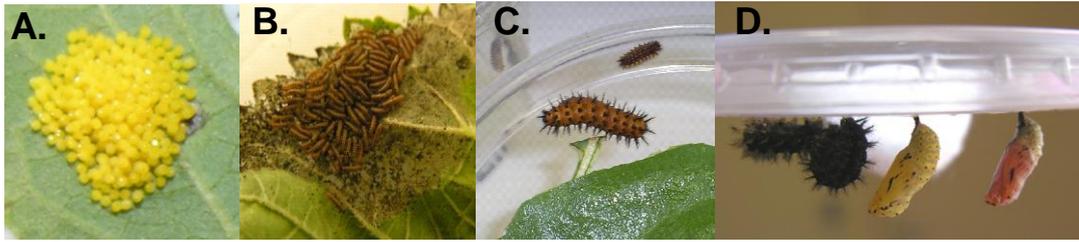


Foto 7: Colônia de criação de *C. lacinia*: A – Massa de ovos coletada no campo; B –Lagartas de 3° instar em comportamento gregário se alimentando de folha de girassol (se alimentam do epitélio e deixam as nervuras mais grossas, característica que facilita seu rastreamento em campo); C – Lagarta de 4° instar após dispersão (a alimentação passa a ser na margem das folhas como outras lagartas); D – Lagartas de 5° instar em período pré-pupa a esquerda e pupas a direita. A pupa mais a direita apresenta coloração rosada indicativa de sua recém-formação.



Foto 1: *Phoebis philea*
Fonte: Becker, V.O.



Foto 2: *Ascia monuste*
Fonte: Becker, V.O.



Foto 3: *Phoebis argante*
Fonte: Becker, V.O.



Foto 4: *Phoebis sennae*
Fonte: Becker, V.O.



Foto 5: Imaturo de *Chlosyne lacinia*
Fonte: nitro.biosci.arizona.edu/...larvae/Nymp/C_lacinia-l.jpg



Foto 6: *Chlosyne lacinia*
Fonte: Becker, V.O.

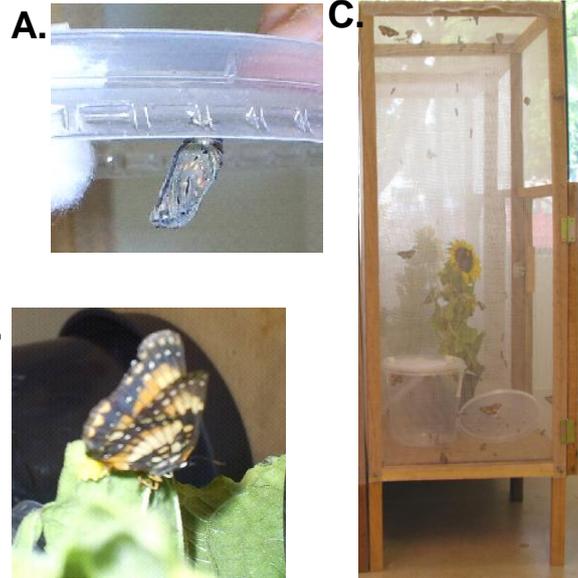


Foto 8: Aspectos da criação do adulto de *C. lacinia*: A – Pupa em período de pré-emergência do adulto; B – Borboleta ovipositando na parte abaxial da folha de girassol-anão dentro da gaiola de criação; C – Gaiola de criação com múltiplos machos e fêmeas.

REFERÊNCIAS

- ARPAIA, S.; FONSECA, V. L. I.; PIRES, C. S. S.; AMARAI, F. S. Non-target and biodiversity impacts on pollinators and flower visiting insects. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.; FONTES, E. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: a case study of Bt Cotton in Brazil**. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2006. p. 155-174.
- BOBROWSKI, V. L.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M. H.; FIUZA, L. M. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 33, n. 5, p. 843 -850, 2003.
- CAPALBO, D. M. F.; SIMON, M. F.; NODARI, R. O.; VALLE, S.; SANTOS, R. F.; CORADIN, L.; DUARTE, O.; MIRANDA, J. E.; DIAS, E. P. F.; QUYEN, L. Q. Consideration of problem formulation and option assessment for Bt cotton in Brazil. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.; FONTES, E. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: a case study of Bt Cotton in Brazil**. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2006. p.67-92.
- CTNBIO. **Legilação**. Disponível em:
<<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/4451.html>>. Acesso em: 26 set. 2007.
- DRUMMOND, B. A.; BUSH, G. L.; EMMEL, T. C. The biology and laboratory culture of *Chlosyne lacinia* Geyer (Nymphalidae). **Journal of the Lepidopterists Society**, Los Angeles, v. 24, n. 2, p. 135-142, 1970.
- ESTRUCH, J. J.; CAROZZI, N. B.; DESAI, N.; DUCK, N. B.; WARREN, G. W.; KOZIEL, M. G. Transgenic plants: an emerging approach to pest control. **Nature Biotechnology**, New York, v. 15, p. 137-141, 1997.
- HEAD, G.; BROWN, C. R.; GROTH, M. E.; DUAN, J. J. CryAb protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, NL, v. 99, p. 37-45, 2001.
- HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; FONTES, E. M. G. (Org.). **Environmental risk assessment of transgenic organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. [Wallingford, UK]: CABI Publishing, 2006. cap. 2, p. 21-66.
- LOSEY, J. E.; RAYOR, L. S.; CARTER, M. E. Transgenic pollen harms monarch larvae. **Nature**, London, v. 399, n. 6733, p. 214, 1999.
- MOSCARDI, F. Levantamento dos insetos-pragas do girassol e seus inimigos naturais. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisa de girassol 1985/86**. Londrina, 1986. p.7-33.
- ROMEIS, J.; DUTTON, A.; BIGLER, F. *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1Ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). **Journal of Insect Physiology**, Oxford, GB, v. 50, p. 175 -183, 2004.
- SIMS, S. R. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Cry1Ac) protein expressed in transgenic cotton: effects on beneficial and other non-target insects. **Southwestern Entomologist**, Dallas, v. 30, n. 4, p. 493-500, 1995.
- STANLEY-HORN, D. E.; DIVELEY, G. P.; HELLMICH, R. L.; MATTILA, H. R.; SEARS, M. K.; ROSE, R.; JESSE, L. C. H.; LOSEY, J. E.; OBRYCKI, J. J.; LEWIS, L. Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, p. 21, p. 11931-11936, 2001.