

MAURICIO SILVA DE LIMA

**INTERAÇÃO DO ALGODOEIRO BT SUBMETIDO AO ESTRESSE
HÍDRICO E *Alabama argillacea* (Hübner) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**



**Universidade Federal de Alagoas
Centro de Ciências Agrárias
Programa de pós-graduação em Agronomia
Produção Vegetal e Proteção de Plantas
Rio Largo, Estado de Alagoas
2010**



MAURICIO SILVA DE LIMA

**INTERAÇÃO DO ALGODOEIRO BT SUBMETIDO AO ESTRESSE
HÍDRICO E *Alabama argillacea* (Hübner) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Dissertação apresentada à coordenação do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal e Proteção de Plantas como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

ORIENTADOR:
Prof. Dr. Jorge Braz Torres- UFRPE



**Universidade Federal de Alagoas
Centro de Ciências Agrárias
Programa de pós-graduação em Agronomia
Produção Vegetal e Proteção de Plantas
Rio Largo, Estado de Alagoas
2010**



Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Janaina Xisto de Barros Lima

L732i Lima, Mauricio Silva de.
Interação do algodoeiro BT submetido ao estresse hídrico e *Alabama Argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) / Mauricio Silva de Lima. ó Maceió, 2010.
36f. : il. tabs., graf.

Orientador: Jorge Braz Torres.
Dissertação (mestrado em Agronomia: Produção vegetal) ó Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2009.

Bibliografia: f. 33-36.

1. Insecta. 2. Plantas ó Tolerância a herbicidas. 3. Plantas ó Estresse oxidativo.
I. Título.

CDU: 632.5

MAURICIO SILVA DE LIMA

**INTERAÇÃO DO ALGODOEIRO BT SUBMETIDO AO ESTRESSE
HÍDRICO E *Alabama argillacea* (Hübner) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

ORIENTADOR:
Prof. Dr. Jorge Braz Torres- UFRPE



**Universidade Federal de Alagoas
Centro de Ciências Agrárias
Programa de pós-graduação em Agronomia
Produção Vegetal e Proteção de Plantas
Rio Largo, Estado de Alagoas
2010**





**INTERAÇÃO DO ALGODOEIRO BT SUBMETIDO AO ESTRESSE
HÍDRICO E *Alabama argillacea* (Hübner) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**


MAURICIO SILVA DE LIMA


Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia, pelo Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de Concentração em Produção Vegetal e Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas, pela banca examinadora formada pelos seguintes professores:

BANCA AVALIADORA


Prof. Dr. Jorge Braz Torres
Deptº. de Agronomia- DEPA – UFRPE
Orientador


Profª. Drª. Iracilda Maria de Moura Lima
Deptº. de Ecologia e Biodiversidade – ICBS – UFAL
Examinador


Prof. Dr. Elio Cesar Guzzo
Embrapa Tabuleiro Costeiros- UEP- AL
Examinador


Profª. Drª. Christian Sherley A. da Silva Torres
Deptº. de Agronomia- DEPA – UFRPE
Examinador

Rio Largo, Estado de Alagoas
31 de Março de 2010

A Jeová Deus criador dos céus e da terra pelo dom da vida, e por me permitir ama - lá, e estuda - lá nas suas diversas formas.

õDigno és Jeová, sim, nosso Deus, de receber a glória, e a honra, e o poder, porque criastes todas as coisas e porque elas existiram e foram criadas por tua vontadeö.

DEDICO

*A meus pais,
Antonio Francisco de Lima (In memorian)
Ilda Pereira da Silva Lima*

OFEREÇO

*Ao meu irmão Fábio André e a minha
Sobrinha Katyuscia Pâmella*

OFEREÇO

*A minha família de Pernambuco
que me acolheu como um filho,
Luiz Carlos, Eunice e Milena.*

OFEREÇO

*A minha cadela Prenda (In memorian), a Brenda
e ao meu gato Tónico (In memorian) e aos meus
atuais e queridos gatos que sofreram com
minha ausência, Freedy, Tômaz e Cícero.*

Pelos momentos de Alegria.

*õÉ preciso que eu suporte duas ou
três larvas, se quiser conhecer as
borboletas, dizem que são tão belas.õ*
Antoine De Saint-Exupery.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Alagoas (UFAL), pela oportunidade, enquanto Instituição Pública de Ensino Superior, pela obtenção de mais um título.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado.

À coordenação do curso de Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal e Proteção de Plantas), na pessoa da Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade pelo auxílio e incentivo.

À meu orientador, Prof. Jorge Braz Torres por ter me aceitado como orientando e pelo total apoio e dedicação durante todo o tempo (e extras), do trabalho, muito grato.

Aos professores que passaram com dedicação todo o ensino, prof. Laurício Endres, Edna Peixoto, Iracilda Lima, Sônia Maria, Gaus Silvestre, Jorge Torres.

Ao Sr. Geraldo Lima, secretário do curso de Mestrado pela boa vontade e disponibilidade além das boas conversas.

Ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, na pessoa do Prof. Jorge Braz Torres pela liberação do Laboratório de Controle Biológico e Ecologia de Insetos para a realização do experimento.

Aos colegas de laboratório Felipe, Eduardo, Ágna, Roberta, Itílio, Izeudo, Ézio, Christian e Robério pelas ajudas no trabalho.

Aos doutorandos em Entomologia Agrícola Martin Duarte e Franklin Magliano pelas ajudas nas análises estatísticas.

Ao meu grande Amigo Luiz Carlos pela disponibilidade de sua residência para minha estadia em Recife e pelo tempo em que estive ai ,por todo apoio muito obrigado.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que fosse possível a realização de mais uma etapa em minha vida profissional muito obrigado a todos vocês.

RESUMO

O algodoeiro geneticamente modificado para a produção de toxinas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (=Bt) tem como principal objetivo oferecer a planta resistência contra larvas de lepidópteros. O cultivo do algodoeiro Bt no Semiárido pode estar submetido a diferentes condições edafoclimáticas, principalmente, ao estresse hídrico. Assim, este estudo investigou a produção da toxina Cry1Ac em algodoeiro Bt variedades Acala 90B e NuOpal com plantas submetidas ou não ao estresse hídrico e a preferência para oviposição e alimentação de *Alabama Argillacea* (Hübner) confinadas sobre essas plantas. Plantas de algodão foram cultivadas em microparcelas em casa telada e submetidas ao controle de irrigação para a obtenção de plantas com estresse hídrico. A produção de Cry1Ac foi maior em folhas de plantas Bt de ambas as variedades submetidas ao estresse hídrico, e similar nas demais partes como brácteas, pétalas e casca de maçãs. Mariposas de *A. argillacea* não apresentaram preferência para ovipositar entre plantas de algodão Bt e não-Bt. Da mesma forma, as larvas com três ou 10 dias de idade não apresentaram preferência para alimentar em folhas de variedades não-Bt comparadas a Bt, em testes com chance de escolha. Por outro lado, mariposas de *A. argillacea* preferiram ovipositar em plantas sem estresse hídrico e larvas não completaram o desenvolvimento em plantas não-Bt sob estresse hídrico de ambas as variedades. Estes resultados mostram que tanto mariposas quanto as larvas de *A. argillacea* não foram capazes de reconhecer plantas de algodão Bt para ovipositar e alimentar, respectivamente. Também, que plantas de algodoeiro submetidas ao estresse hídrico apresentam diferenças quanto à quantidade da toxina Cry1Ac nas folhas, interferiram com a preferência de oviposição de *A. argillacea*, bem como com o seu desenvolvimento larval.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, comportamento, resistência de plantas, toxina Cry.

ABSTRACT

The genetically modified cotton to produce toxins from the bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) has the objective of offering plant resistance against lepidopteran larvae. The cotton crop cultivated in the Semiarid region can be subjected to the condition of water stress. Thus, this work investigated the expression of the Cry1Ac toxin in two varieties of Bt-cotton Acala 90B and NuOpal cultivated under the conditions of irrigated and water stress. In addition, the oviposition and feeding preference of adults and larvae of the cotton leafworm, *Alabama Argillacea* (Hübner), caged on these plants were studied. Cotton plants were cultivated under controlled conditions of irrigation to obtain water stress treatment in microparcels inside an open-sided greenhouse. Higher levels of Cry1Ac expression was found on top leaves of Bt-cotton for both varieties under water stress condition, and similar levels between plants with and without water stress in the other plant parts such as bracts, flower petals, and boll. Adults of *A. argillacea* did not exhibited preference for oviposition between Bt and non-Bt cotton plants. Likewise, 3- and 10-d-old *A. argillacea* larvae did not show food preference under a choice test comparing leaves of non-Bt and Bt-cotton plants. Otherwise, adults of *A. argillacea* showed lower oviposition on plants under water stress, and their larvae did not complete development fed non-Bt varieties cultivated under water stress condition. These results indicated that adults and larvae of *A. argillacae* do not recognize Bt-cotton plants to lay eggs and to feed, respectively. Further, cotton plants under water stress showed greater Cry1Ac toxin concentration on top leaves, interfered with the oviposition of *A. argillacea* irrespective of plant genotypes Bt and non-Bt, and with the larval development on non-Bt plants.

KEY WORDS: Insecta, behavior, host plant resistance, Cry toxin.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	01
1.1	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	06
2	PRODUÇÃO DA TOXINA CRY1Ac EM ALGODOEIRO EM FUNÇÃO DO ESTRESSE HÍDRICO E COMPORTAMENTO DE <i>Alabama argillacea</i> (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	09
	RESUMO	10
	ABSTRACT	11
3	INTRODUÇÃO	12
4	MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1	Criação do curuquerê-do-algodoeiro, <i>Alabama argillacea</i>	15
4.2	Produção da toxina Cry1Ac em planta de algodoeiro Bt em função do estresse hídrico.....	16
4.3	Teste de livre escolha para oviposição.....	18
4.4	Teste de livre escolha para alimentação.....	19
4.5	Biologia de <i>A. argillacea</i> em plantas de algodão submetidas ou não ao estresse hídrico.....	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1	Produção da toxina Cry1Ac em algodoeiro Bt em função do estresse hídrico....	23
5.2	Teste de livre escolha para oviposição.....	26
5.3	Teste de livre escolha para alimentação.....	30
5.4	Biologia de <i>A. argillacea</i> em algodoeiro submetido e não submetido ao estresse hídrico.....	31
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1 INTRODUÇÃO

O algodoeiro geneticamente modificado para a produção de toxinas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Algodão Bt) tem como principal objetivo a resistência contra larvas desfolhadoras. Devido à amplitude das áreas cultivadas com algodão no mundo, o algodão Bt tornou-se um produto global, sendo atualmente cultivado em nove países. Os grandes produtores de algodão Bt são Estados Unidos, China, Austrália, Índia, México, Argentina, África do Sul, Colômbia e Brasil. Embora, com a maior área cultivada nesses países, mais de seis milhões de produtores de algodão Bt estão nos países subdesenvolvidos, sendo que a grande maioria destes como é o caso da China, Índia e África do Sul, possuem poucos recursos relacionados à agricultura (James, 2006).

O algodoeiro é amplamente cultivado pelo fato de sua fibra ser a mais importante dentre as fibras têxteis, além de ser uma cultura absorvedora de mão-de-obra (Beltrão, 1997). Entre as culturas anuais tradicionalmente cultivadas, o algodoeiro apresenta baixo requerimento hídrico. Em média, a quantidade de água necessária para atender às necessidades hídricas do algodoeiro é de 530 a 700 mm bem distribuídos, dependendo do clima e da duração do período total de crescimento (Pereira *et al.*, 1997). O que o torna uma opção interessante para cultivo nas regiões onde a precipitação é irregular como no Semiárido da região Nordeste do Brasil (Doorenbos & Kassam, 1994).

A maior parte do algodão brasileiro é cultivado durante o verão chuvoso nos cerrados do Centro-Oeste, Oeste da Bahia e Sul do Maranhão e Piauí (Fontes *et al.*, 2006). Apesar desta distribuição geográfica, estima-se que no Semiárido do Nordeste foram plantados 51.800 ha na safra 2008/2009 (CONAB, 2009).

O plantio feito na região Nordeste tem sido feito por pequenos produtores com áreas entre 0,5 a 4 ha (Fontes *et al.*, 2006). Sistema de cultivo com pouca tecnologia, mão-de-obra familiar, e o controle de pragas dependendo do valor do produto comercializado (Richetti *et al.*, 2004).

Além das perdas ocasionadas a produção do algodoeiro, o ataque de pragas traz o agravante do uso inadequado de inseticidas por pequenos produtores, pois a maioria não realiza as devidas precauções. Em especial, pelo desconhecimento da forma correta de aplicação, o que intensifica as intoxicações e contaminação ambiental. Desta forma, práticas que reduzam a incidência de pragas e, conseqüentemente, as perdas e uso de inseticidas são bem vistas para a utilização em um programa de Manejo Integrado de Pragas.

A utilização de variedades de algodão Bt tem como uma de suas grandes vantagens, apresentar-se como um método de controle que é fornecido ao produtor diretamente na semente. Desta forma, não exige tecnologias adicionais para a eficiência da aplicação, tornando-se uma tecnologia chave no manejo de pragas tanto para produtores empresariais como para pequenos produtores com baixa disponibilidade de tecnologias para o controle de pragas. A facilidade de adoção tem sido uma das grandes vantagens para a utilização em cultivo familiar do algodoeiro na África do Sul (Bennett *et al.*, 2006a), México (Traxler & Godoy-Avila, 2004), China (Pray *et al.*, 2002), e Índia (Bennett *et al.*, 2006b).

As toxinas Cry (= cristal tóxico), oriundas do Bt e expressadas nas plantas geneticamente modificadas, são altamente específicas contra seus insetos-alvo, sendo inócuas a humanos, vertebrados e plantas, além de serem completamente biodegradáveis. Em razão desses fatos, as toxinas Cry são consideradas uma alternativa segura no controle de insetos-praga de importância agrícola, bem como de importantes vetores de doenças do homem (Bravo *et al.*, 2005).

A eficácia de controle de lepidópteros do algodoeiro é um dos principais motivos que impulsionam o plantio de variedades de algodão Bt no mundo. O algodoeiro possui um complexo de lepidópteros-praga que ocorrem provocando desfolha às plantas ou destruindo as partes

reprodutivas como os botões florais e maçãs. Dentre esses, o algodão Bt possui eficácia no controle do curuquerê (*Alabama argillacea*), lagartas das maçãs (*Heliothis virescens* e *Helicoverpa zea*) e a lagarta rosada (*Pectinophora gossypiella*), espécies consideradas pragas-chave da cultura no Brasil (Degrande, 1998).

Portanto, os impactos diretos na redução das perdas na produção e, indiretamente, na redução do uso de inseticidas e contaminação ambiental são citados como benefícios do plantio de variedades de algodão Bt em virtude da grande dificuldade do manejo de pragas nesta cultura (Qaim & Zilberman, 2003; Brookes & Barfoot, 2008). Vários estudos têm demonstrado significativos benefícios econômicos, ambientais e sociais em virtude do plantio do algodão Bt (James, 2006; Bennett *et al.*, 2006a; 2006b; Pray *et al.*, 2002; Purcell *et al.*, 2004).

As vantagens de produtividade têm sido observadas em um grande número de estudos, variando de 5 a 10% na China, mais de 10% nos Estados Unidos, e mais de 20% em quatro outros países (James, 2006). De acordo com Qaim & Zilberman (2003), em ensaios de campo na Índia, o rendimento médio do algodão Bt foi 80% maior do que o não-Bt, embora outros resultados da Índia sejam menos expressivos (James, 2006).

O curuquerê-do-algodoeiro *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga importante para o algodoeiro, com populações que frequentemente atingem o status de praga-chave, sendo que o nível de controle é de duas larvas de tamanho médio por planta (Busoli, 1991; Miranda & Ferreira, 2005). Por ser um lepidóptero nativo das Américas, *A. argillacea* ocorre em todas as regiões produtoras de algodão no Brasil (Almeida & Silva, 1999).

Ramalho (1994) estima que essa praga pode reduzir em até 67% a produção da cultura, enquanto que Gallo *et al.* (2002) afirmam que uma larva pode consumir, em média, 66 cm² de folhas de algodoeiro, causando até 30% de prejuízos quando não controlada. Na região Nordeste, o curuquerê é referido como praga-chave, surgindo logo após a emergência das plantas,

provocando queda acentuada na produção devido à elevada desfolha das mesmas (Cavalcante & Cavalcante, 1981).

O plantio de variedades de algodão Bt é realizado no Brasil desde 2006, a partir de sua liberação em 2005. Atualmente, três variedades de algodão Bt são plantadas comercialmente no Brasil: Acala 90B, DP 604B e NuOpal. O plantio dessas variedades é permitido em até 80% da área, respeitando os 20% remanescentes da área como áreas de refúgio cultivado com algodoeiro não-Bt, conforme estipulado pelas normas do Parecer Técnico Prévio Conclusivo Nº 513/2005 da CTNBio 2005 (Ministério da Ciência e Tecnologia, 2008).

A boa adaptação do algodoeiro, com o auxílio do melhoramento de plantas, tem favorecido o seu cultivo em variadas condições de clima e, conseqüentemente, submetendo a planta a variações diversas. Em se tratando da região Nordeste do Brasil, a temperatura e o fotoperíodo são favoráveis ao seu cultivo, porém a irregularidade na precipitação pode comprometer seriamente a sua produtividade.

O bom equilíbrio da umidade do solo é essencial para a fisiologia da planta, em especial, para a absorção dos nutrientes e desenvolvimento da mesma. Plantas, quando submetidas ao estresse hídrico, têm reduzida área foliar, e em alguns casos, severa abscisão foliar, limitando a fotossíntese e alterando assim a produção e disponibilização de fotoassimilados para a planta (Taiz & Zeiger 2004).

Apesar da rusticidade, o algodoeiro é considerado como sendo uma planta sensível às variações do conteúdo de água do solo durante a fase de floração (Hearn, 1975; Rao *et al.*, 1978). O manejo hídrico inadequado da cultura pode comprometer a qualidade da fibra (Hanson & Knisel, 1964; Jackson & Tilt, 1968; Marani & Amirav, 1971), além de proporcionar alterações significativas na fenologia e na produção (Oliveira, 1979, Karida & Marinato, 1982)

A primeira resposta do algodão ao estresse hídrico é o aumento do seu sistema radicular em busca de água no subsolo, o que lhe confere um maior gasto de energia e de metabolitos para a

construção deste sistema radicular, comprometendo o seu metabolismo (Freire, 2007). Como resultado, as plantas jovens de algodão sofrem abscisão das folhas em resposta ao estresse hídrico (Taiz & Zeiger, 2004), o que por sua vez poderia também comprometer a produção da toxina Cry pela planta. Estudos têm mostrado que fatores ambientais tais como a umidade do solo e a fertilidade, podem influenciar na expressão gênica da toxina Cry em plantas Bt (Sachs *et al*, 1998, Adamczyk Jr & Sumerford, 2001).

Dessa forma, esse trabalho avaliou o efeito do estresse hídrico na produção da toxina Cry1Ac e sua relação com o comportamento de *A. argillacea* em algodoeiro Bt.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, R.P. & C.A.D Silva. 1999.** Manejo integrado de pragas do algodoeiro, p. 753-820. In: Beltrão, N.E.M. (ed.), O agronegócio do Algodão no Brasil. Brasília, Embrapa, 820p.
- Adamczyk Jr, J.J. & D.V. Sumerford. 2001.** Potential factors impacting season-long expression of Cry1Ac in 13 commercial varieties of Bollgard® cotton. *J. Insect Sci.* 1: 1-6.
- Beltrão, N.E.M., D.M.P. Azevedo, L.B. Nóbrega & W.J Santos. 1997.** Modificações no crescimento e desenvolvimento do algodoeiro herbáceo sob saturação hidrostática do substrato em casa de vegetação. *Pesqu. Agropec. Bras.* 32: 391-397.
- Bennett, R., S. Morse & Y. Ismael. 2006a.** The economic impact of genetically modified cotton on South African smallholders: yield, profit and health effects. *J. Develop. Stud.* 42: 662-677.
- Bennett, R., U. Kambhampati, S. Morse & Y. Ismael. 2006b.** Farm-level economic performance of genetically modified cotton in Maharashtra, India. *Rev. Agric. Econ. Mil.* 28: 59-71.
- Bravo, A., S.S. Gillb & M. Soberón. 2005.** *Bacillus thuringiensis* mechanisms and use, p. 175-206. In: Gilbert, L. Iatrou, K. & S. Gill (eds.), *Comprehensive Molecular Insect Science*. Amsterdam, Elsevier, 1225p.
- Brookes, G. & P. Barfoot. 2008.** Global impact of biothech crops: Socio-economic and environmental effects 1996-2006. *J. Agrob. Man. Econ.* 11: 21-38.
- Busoli, A.C. 1991.** Práticas culturais, reguladores de crescimento, controle químico e feromônio no MIP-algodoeiro, p. 29-52. In: Degrande, P.E. (ed.), *Bicudo do Algodoeiro: Manejo Integrado*. Dourados, MS: UFMS/EMBRAPA, 142p.
- Cavalcante, R.D. & M.L.S. Cavalcante. 1981.** Duas sérias pragas do algodoeiro no Ceará. Fortaleza: EPACE, 8 p. (Comunicado Técnico, 6).
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2009.** Avaliação da safra agrícola 2008/2009: Sexto levantamento, Março 2009. Brasília, Companhia Nacional de Abastecimento, 41p.
- Degrande, P.E. 1998.** Guia prático de controle das pragas do algodoeiro. Dourados, UFMS, 60p.
- Doorenbos, J. & A.H. Kassam. 1994** Efeito da água no rendimento das culturas. Campina Grande: UFPB. 306p. (Estudos FAO, Irrigação e Drenagem, 33).
- Fontes, E.M.G., F.S. Ramalho, E. Underwood, P.A.V. Barros, M.F. Simon, E.R. Sujii, C.S.S. Pires, N. Beltrão, W.A. Lucena, & E.C. Freire. 2006.** The cotton agricultural context in Brazil, p. 21-66. In: A. Hilbeck, D.A. Andow & E.M.G. Fontes (eds.), *Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms. v.2, Methodologies for Assessing Bt Cotton in Brazil*. Wallingford, CABI Publishing, 373p.

- Freire, C. E. 2007.** Algodão no Cerrado do Brasil. Brasília, ABRAPA, 918p.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti-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, 920p.
- Hanson, E.G. & W.G. Knisel. 1964.** Influence of irrigation practices on cotton production and fiber properties. New Mexico: Agric. Exper. Stat. 34p. (Bull, 43).
- Hearn, A.B. 1975.** Response of cotton to water and nitrogen in tropical environment. I. Frequency of watering and method of application of nitrogen. J. Agric. Sci. 84: 407-417.
- Jackson, L.E.B. & P.A. Tilt. 1968.** Effects of irrigation intensity and nitrogen level on the performance of eight varieties of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Agron. J. 60: 13-17.
- James, C. 2006.** Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2006. *ISAAA Brief No. 35*. ISAAA: Ithaca
- Karida, J. & R. Marinato. 1982.** Irrigação do algodoeiro. Inf. Agropec. 92: 75-81.
- Marani, A. & A. Amirav. 1971.** Effects of soil moisture stress on two varieties of upland cotton in Israel. I - The Coastal Plain Region. Exper. Agric. 7: 213-24.
- Ministério da Ciência e Tecnologia. 2008.** Parecer CTNBio. Disponível em: www.abrapa.com.br/estatisticas/LiberacaoAlgodao. Acesso em 22/03/2009.
- Miranda, J.E. & A.C.B. Ferreira. 2005.** Contra-ataque. Cad. Técn. Cultivar 72: 7-10.
- Oliveira, F.A. 1979.** Efeitos dos diferentes níveis de umidade do solo no ciclo e produtividade no algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.). Salvador: EPABA, 26p. (EPABA, Comunicado Técnico, 7).
- Pereira, M.N.B., N.C. Azevedo, P.D. Fernandes & M.S. Amorin Neto. 1997.** Crescimento e desenvolvimento de duas cultivares de algodoeiro herbáceo em baixos níveis de umidade do solo, em casa de vegetação. Rev. Bras. Eng. Agríc. 1: 1-7.
- Pray, C., J. Huang, R. Hu & S. Rozelle. 2002.** Five years of Bt cotton in China - the benefits continue. Pl. J. Hesli. 31: 423-430.
- Purcell, J.P., M. Oppenhuizen, T. Wofford, A.J. Reed & F.J. Perlak. 2004.** The story of Bollgard cotton, p. 1148-1163. In: P. Christou & H. Klee (eds.), Handbook of Plant Biotechnology. Indianapolis, Wiley, 1488p.
- Qaim, M. & D. Zilberman. 2003.** Yield effects of genetically modified crops in developing countries. Science 299: 900-902.
- Ramalho, F.S. 1994.** Cotton pest management: Part 4. A brazilian perspective. Annu. Rev. Entomol. 39: 563-78.

- Rao, G.R., J.S. Shide, D.M Kadam, & S.B. Varade. 1978.** Phenoclimatological study of rainfed cotton crop. *Inte. J. Ecol. Envi. Sci.* 4: 7-13.
- Richetti, A., G.A. Melo Filho, F.M. Lamas, L.A. Staut, & Fabrício, A.C. 2004.** Estimativa do custo de produção de algodão, safra 2004/05, para Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. Dourados: Embrapa Pecuária Oeste, 16p. (Comunicado Técnico, 91).
- Sachs, E.S., J.H. Benedict, D.M. Stelly, J.F. Taylor, D.W. Altman, S.A. Berberich, & S.K. Davis. 1998.** Expression and segregation of genes encoding Cry1Ac insecticidal proteins in cotton. *Crop Sci.* 38: 1611.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2004.** *Fisiologia Vegetal.* 3º Ed. Porto Alegre. Editora: Artmed, 721p.
- Traxler, G. & S. Godoy-Avila. 2004.** Transgenic Cotton in Mexico. *J. Agron. Man. Econ.* 7: 57-62.

CAPÍTULO 2

PRODUÇÃO DA TOXINA Cry1Ac EM ALGODOEIRO EM FUNÇÃO DO ESTRESSE
HÍDRICO E COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DE *Alabama*
argillacea (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)¹

MAURICIO S. LIMA² E JORGE B. TORRES³

²Universidade Federal de Alagoas - Centro de Ciências Agrárias BR 101-Norte Km 85 CEP
57.100-000 Rio Largo, AL.

³Departamento de Agronomia ó Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom
Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos 52171-900 Recife, PE.

¹Lima, M.S. & J.B. Torres. Produção da toxina Cry1Ac em algodoeiro em função do estresse hídrico e comportamento de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). A ser submetido.

RESUMO ó Este estudo investigou a produção da toxina Cry1Ac em algodoeiro Bt (= *Bacillus thuringiensis*) variedades Acala 90B e NuOpal com plantas submetidas ou não ao estresse hídrico e a preferência para oviposição e alimentação de *Alabama Argillacea* (Hübner) confinadas sobre essas plantas. Plantas de algodão foram cultivadas em microparcelas em casa telada com controle de irrigação para a obtenção de plantas submetidas ou não ao estresse hídrico. A produção de Cry1Ac foi maior em folhas de plantas de ambas as variedades Bt submetidas ao estresse hídrico, e similar nas demais partes como nas brácteas, pétalas e casca de maçãs. Mariposas de *A. argillacea* não apresentaram preferência para ovipositar entre plantas de algodão Bt e não-Bt. Da mesma forma larvas, com três ou 10 dias de idade, não apresentaram preferência para alimentar em folhas de variedades não-Bt comparadas a Bt, em testes com chance de escolha. Por outro lado, mariposas de *A. argillacea* preferiram ovipositar em plantas sem estresse hídrico e larvas não completaram o desenvolvimento em plantas não-Bt sob estresse hídrico de ambas as variedades. Estes resultados mostram que tanto mariposas quanto as larvas de *A. argillacea* não foram capazes de reconhecer plantas de algodão Bt para ovipositar e alimentar, respectivamente. Também, que plantas de algodoeiro submetidas ao estresse hídrico apresentam diferenças quanto à concentração da toxina Cry1Ac nas folhas, interferiram com a preferência de oviposição de *A. argillacea*, bem como com o seu desenvolvimento larval.

PALAVRAS CHAVE: Insecta, biologia, comportamento de oviposição, comportamento de alimentação, algodão transgênico.

ABSTRACT ó This work investigated the Cry1Ac toxin production in two varieties of Bt-cotton (Bt = *Bacillus thuringiensis*) Acala 90B and NuOpal submitted or not to water stress. In addition, the oviposition and feeding preference of adults and larvae of the cotton leafworm, *Alabama Argillacea* (Hübner), caged on these plants was studied. Cotton plants were cultivated with controlled conditions of irrigation to obtain plants under water stress treatment in microparcels inside an open-sided greenhouse. Higher levels of Cry1Ac production were found on top leaves of plants under water stress condition for both Bt-cotton varieties, and similar levels in the other plant parts such as flower bracts, petals and boll skin. Adults of *A. argillacea* did not exhibit preference for oviposition between Bt and non-Bt cotton plants. Likewise, 3- and 10-d-old *A. argillacea* larvae did not show food preference under a choice test comparing leaves of non-Bt and Bt-cotton plants. Otherwise, adults of *A. argillacea* showed lower oviposition on plants under water stress, and their larvae did not complete development fed cotton plants under water stress for both non-Bt varieties. These results indicated that adults and larvae of *A. argillacae* do not recognize Bt-cotton plants to lay eggs and to feed, respectively. Further, cotton plants under water stress showed greater Cry1Ac toxin concentration in top leaves, interfered with the oviposition of *A. argillacea* irrespective of plant genotypes Bt and non-Bt, and with the larval development on non-Bt plants.

KEY WORDS: Insecta, biology, oviposition behavior, feeding behavior, transgenic cotton.

3 INTRODUÇÃO

O algodoeiro é amplamente cultivado pelo fato de sua fibra ser a mais importante dentre as fibras têxteis além de ser uma cultura absorvedora de mão-de-obra (Beltrão, 1997). Além disso, entre as culturas anuais tradicionalmente cultivadas apresenta-se como uma que possui baixo requerimento hídrico (Doorenbos & Kassam, 1994), o que a torna uma opção para cultivo nas regiões onde a precipitação é irregular na ausência da irrigação como ocorre no Semiárido.

Em média, a quantidade de água estimada para atender às necessidades hídricas do algodoeiro é de 700 a 1300 mm, dependendo do clima e da duração do ciclo da variedade que pode ser de 120 a 150 dias (Embrapa Algodão, 2003). Entretanto, 550 mm de chuvas bem distribuídas ao longo da germinação, crescimento vegetativo e reprodutivo são suficientes para a maioria das variedades selecionadas para o cultivo no Semiárido expressar a sua capacidade de produção (Pereira *et al.*, 2007).

O plantio do algodão no Semiárido é feito basicamente por pequenos produtores com áreas entre 0,5 a 4ha (Fontes *et al.*, 2006). Este sistema de cultivo adota pouca tecnologia, mão-de-obra familiar, e o controle de pragas junto ao valor do produto comercializado são os principais empecilhos para a expansão da cultura nesta região (Richetti *et al.*, 2004).

O algodoeiro é hospedeiro de um complexo de lepidópteros que ocasionam desfolha às plantas ou destroem partes reprodutivas como os botões florais e maçãs. Dentre esses, o algodão Bt possui eficácia no controle do curuquerê (*Alabama argillacea*), lagartas das maçãs (*Heliothis virescens* e *Helicoverpa zea*) e a lagarta rosada (*Pectinophora gossypiella*), espécies essas consideradas pragas-chave da cultura no Brasil (Ramalho, 1994; Degrande, 1998). E, dessas espécies, o curuquerê pode ocorrer desde a fase inicial à maturação da lavoura e em todas as

regiões onde se tem cultivado o algodoeiro no Brasil (Quirino & Soares, 2001; Soares & Silva, 2003) e, freqüentemente, atinge o nível de controle (Domiciano & Santos, 1994).

O curuquerê é uma praga considerada monófaga e, portanto, sendo exposta continuamente a toxina produzida pela planta de algodão durante toda a safra. A monofagia em lepidópteros os condicionam a terem capacidade de localizar e selecionar o alimento empregando pistas visuais, químicas e gustatórias (Papaj & Rausher, 1983; Renwick & Chew, 1994; Ramaswamy, 1988). A escolha para a oviposição determina o sucesso da progênie visto que a fase jovem fica parcialmente restrita ao hospedeiro escolhido para a oviposição (Renwick & Chew, 1994; Zalucki *et al.*, 2002).

A movimentação das larvas na planta de algodão pode ocorrer, porém torna-se restrita ao dossel da mesma planta ou plantas ao seu entorno (Gore *et al.*, 2002). Lepidópteros monófagos como o curuquerê, ou com preferência hospedeira, deverão ser capazes de detectar pequenas mudanças na qualidade da planta seja por voláteis emitidos ou estrutura física do substrato onde é feita a oviposição para aumentar o sucesso da fase jovem. Desta forma, um possível reconhecimento da planta Bt pela mariposa do curuquerê para oviposição influenciará todo o processo de seleção de populações da praga para a resistência (Jongsma *et al.*, 2010) e, se existir, terá papel fundamental no manejo da praga empregando o algodão Bt.

O plantio de variedades de algodão geneticamente modificadas para a produção de toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt), conhecidos nas Américas como algodão Bollgard[®], oferece a planta de algodão resistência aos principais lepidópteros-praga e vem sendo cultivado comercialmente em nove países, incluindo o Brasil desde 2006 (MCT, 2008). Atualmente, as variedades de algodão Bt plantadas comercialmente no Brasil são Acala 90B, NuOpal e DP 604B, todas produzem constitutivamente a toxina Cry1Ac do Bt.

A utilização de variedades de algodão Bt tem a vantagem, entre outras, de ser facilmente adotadas por produtores de qualquer nível tecnológico, pois é um método de controle que é

fornecido ao produtor diretamente na semente. Desta forma não exigindo tecnologias adicionais para a eficiência da aplicação da técnica tornando-se uma tecnologia chave no manejo de pragas tanto para produtores empresariais como para pequenos produtores com baixa disponibilidade de tecnologias para o controle de pragas como ocorre no Semiárido. A facilidade de adoção tem sido uma das grandes vantagens para a utilização em cultivo familiar do algodoeiro na África do Sul (Bennett *et al.*, 2006a), México (Traxler & Godoy-avila, 2004), China (Pray *et al.*, 2002), e Índia (Bennett *et al.* 2006b).

Estudos têm mostrado que fatores ambientais, tais como o local de cultivo definido pela fertilidade e umidade do solo pode influenciar na produção da toxina Cry na planta entre outras variáveis da planta e do ambiente (Sachs *et al.*, 1998; Adamczyk Jr & Sumerford, 2001; Torres *et al.*, 2009).

O longo ciclo vegetativo e reprodutivo do algodoeiro expõe as plantas às condições adversas de irregularidade da precipitação no Semiárido, bem como nas demais regiões devido aos fenômenos climáticos recentemente observados como os veranicos que são períodos de 15 a 30 dias de estiagens em pleno verão quente e chuvoso. De acordo com Adamczyk Jr & Sumerford (2001) e Torres *et al.* (2006), a produção da toxina foi variável ao longo do desenvolvimento da planta de algodão e influenciada pelas condições do ambiente, o que poderia comprometer a eficácia da tecnologia.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta da planta de algodão Bt sob estresse hídrico quanto à produção da toxina Cry1Ac, a biologia e comportamento de alimentação e oviposição de *A. argillacea* em algodoeiro Bt, também, submetidos à condição de estresse hídrico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), incluindo microparcels em telados e no Laboratório de Ecologia de Insetos e Controle Biológico, da mesma instituição.

4.1 Criação do curuquerê-do-algodoeiro, *Alabama argillacea*. A criação do curuquerê foi estabelecida a partir de pupas coletadas em plantio de algodão CNPA 8H no município de Surubim, Estado de Pernambuco, em fevereiro de 2009, e encontrava-se entre a quarta e quinta gerações em laboratório no momento do experimento.

As mariposas utilizadas nos testes foram obtidas desta criação mantida em laboratório e alimentada com folhas de algodão da variedade BRS Rubi durante a fase larval, e solução de mel a 10% durante a fase adulta. A metodologia de criação adotada é aquela padrão utilizada no laboratório, de Ecologia de Insetos e Controle Biológico da UFRPE, conforme a Figura 1 .

As gaiolas de criação eram forradas internamente com folha de papel contínuo como substrato para oviposição. A parte superior da gaiola foi fechada com tecido organza preso na borda da gaiola com liga de borracha. A gaiola era apoiada sobre prato plástico de 12 cm de diâmetro, forrado com papel toalha. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%, em algodão embebido e colocado em tampas de garrafa PET no interior das gaiolas. Diariamente, as gaiolas foram avaliadas para a coleta de posturas.

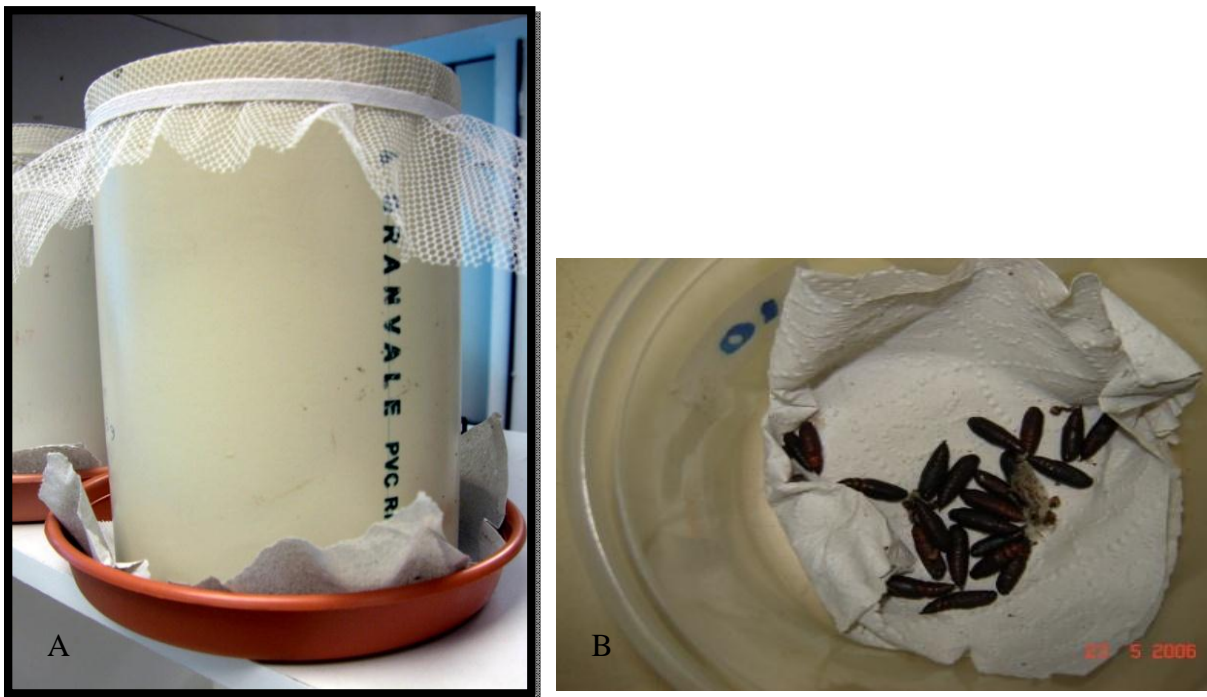


Figura 1. (A): Gaiola de criação de larvas e, (B): pupas de *A. argillacea*. (Foto: J.B. Torres).

4.2 Produção da toxina Cry1Ac em planta de algodoeiro Bt em função do estresse hídrico.

A produção da toxina Cry1Ac foi medida comparando plantas submetidas ou não ao estresse hídrico controlado. As plantas foram cultivadas em dois telados contendo seis microparcelsas cada. As microparcelsas são constituídas de anéis de cimento de 1,0 x 0,5m (diâmetro e altura), preenchidos com solo fertilizado de acordo com as exigências do algodoeiro (Figura 2).

Em cada microparcelsa, foram cultivadas quatro plantas de algodão igualmente espaçadas, onde, foram instalados tensiômetros de pulsão analógicos (SondaTerra Equipamentos Agronômicos, SP) (Figura 2), para monitorar a umidade do solo mediante medição da pressão. A umidade favorável para o desenvolvimento das plantas, foi correspondente à pressão média de 0,2 a 0,4 psi e o estresse hídrico determinado correspondente à pressão média de 0,6 a 0,8 psi. As medições eram feitas regularmente no mesmo horário pela manhã e, quando necessário, água foi adicionada as microparcelsas para obtenção de umidade adequada do solo.



Figura 2. Exemplo de uma microparcela de algodão sob-estresse hídrico em casa telada e tensiômetro ao centro para monitoramento da umidade do solo. Recife, PE (Foto: M.S. Lima).

Quatro variedades de algodão foram estudadas, sendo duas transgênicas (Bt) e duas isolinhas não-transgênicas (não-Bt). Assim, as variedades Bt Acala 90B e NuOpal e as não-Bt Acala 90 e DeltaOpal, foram cultivadas para os experimentos. Uma planta de cada variedade foi plantada por microparcela, totalizando quatro plantas por microparcela. Um total de doze microparcels foram instaladas, sendo seis microparcels/repetições submetidas ao estresse e seis sem estresse hídrico. As plantas foram cultivadas até o início da floração sob condições ideais de umidade de solo (i.e, 0,2 a 0,4 psi). A partir desta fase, as microparcels foram sorteadas ao acaso para a submissão das plantas às condições de estresse hídrico ou não. A partir desta data, a irrigação das microparcels sob estresse hídrico foi controlada através da pressão de 0,8 psi.

A primeira amostra de folhas para a medição da produção da toxina Cry1Ac foi coletada no mesmo dia da submissão das plantas ao estresse hídrico (02/12/2009), posteriormente, a coleta de material em partes reprodutivas das plantas (pétalas, brácteas de botões florais e casca de maçãs macias).

A quantificação da produção da toxina Cry1Ac foi realizada aos 14 dias após as plantas estarem sob estresse hídrico. Também, quatro coletas sucessivas (16, 26, 32 e 47 dias) foram realizadas de folhas expandidas do topo das plantas, formadas após as plantas estarem submetidas ou não ao estresse hídrico. As amostras foram coletadas do limbo foliar da folha expandida mais alta do topo das plantas empregando tubos Eppendorf de 2,0 mL. A folha foi dobrada ao longo da nervura principal e com a tampa do tubo cortando um disco foliar do diâmetro do tubo, o qual já ficava depositado em seu interior.

Em seguida, as amostras foram congeladas a -20°C até o momento da extração e quantificação da toxina. A extração foi feita em três amostras por tratamento, empregando solução extratora de proteínas PBST, e a quantificação da proteína Cry1Ac foi realizada empregando Kits ELISA adquiridos da Agdia Incorporated (Agdia[®] Inc., Elkhart, IN) seguindo a metodologia descrita em Torres & Ruberson (2008).

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade de variância pelo Proc Univariate do SAS (SAS Institute, 2001) e transformados, se necessário. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial 2x2 (dois tratamentos ó com estresse e sem estresse - e duas variedades) e interpretados pelo teste de Fisher da ANOVA entre médias de tratamentos e variedades.

4.3 Teste de livre escolha para oviposição. Mariposas do cururuê-do-algodoeiro no início da oviposição foram utilizadas neste estudo. As mariposas foram liberadas nas casas teladas contendo plantas de algodoeiro cultivadas nas microparcels, de acordo com a descrição acima, aos 20 dias após as plantas estarem submetidas às condições de estresse hídrico ou não. Dez mariposas foram liberadas no início da escotofase por casa telada contendo seis microparcels, sendo três sob estresse e três sem estresse (falsas repetições). Assim, um total de 24 plantas de algodoeiro Bt ou não-Bt sob estresse hídrico ou não, foram expostas à oviposição das mariposas por casa telada, sendo adotado duas repetições (casa telada).

Após 72h da liberação das mariposas, as plantas foram vistoriadas para a quantificação do número de ovos por planta. Nesta ocasião, as mariposas sobreviventes foram coletadas e descartadas.

A colonização das plantas pelo curuquerê foi avaliada também no 8^o e 13^o dias após a liberação das mariposas, quantificando-se o número de larvas em cada planta. No 8^o dia, foi verificado se larvas nos últimos ínstaes do curuquerê podem migrar entre plantas não-Bt para plantas Bt e sobreviverem nestas (seja nas folhas ou estruturas reprodutivas). No 13^o dia, as plantas foram vistoriadas para a determinação da pupação e, conseqüentemente, da duração média das fases de ovo e larva em cada tratamento. As pupas coletadas foram então sexadas e pesadas, com 48h de idade. O número, o peso e a duração do período de pupa foram determinados em cada tratamento, visando quantificar os possíveis efeitos do estresse hídrico da planta no desempenho das larvas.

O número de ovos encontrados por planta foi submetido à análise de frequência para o teste de igualdade de escolha para oviposição entre as quatro plantas cultivadas por parcela, através do PROC FREQ do SAS (SAS Institute 2001), e interpretado pelo teste de qui-quadrado.

4.4 Teste de livre escolha para alimentação. Para o estudo de preferência de alimentação de larvas entre plantas Bt e não-Bt, foram empregadas larvas de *A. argillacea* com 3 e 10 dias de idade, provenientes da criação de laboratório, criadas em folhas da variedade BRS Rubi, para minimizar efeitos de condicionamento pré-imaginal dos insetos.

O experimento de escolha para alimentação foi instalado empregando discos de folhas de 5 cm de diâmetro, coletados empregando um vasador circular do mesmo diâmetro da parte mediana do limbo foliar de folhas expandidas do topo da planta. Os discos foram oriundos de folhas de planta das variedades Acala 90B (Bt) e Acala 90 (isolina não-Bt), NuOpal (Bt) e (isolinha não-Bt) DeltaOpal. As folhas foram colhidas e levadas ao laboratório, onde foram previamente

lavadas em água corrente e deixadas para secar o excesso de água, mas com o pecíolo imerso em frasco com água, para manter a turgência.

O teste foi realizado empregando-se arenas circulares tampadas com vidro transparente. As arenas possuem 40 cm de diâmetro e 6 cm de altura, contendo 10 compartimentos de escolha (Figura 3). Em cada compartimento, foi depositado um disco de folha, sendo então empregados dois discos de folhas de cada variedade por arena, totalizando 16 discos de folhas (2 discos x 4 variedades). Os discos de folhas foram dispostos ao acaso em oito compartimentos, sendo dois compartimentos deixados sem alimento para a escolha.

No momento da deposição dos discos foliares nos compartimentos da arena, foi construído um mapa correspondente às variedades, para possibilitar a avaliação do número de larvas realizando a escolha para a alimentação nos intervalos de 2, 4 e 24 h após a liberação. Em seguida, na parte central da arena foram liberadas 10 larvas do curuquerê, as quais foram monitoradas quanto à escolha. Previamente, foi realizado um teste empregando apenas discos de folhas Bt ou não-Bt para averiguar possíveis tendências de escolha, o que não ocorreu. A disposição dos discos foliares nos oito compartimentos de escolha das arenas foi feita com sorteio.



Figura 3. Arenas para teste de livre escolha para alimentação (Foto: M.S. Lima).

Um total de 20 arenas (= repetições) foi instalado para as observações de escolha, sendo que no tratamento empregando larvas com três dias de idade, uma das repetições foi perdida devido a perda de larvas para a avaliação de 24h.

O número de larvas presentes em cada disco de folha/variedade foi anotado e, posteriormente, transformado em porcentagem de escolha. Em seguida, este resultado foi submetido ao PROC FREQ do SAS (SAS Institute, 2001) para testar a hipótese de igualdade de escolha de 25% entre as variedades (100% entre as quatro variedades) e interpretado pelo teste de qui-quadrado ao nível de 5% de significância.

4.5 Biologia de *A. argillacea* em plantas de algodão submetidas ou não ao estresse hídrico.

Neste experimento, foi monitorado o desenvolvimento de *A. argillacea* em plantas de algodão, submetidas ou não ao estresse hídrico e cultivadas em microparcelas em casa telada, como descrito anteriormente para o experimento de preferência de oviposição.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos, planta submetida estresse hídrico (0,6 ó 0,8 psi) ou não submetida a estresse hídrico (0,2 ó 0,3 psi) e 10 repetições cada, com cinco larvas por repetição.

O experimento foi iniciado com o confinamento de larvas neonatas (menos de 12 horas de idade) provenientes da criação mantida em laboratório nas folhas de algodão BRS Rubi. O confinamento das larvas sobre as folhas de algodão das variedades Acala 90 e DeltaOpal submetidas ou não ao estresse hídrico foi feito empregando gaiolas confeccionadas de tecido organza e presas às plantas confinando 3 folhas por gaiola (Figura 4).

As avaliações foram feitas para a obtenção da duração do desenvolvimento larval, medido desde o dia do confinamento até a formação de pupas, e o peso de pupas com 48h de idade. As pupas coletadas foram sexadas, individualizadas e mantidas em laboratório em condições controladas até a emergência de adultos. No dia da emergência foram formados casais, que foram

criados em gaiolas de PVC de 10 cm de diâmetro e 15 cm de altura, seguindo os demais procedimentos da metodologia de manutenção da criação de laboratório.



Figura 4. Gaiolas para biologia de *A. argillacea* em algodão. (Foto: M S Lima).

A reprodução e a longevidade dos indivíduos oriundos das respectivas plantas, submetidas ou não ao estresse hídrico, foram determinadas em laboratório. As condições de temperatura e umidade relativa do ar na casa telada foram monitoradas em intervalos de 30 minutos (HoboTM, DataLogger), os quais foram de $\pm 26,6$ °C e 62%., respectivamente. Em laboratório, os adultos foram mantidos em B.O.D. sob condições controladas de 25 ± 2 °C e 12h de fotoperíodo.

Os resultados de duração do desenvolvimento, de viabilidade larval, e peso de pupas oriundas de larvas confinadas nas plantas na casa telada, bem como as características da fase adulta, período de pré-oviposição, longevidade, número de ovos produzidos e viabilidade de ovos, foram submetidos a teste de normalidade e homogeneidade de variância, e submetidos ao teste t para comparação de médias entre tratamentos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Produção da toxina Cry1Ac em algodoeiro Bt em função do estresse hídrico. A produção de Cry1Ac em folhas expandidas do topo das plantas de algodão Bt foi variável em função das variedades estudadas ($F_{1, 92} = 74,07$; $P < 0,0001$), bem como da condição de estresse hídrico ($F_{1, 92} = 179,73$; $P < 0,0001$), ao qual foram submetidas (Figura 5). Por outro lado, a resposta das plantas foi similar em ambas as condições não havendo interação entre as variedades e as condições com e sem estresse hídrico ($P = 0,7461$).

Em relação às partes reprodutivas das plantas testadas, uma maior produção de toxina foi encontrada nas pétalas, seguido pelas brácteas e casca das maçãs macias (Tabela 1). Na verdade, não foi possível detectar a toxina Cry1Ac na casca de maçãs de Acala 90B submetidas ao estresse hídrico. A produção de Cry1Ac foi superior nas brácteas de botões florais das plantas de Acala 90B, bem como em folhas comparado a variedade NuOpal (Figura 5).

Entre as condições com e sem estresse hídrico, foi detectada maior produção da toxina (ng de Cry1Ac g⁻¹ de peso fresco) em folhas de plantas com estresse hídrico para ambas as variedades (Figura 5). A maior produção da toxina Cry1Ac nas folhas em relação as demais partes das plantas corrobora com o esperado, pois a produção da toxina é predominantemente expressada em tecidos verdes da planta e de forma constitutiva (Purcell *et al.*, 2004).

A produção de Cry1Ac pode ser influenciada pela fisiologia da planta, a qual está diretamente relacionada com a disponibilidade de água no solo e, portanto, submissa à condição de estresse hídrico em que as plantas foram submetidas. Esperava-se que a condição de estresse, então, resultasse em menor síntese da toxina, resultado contrário do que foi encontrado. Isto, no entanto, pode estar relacionado ao fator unidade de análise.

Tabela 1. Produção de Cry1Ac (ng de Cry1Ac g⁻¹ material fresco) em brácteas de botão floral, pétalas e casca de maçã macia de algodão Bt Acala 90B e NuOpal aos 14 dias após as plantas serem submetidas ou não ao estresse hídrico

Condição ¹	Partes da planta	Variedades	
		NuOpal	Acala 90B
Sem estresse	Bráctea	9,0 ± 5,50 a	29,0 ± 1,52 a*
	Pétala	48,0 ± 1,00 a	47,3 ± 1,54 a
	Casca da maçã	10,8 ± 8,60 a	5,1 ± 3,51 a
Com estresse	Bráctea	18,0 ± 0,00 a	36,3 ± 0,66 a*
	Pétala	35,6 ± 2,02 a	46,0 ± 2,88 a
	Casca da maçã	5,8 ± 1,14	ND ²

¹Médias (± EP) seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Fisher da ANOVA (P > 0,05) comparando as respectivas estruturas entre condições sem estresse e com estresse para a mesma variedade. *Médias (± EP) diferem na linha, entre variedades, pelo teste de Fisher da ANOVA (P < 0,05) na mesma condição. ND² = Cry1Ac não detectada ao nível mínimo de detecção de 0,172ng.

A produção de Cry1Ac é expressa em ng/grama de peso fresco neste estudo, conseqüentemente a planta sob estresse hídrico pesaria menos, tendo maior quantidade de folha submetida à extração e menor concentração de água, resultando em maior concentração de toxina por peso de material em comparação ao mesmo peso de material túrgido. Entretanto, este resultado demonstra que mesmo estando submetidas ao estresse hídrico, plantas de algodão Bt de ambas as variedades produziram quantidades consideráveis de Cry1Ac em suas folhas e partes reprodutivas. Adicionalmente, quando as plantas são expostas a situações de estresse hídrico exibem, freqüentemente, respostas fisiológicas, como o investimento em metabolitos secundários, o que inclui as defesas da planta, em contrapartida a redução de sua área foliar (Taiz & Zeiger, 2006).

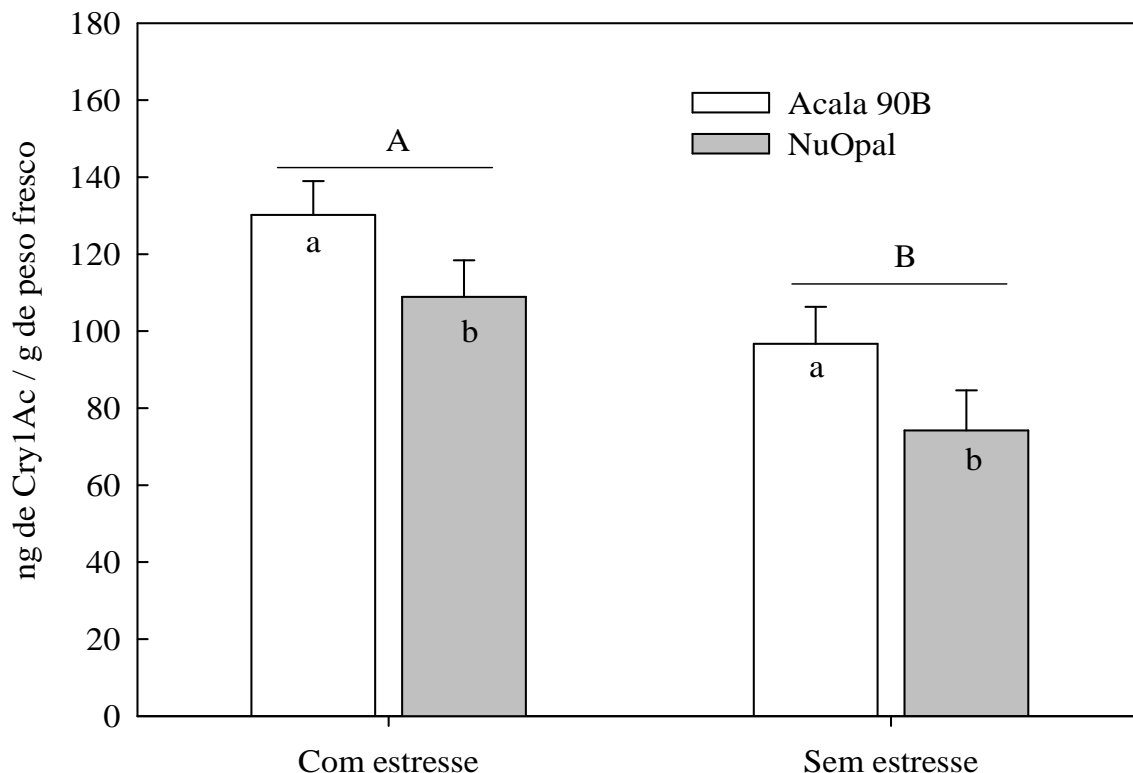


Figura 4. Produção média de Cry1Ac (ng de Cry1Ac g⁻¹ de peso fresco) em folhas desenvolvidas do topo de plantas de algodoeiro Bt Acala 90B e NuOpal em quatro coletas (16 aos 47 dias) após as plantas estarem submetidas ou não a condição de estresse hídrico. Barras com diferentes letras minúsculas comparam as variedades Acala 90B e NuOpal dentro da mesma condição ou, diferentes letras maiúsculas sobre as barras comparam ambas as variedades entre as condições com estresse e sem estresse hídrico (P < 0,05 para o teste de Fisher da ANOVA).

Em geral, a concentração da toxina Cry1Ac em folhas e demais partes reprodutivas das plantas foi em níveis comparáveis ao detectado em outras variedades de algodão Bt (Adamczyk Jr & Sumerford, 2001; Torres *et al.*, 2006) e, compatíveis com as concentrações letais de Cry1Ac determinadas para espécies pragas do algodoeiro tais como a lagarta rosada e lagarta da maçã (Perlak *et al.*, 2001). Embora, não exista linha base de susceptibilidade para o curuquerê, esta espécie é considerada ser altamente susceptível a toxinas do Bt (Sousa, 2009), bem como a produtos formulados a base de Bt (Habib & Andrade, 1984; Habib *et al.*, 1989).

Uma baixa produção da toxina Cry1Ac e irregularidade na produção em função do ambiente e variedade podem resultar em perda de eficiência de controle para espécies menos susceptível

comparado a *A. argillacea* como *H. zea*. Também, pode favorecer a seleção de população de praga resistente por permitir a sobrevivência de indivíduos na população sob pressão (Greenplate *et al.*, 2001).

A variação na produção de toxinas Cry nas plantas Bt pode comprometer o desempenho do controle das pragas alvo. Podendo ocorrer ao longo da estação de acordo com a idade da planta (Greenplate, 2001; Adamczyk *et al.*, 2001; Torres *et al.*, 2006), de acordo com a parte da planta (Perlak *et al.*, 2001), da variedade transformada (Sachs *et al.*, 1998), e do local de plantio, supostamente devido às condições edafoclimáticas (Perlak *et al.*, 2001; Adamczyk Jr & Sumerford, 2001; Pettigrew & Adamczyk, 2006; Rochester, 2006).

Os resultados encontrados mostram, no entanto, que para as variedades estudadas, a condição de estresse hídrico não reduz a produção de toxina e que não existe diferença significativa, na quantidade de toxina nas diferentes partes da planta estudadas, exceto nas folhas onde existe uma maior concentração de Cry1Ac.

Como o Brasil está iniciando o plantio em larga escala de variedades de algodão geneticamente modificada Bt, é bastante interessante verificar o potencial de produção da toxina Cry1Ac sob as nossas condições de cultivo e, ainda, fornecer base de dados para futuro monitoramento da produção da toxina Cry1Ac em estudos comparativos entre regiões, variedades e condições de cultivo. Os resultados obtidos mostram que mesmo sob condição de estresse a produção da toxina Cry1Ac não é anulada e que o controle do curuquerê continua efetivo mesmo nestas condições.

5.2 Teste de livre escolha para oviposição. Mariposas de *A. argillacea* apresentou variação quanto à preferência de oviposição entre as plantas das variedades submetidas e não submetidas ao estresse hídrico. Independente das variedades Bt e Não-Bt, ocorreu maior oviposição nas plantas não submetidas a estresse hídrico ($P < 0,0001$). Assim, dentro da mesma parcela com

plantas Bt ou não-Bt, a maior oviposição ocorreu sempre nas plantas sem estresse hídrico (Figura. 6).

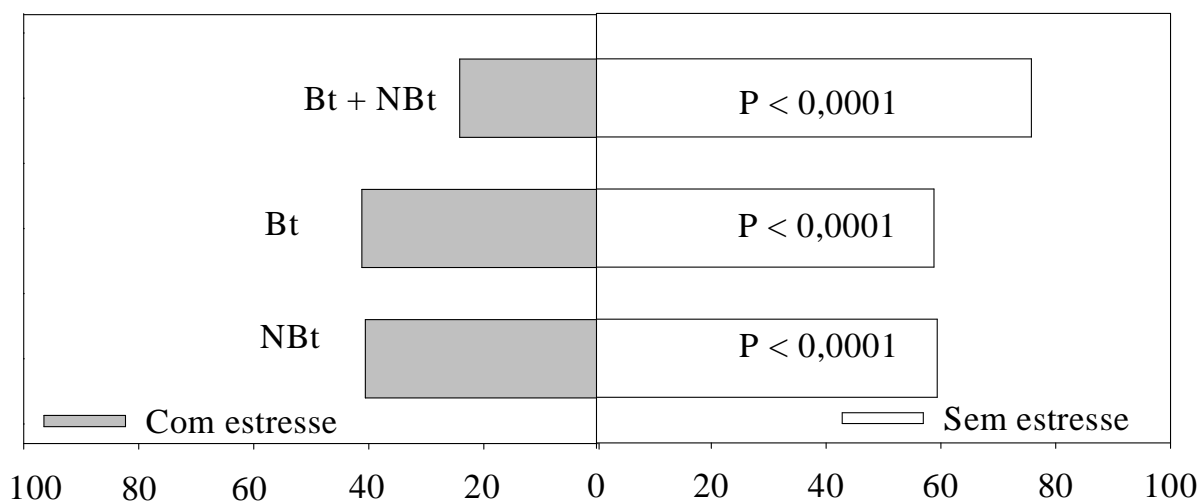


Figura 6. Proporção média de ovos de *Alabama argillacea* depositados nas variedades de algodão Bt e não-Bt e submetidas ou não ao estresse hídrico.

Déficits de umidade no solo frequentemente levam ao estresse oxidativo em folhas com efeitos potencialmente prejudiciais sobre as estruturas e complexos de proteína da membrana (Becana *et al.*, 1998; Knight & Knight, 2001). Tais mudanças na química foliar em resposta ao estresse representam uma mudança significativa na qualidade nutricional do tecido foliar para os herbívoros (Jones, 1991). Mudanças morfológicas e fisiológicas podem ocorrer em plantas sobre estresse (Mattson & Haack, 1987), as quais dependem da espécie, como também, da severidade, duração e do tipo de estresse (Grimme & Campbell, 1991).

Plantas sobre estresse hídrico, por exemplo, apresentam redução de umidade em suas folhas, amido e carboidratos, como também o aumento de nitrogênio e de açúcares solúveis (Miles *et al.*, 1982). Apesar dessas alterações nutricionais e morfológicas, o estresse hídrico em plantas tem sido associado a maiores populações de insetos herbívoros, em especial, insetos sugadores (White, 1984; McQuate & Connor, 1990; Mattson & Haack, 1991).

Portanto, mariposas de *A. argillacea* parecem responder de forma diferente e reconhecer tais modificações preferindo ovipositar em folhas de plantas sem estarem submetidas ao estresse hídrico. É sabido que mariposas são capazes de reconhecerem e depositarem ovos em hospedeiros mais favoráveis ao desenvolvimento de sua descendência (Papaj & Rausher, 1983). De fato, a hipótese do estresse hídrico e surtos populacionais de insetos sugadores de seiva têm fundamentação na menor diluição de nutrientes na seiva tornando-a mais concentrada em plantas sob estresse. Por outro lado, os insetos mastigadores consomem todo o material e, portanto, podem sofrer mais com a redução da turgidez e, conseqüentemente, aumento da resistência física do material.

Mariposas de *A. argillacea* não demonstraram, nas condições deste estudo, capacidade de reconhecer e variar a oviposição entre as parcelas que continham apenas plantas Bt e Não-Bt independente da condição de estresse (Figura 7). *A. argillacea* é uma praga considerada monófaga e, portanto, constantemente submetida à toxina produzida pela planta de algodão Bt durante toda a safra. No entanto, vale salientar que a população de mariposas utilizadas neste estudo jamais teve contato com o algodão Bt.

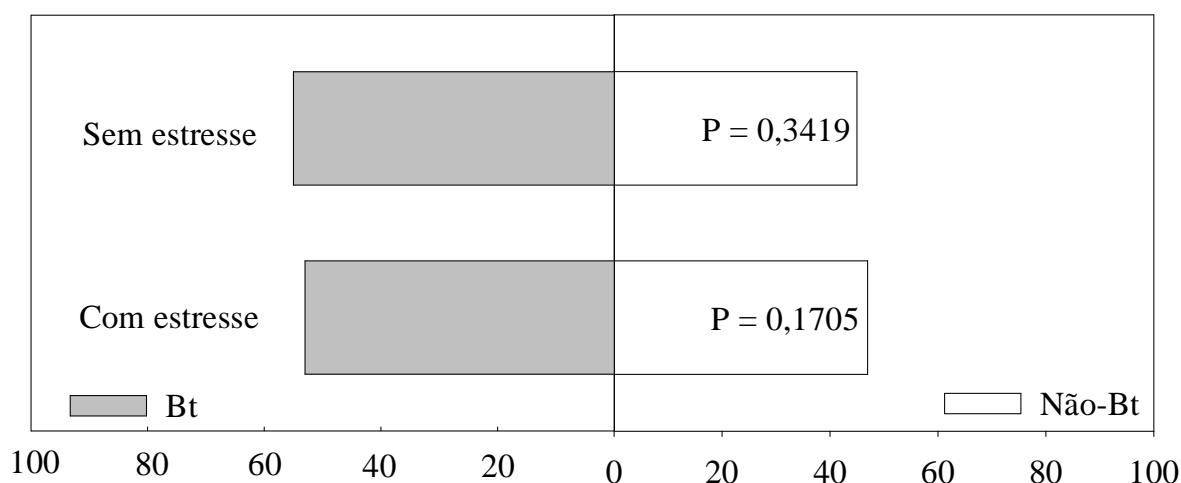


Figura 7. Proporção média de ovos de *Alabama argillacea* depositados nas variedades de algodão Bt e não-Bt em função da condição de estresse hídrico.

Outra hipótese seria uma questão evolutiva, a utilização de plantas transgênicas é uma técnica relativamente recente e não teve tempo suficiente, para as mariposas serem selecionadas (evolutivamente) para reconhecer o hospedeiro adequado.

Assim, estes resultados são de grande importância, pois podem ser considerados como base para futuros estudos de comparação em caso desta praga venha a apresentar alteração em seu comportamento de oviposição frente ao plantio de algodão Bt. Isto porque, a monofagia em lepidópteros os condiciona a terem capacidade de localizar e selecionar o alimento (Papaj & Rausher, 1983; Renwick & Chew, 1994; Ramaswamy, 1988), e essa escolha para a oviposição determina o sucesso da progênie (Renwick & Chew, 1994; Zalucki *et al.*, 2002). Neste experimento pode-se observar que embora *A. argillacea* consiga identificar a planta de algodão com e sem estresse, seja por pistas visuais, químicas, ou através de características morfológicas como a alteração da coloração das folhas, ela não consegue diferenciar o algodão Bt do não-Bt.

Os resultados encontrados sustentam a hipótese de que adultos de lepidópteros alvos de plantas Bt não as reconhecem. Os resultados com *A. argillacea* em teste de escolha para oviposição corroboram com aqueles de densidades de ovos de *Heliothis* e *Helicoverpa* amostrados em campos de algodão Bt e não-Bt (Torres & Ruberson, 2008). Este comportamento de não distinção de plantas Bt e não-Bt para oviposição em *A. argillacea* era de certa forma esperado, pois com a exceção da produção constitutiva da toxina na planta, não existe outra diferença fenotípica entre variedades Bt e não-Bt. Em especial, para espécies monófagas como *A. argillacea* que não tem plantas alternativas para oviposição (Tate & Lewis, 2006).

Como não houve larvas sobreviventes no 8º dia nas plantas Bt não foi possível fazer pesagem de pupas oriundas de plantas Bt para comparação com as sobreviventes das plantas não-Bt. Entretanto, as médias do peso de pupas das variedades não-Bt DeltaOpal e Acala 90 foram de $185,6 \pm 5,21$ mg para machos e de $217,3 \pm 5,35$ mg para fêmeas e semelhantes em ambas as variedades.

5.3 Teste de livre escolha para alimentação. Larvas de três ou 10 dias de idades não demonstraram preferência por alimentar em folhas de algodão Bt ou não-Bt para as quatro variedades de algodão testadas (Tabela 2). *A. argillacea* é uma praga considerada específica do algodoeiro e, portanto, uma diferenciação na alimentação, em especial, de larvas maiores poderia resultar em maior pressão de seleção de populações para a resistência.

Primeiro, as larvas maiores poderiam dispersar para uma planta mais próxima não-Bt, em casos de mistura de sementes, ou para estruturas de menor produção da toxina (Tabela 1), como brácteas de botões florais ou alimentar em casca de maçãs, embora não sejam alimentos preferidos de larvas de *A. argillacea* em comparação as folhas. Contudo, mesmo que as larvas conseguissem identificar plantas Bt, após se alimentarem das mesmas provavelmente seriam incapazes de migrar para outra folha, em virtude do fato de alta suscetibilidade que *A. argillacea* tem demonstrado a toxina Cry1Ac (Sousa, 2009).

Tabela 2. Porcentagem de larvas de *Alabama argillacea* alimentando em diferentes variedades de algodão Bt e suas isolinhas não-Bt quando submetidas ao teste de livre escolha para alimentação em condição de arena em laboratório.

Tempo (horas)	NuOpal	DeltaOpal	Acala 90B	Acala 90	Estatística $\chi^2; P$
<i>Larvas com 3 dias de idade (n = 190)</i>					
2	14,5	13,0	16,0	15,0	1,78; 0,6172
4	14,0	13,0	19,5	18,5	0,46; 0,9274
24	16,5	16,5	19,5	20,5	0,59; 0,8979

<i>Larvas com 10 dias de idade (n = 200)</i>					
2	26,0	30,0	21,0	18,0	0,16; 0,9834
4	25,0	27,5	23,5	21,0	0,96; 0,8086
24	20,5	23,5	28,0	24,5	0,35; 0,9507

Portanto, a hipótese de alta pressão de seleção para a resistência prevalece para essas espécies como o curuquerê, a qual estará restrita no tempo a um mesmo hospedeiro desfavorável no caso do algodão Bt. Desta forma, estes conhecimentos gerados de escolha de plantas Bt pelo curuquerê para a oviposição e para alimentação são fundamentais para o estabelecimento de

parâmetros para detecção de resistência caso esta venha a ocorrer no futuro. Em especial, porque nenhuma exposição do curuquerê ao algodão Bt tem ocorrido e que estará acontecendo no futuro com o amplo plantio no Brasil.

O comportamento de larvas em escolher o alimento frente à exposição de plantas Bt tem sido considerado importante para decisões de manejo quando o nível de produção da toxina na planta, locais de expressão desejada na planta de acordo com hábito alimentar (Reitz & Trumble, 1998). Embora outras espécies de larvas pragas do algodoeiro como *H. zea* e *Spodoptera exigua* (Hübner) apresentam comportamento de recusar o alimento após terem contato com dieta contendo a toxina Cry1Ac ou planta de algodão Bt (Stapel *et al.*, 1998, Gore *et al.*, 2002), este comportamento não foi observado para larvas de *A. argillacea*.

5.4 Biologia de *A. argillacea* em algodoeiro submetido e não submetido ao estresse hídrico.

O desenvolvimento de *A. argillacea* foi variável entre as variedades de algodão submetidas e não submetidas ao estresse hídrico, pois chegaram a fase adulta apenas as larvas que foram confinadas nas plantas sem estresse (Tabela 3).

Larvas neonatas de *A. argillacea* confinadas em plantas de algodão não-Bt testadas neste estudo, Acala 90 e DeltaOpal submetidas ao estresse hídrico não conseguiram completar o desenvolvimento. Vale salientar que *A. argillacea* apresenta desenvolvimento e reprodução quando criada em folhas de plantas da variedade Acala 90 (Santos *et al.*, 2008), inclusive com melhor desempenho comparado as variedades BRS Verde e BRS 201. Larvas criadas com folhas da variedade Acala 90, apresentaram 84% de viabilidade (Santos *et al.*, 2008).

No presente experimento, também, larvas confinadas em plantas de algodão sem estresse hídrico se desenvolveram e reproduziram dentro da amplitude de valores usualmente observados para esta espécie e sem diferença entre as variedades Acala 90 e DeltaOpal (Tabela 3). Este resultado reforça o fato que *A. argillacea* tem a sua fase larval afetada quando alimentando em plantas de algodão submetidas ao estresse hídrico. Este resultado, também, gera um interessante

questionamento sobre a história de vida desta praga desde que naturalmente ela pode ser submetida a longos períodos de estiagem, além dos veranicos no Semiárido.

Tabela 3. Características do desenvolvimento de *Alabama argillacea*, confinada em plantas de algodoeiro Acala 90 DeltaOpal não submetidos a estresse hídrico, em campo microparcels. Temperatura de $\pm 26,6$ °C fotoperíodo natural e umidade relativa de 62%.

Características	Variedades		
	Acala 90	DeltaOpal	Estatística
Duração larval (dias)	12,6 \pm 0,65	12,2 \pm 0,31	t= 0,71; P = 0,495
Viabilidade larval (%)	76,6 \pm 6,14	68,2 \pm 4,24	t= 0,20; P = 0,382
Duração pupal (dias)	6,7 \pm 0,28	6,6 \pm 0,20	t= 0,52; P = 0,612
Peso de pupas (mg)	184,4 \pm 5,66	196,3 \pm 5,29	t =1,98; P = 0,083
Peso de pupas (mg)	215,7 \pm 4,51	212,7 \pm 5,88	t= 0,46; P = 0,654
Viabilidade pupal (%)	95,8 \pm 4,16	81,6 \pm 9,71	t= 1,34; P = 0,210

Os resultados deste estudo mostram que *A. argillacea* não realiza distinção para se alimentar ou ovipositar entre plantas de algodão Bt e não-Bt. Os resultados mostram também que plantas submetidas ao estresse hídrico não reduz a produção Cry1Ac, e que plantas submetidas ao estresse hídrico interfere significativamente na viabilidade larval de *A. argillacea*. Este último resultado, portanto, merece investigações mais detalhadas em virtude de ser uma condição que a planta de algodão pode ser submetida com relativa frequência quando cultivada no Semiárido.

Agradecimentos

A CAPES pela concessão de bolsa ao primeiro autor e ao CNPq pelo suporte financeiro a pesquisa. A UFRPE-PPGEA pela disponibilidade logística para a realização dos experimentos

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamczyk Jr, J.J. & D.V. Sumerford. 2001.** Potential factors impacting season-long expression of Cry1Ac in 13 commercial varieties of Bollgard® cotton J. Insect Sci. 1: 166.
- Ashraf, M. 2002.** Salt tolerance of cotton: some new advances. Crit. Rev. Pl. Sci. 21: 1630.
- Becana, M., J.F. Moran & I. Iturbe-Omaetxe. 1998.** Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: Toxicity and antioxidant protection. Pl. Soil 201:1376147.
- Bennett, R., S. Morse & Y. Ismael. 2006a.** The economic impact of genetically modified cotton on South African smallholders: yield, profit and health effects. J. Develop. Study 42: 662-677.
- Bennett, R., U. Kambhampati, S. Morse & Y. Ismael. 2006b.** Farm-level economic performance of genetically modified cotton in Maharashtra, India. Rev. Agric. Econ. 28: 59-71.
- Beltrão, N.E.M., D.M.P. Azevedo, L.B. Nobrega & W.J. Santos. 1996.** Modificações no crescimento e desenvolvimento do algodoeiro herbáceo sob saturação hidrostática do substrato em casa de vegetação. Pesqu. Agropec. Bras. 32: 391-397.
- Degrande, P.E. 1998.** Guia prático de controle das pragas do algodoeiro. Dourados, UFMS, 60p.
- Domiciano, N.L. & W.J. Santos. 1994.** Momento adequado para aplicação de inseticida no controle do curuquerê-do-algodoeiro. Pesqu. Agropec. Bras. 29:7-11.
- Doorenbos, J. & Kassam, A.H. 1994.** Efeito da água no rendimento das culturas. Campina Grande: UFPB, 306p. (Estudos FAO, Irrigação e Drenagem, 33).
- Embrapa algodão, 2003.** disponível em:
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoIrrigado/>.
Acesso em 13/04/2009.
- Fontes, E.M.G., F.S. Ramalho, E. Underwood, P.A.V. Barros, M.F. Simon, E.R. Sujii, C.S.S. Pires, N. Beltrão, W.A. Lucena, & E.C. Freire. 2006.** The cotton agricultural context in Brazil, p.21-66 In A. Hilbeck, D.A. Andow & E.M.G. Fontes (eds.), Environmental risk assessment of genetically modified organisms.V.2, Methodologies for assessing Bt cotton in Brazil. Wallingford, CABI Publishing, 373p.
- Greenplate, J.T., W. Mullins, S. Penn, and K. Embry. 2001.** Cry1Ac levels in candidate commercial Bollgard_ cultivars as influenced by environment, variety, and plant age: 1999 gene equivalency Field studies. p. 7906793. In Proc. Beltwide Cotton Conf., Anaheim, CA. 96 13 Jan. 2001. Natl. Cotton Counc. Am., Memphis, TN.
- Gore, J., B.R. Leonard, G.E. Church & D.R. Cook. 2002.** Behavior of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae on genetically engineered cotton. J. Econ. Entomol. 95, 763-769.

- Grimme, J.P. & Campbell, B.D. 1991.** Growth rates, habitat productivity, and plant strategy as predictors of stress response, p.143-157. In H.A. Mooney, W.E. Winner & E.J. Pell (eds.), Response of Plants to Multiple Stresses. New York, Elsevier, 925p.
- Habib, M.E.M. & C.F.S. Andrade. 1984.** Patogenicidade de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (H: 3a- 3b) para o curuquerê do algodão, *Alabama argillacea* (Hubner, 1818) (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Agric. 59: 263-282.
- Habib, M.E.M., C.F.S. Andrade & W.L. Rossi. 1989.** Avaliação da eficiência de quatro produtos formulados para uso em UBV no controle do curuquerê do algodão, *Alabama argillacea* (Hubner, 1818) (Lepidoptera, Noctuidae). Ecosistema 14: 179-187.
- Jongsma, M.A., F. Gould, M. Legros, L. Yang, J.J. van Loon & M. Dicke. 2010.** Insect behavior affects the evolution of adaptation to Bt crops: consequences for refuge policies. Evol. Ecol.
- Jones, C.G. 1991.** Plant stress and insect herbivory: Toward an integrated perspective, p. 249-280. In H.A. Mooney, W.E. Winner & E.J. Pell (eds.), Response of Plants to Multiple Stresses. New York, Academic Press, 1113p.
- Knight, H. & M.R. Knight. 2001.** Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk. Trends Pl. Sci. 6:262-267.
- Leidi, E.O. & J.F. Saiz. 1997.** Is salinity tolerance related to Na accumulation in upland cotton (*Gossypium hirsutum*) seedlings. Pl. Soil 190: 67-75.
- Mattson, W.J.Jr. & R.A. Haack. 1991.** The role of drought in outbreak of plant-eating insects. Bioscience 37: 110-118.
- Mcquate, G.T. & E.F. Connor. 1990.** Insect responses to plant water deficits. 1: Effect of water deficits in soybean plants on the feeding preference of Mexican bean beetle larvae. Ecol. Entomol. 15: 419-431.
- Miles, P.W., Aspinall, D. & A.T. Correll. 1982.** The performance of two chewing insects on water-stressed food plants in relation to changes in their chemical composition. Aus. J. Zool. 30: 347-355.
- MCT (Ministério da Ciência e Tecnologia) 2008.** Disponível em; www.abrapa.com.br/estatisticas/LiberacaoAlgodao.doc acesso em 22/03/2009.
- Papaj, D.R. & M.D. Rausher. 1983.** Individual variation in host location by phytophagous insects, p. 77-124. In S. Ahmad (ed.), Herbivorous Insects: Host-Seeking Behavior and Mechanisms. New York, Academic Press, 257p.
- Pereira, M.N.B., N.C. Azevedo, P.D. Fernandes & M.S. Amorim Neto. 1997.** Crescimento e desenvolvimento de duas cultivares de algodoeiro herbáceo em baixos níveis de umidade do solo, em casa de vegetação. Rev. Bras. Eng. Agric. 1: 1-7.

- Perlak, F.J., Oppenhuizen, M., Gustafson, K., Voth, R., Sivasupramaniam, S., Heering, D., Carey, B., Ihrig, R.A., & Roberts, J.K. 2001.** Development and commercial use of Bollgard® cotton in the USA: Early promises versus today's reality. *Pl. J.* 6: 489-501
- Pray, C., J. Huang, R. Hu & S. Rozelle. 2002.** Five years of Bt cotton in China - the benefits continue. *Pl. J. Hesli.* 31:423-430.
- Purcell, J.P., M. Oppenhuizen, T. Wofford, A.J. Reed & F.J. Perlak. 2004.** The story of Bollgard cotton, p.1148-1163. In P. Christou & H. Klee (eds.), *Handbook of Plant Biotechnology.* Indiana, Wiley, 1862p.
- Quirino, E.S. & J.J. Soares. 2001.** Efeito do ataque de *Alabama argillacea* no crescimento vegetativo e sua relação com a fenologia do algodoeiro. *Pesqu. Agropec. Bras.* 36:1005-1010.
- Ramalho, F.S. 1994.** Cotton pest management: Part 4. A Brazilian perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 563-578.
- Ramaswamy, S. B. 1988.** Host finding by moths: sensory modalities and behaviours. *J. Insect Physiol.* 34: 2356249.
- Reitz, S. R. & J. T. Trumble. 1998.** Potential impact of larval behavior on use of transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins. *IOBC/WPRS Bull.* 21: 229 - 233.
- Renwick, J. A. A. & F. S. Chew. 1994.** Oviposition behaviour in Lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 39:3776400.
- Richetti, A., G.A. Melo Filho, F.M. Lamas, L.A. Staut & A.C. Fabrício. 2004.** Estimativa do custo de produção de algodão, safra 2004/05, para Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. Dourados: Embrapa Pecuária Oeste, 16 p. (Comunicado Técnico, 91).
- Sachs, E.S., J.H. Benedict, D.M. Stelly, J.F. Taylor, D.W. Altman, S.A. Berberich & S.K. Davis. 1998.** Expression and segregation of genes encoding Cry1Ac insecticidal proteins in cotton. *Crop Sci.* 38:1611.
- Santos, R.L., J.B. Torres & C.S. Bastos. 2008.** Desenvolvimento e crescimento populacional de *Alabama argillacea* em algodoeiro de fibra branca e colorida. *Pesq. Agropec. Bras.* 43: 457-463.
- Sas Institute 2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. Cary: SAS Institute Inc.
- Soares, J.J., A.G. Jácome, J.G. Sousa, R.H. Oliveira & D.S. Wanderley. 1997.** Influência do desfolhamento simulado pelo ataque do curuquerê no desenvolvimento vegetativo e no rendimento do algodoeiro. Campina Grande: Embrapa Algodão, 6p. (Comunicado técnico, 61).
- Soares, J.J. & M.S. Silva. 2003.** Efeito da época de plantio na produção e na ocorrência de pragas em culturas do algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). *Arq. Inst. Biol.* 70:295-302.

- Sousa, M.E.C. 2009.** Análise morfológica e ultra-estrutural do mesêntero de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) frente à toxina Cry1Ac. Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife, 66p.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2004.** Fisiologia Vegetal. 3º Ed. Porto Alegre, Artmed,. 721p
- Tate, H. R. L. & L.C. Lewis. 2006.** Evaluation of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) neonate preferences for corn and weeds in corn. J. Econ. Entomol. 99:1987-1993.
- 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.
- Torres, J.B. & J.R. Ruberson. 2008.** Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. Trans. Res. 17: 345-354.
- Torres, J.B., Ruberson, J.R. & M. Whitehouse. 2009.** Transgenic cotton for sustainable pest management: a review, p. 15-54. In E. Lichtfouse. Organic farming, pest control and remediation of soil pollutants: Sustainable Agriculture Reviews. Dordrecht, Springer, 418p.
- Traxler, G. & Godoy-Avila, S. 2004.** Transgenic cotton in Mexico. J. Agrob. Manag. Econ. 7:57-62.
- White, T. C. R. 1984.** The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. Oecologia 63: 90-105.
- Zalucki, M. P., A. R. Clarke, & S. B. Malcolm. 2002.** Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. Annu. Rev. Entomol. 47: 361-393.