

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS –
AGRONOMIA

**MONITORAMENTO PÓS-COMERCIALIZAÇÃO DO POTENCIAL
IMPACTO DE SOJA Bt EXPRESSANDO Cry1Ac NA
COMUNIDADE DE ARTRÓPODES NÃO ALVO**

Autora: Isabella Pereira Carrijo
Orientador: Prof. Dr. Pablo Gontijo

RIO VERDE - GO
Outubro/2022

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS –
AGRONOMIA

**MONITORAMENTO PÓS-COMERCIALIZAÇÃO DO POTENCIAL
IMPACTO DE SOJA Bt EXPRESSANDO Cry1Ac NA
COMUNIDADE DE ARTRÓPODES NÃO ALVO**

Autora: Isabella Pereira Carrijo
Orientador: Prof. Dr. Pablo Gontijo

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS – AGRONOMIA no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado.

RIO VERDE - GO
Outubro/2022

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

C316m Carrijo, Isabella Pereira
Monitoramento pós-comercialização do potencial
impacto de soja Bt expressando Cry1Ac na comunidade
de artrópodes não alvo / Isabella Pereira Carrijo;
orientador Pablo da Costa Gontijo. -- Rio Verde,
2022.
30 p.

Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-Graduação
em Ciências Agrárias - Agronomia) -- Instituto
Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2022.

1. Avaliação de risco de culturas Bt. 2. Bacillus
thuringiensis. 3. Plantas transgênicas. 4. Inimigos
naturais. 5. MIP. I. Gontijo, Pablo da Costa,
orient. II. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 107/2022 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

MONITORAMENTO PÓS-COMERCIALIZAÇÃO DO POTENCIAL IMPACTO DE SOJA Bt EXPRESSANDO Cry1Ac NA COMUNIDADE DE ARTRÓPODES NÃO-ALVO

Autora: Isabella Pereira Carrijo

Orientador: Dr. Pablo da Costa Gontijo

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias - Agronomia - Área de Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em 06 de outubro de 2022.

Prof. Dr. Pablo da Costa Gontijo (Presidente)

Prof. Dr. Fernando Higino de Lima e Silva (Avaliador interno)

Dra. Valéria Fonseca Moscardini (Avaliadora externa)

Documento assinado eletronicamente por:

- Valéria Fonseca Moscardini, Valéria Fonseca Moscardini - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (10651417000500), em 09/10/2022 07:34:18.
- Fernando Higino de Lima e Silva, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 06/10/2022 16:27:10.
- Pablo da Costa Gontijo, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 06/10/2022 16:24:31.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 29/09/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 430144
Código de Autenticação: f02d745fec



AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia (PPGCA-Agro), por proporcionarem a oportunidade de qualificação profissional, com o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), agradeço a concessão da bolsa.

Ao meu orientador professor Dr. Pablo Gontijo, por todo o ensinamento proporcionado. Aos alunos de Iniciação Científica do Laboratório de Entomologia, que me ajudaram nas atividades de execução do projeto. Aos professores do PPGCA-Agro, pelos conhecimentos passados.

Aos membros da banca de defesa Dra. Valéria Moscardini e Prof. Dr. Fernando Higino de Lima e Silva, pelas contribuições para melhoria da dissertação.

Agradeço aos meus pais, Rogério Soares Carrijo e Lucinara Pereira Carrijo, pelo incentivo e apoio durante o mestrado. A minha, irmã Fernanda Pereira Carrijo, por me apoiar e ajudar quando necessário. Ao meu esposo Ricardo Rebelatto Muniz, que me apoiou e ajudou com os estudos.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Isabella Pereira Carrijo, nascida em 16 de outubro de 1992 na cidade de Rio Verde-GO. No ano de 2013 ingressou no curso de Bacharel em Agronomia na Universidade de Rio Verde, graduando-se em 2016. Trabalhou na multinacional Archer Daniels Midland de 2016 até 2019. Neste mesmo ano, iniciou como aluna especial do curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias –Agronomia (PPGCA-Agro) no Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde. Já em 2020 ingressou como aluna regular do Programa, sob orientação do professor Dr. Pablo Gontijo. Em 2021, ingressou na multinacional Bayer, na área de geração de demanda.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2. OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo Geral	11
2.2. Objetivos Específicos	11
3. REFERÊNCIAS.....	11
ARTIGO ÚNICO: Monitoramento pós-comercialização do potencial impacto de soja Bt expressando Cry1Ac na comunidade de artrópodes não alvo	13
Resumo	13
Abstract.....	14
1. Introdução	14
2. Material e Métodos	15
2.2. Áreas e procedimento experimental	15
2.3. Avaliação dos artrópodes não alvo.....	16
2.4. Triagem e identificação dos artrópodes não alvo.....	17
2.5. Análise dos dados	17
3. Resultados.....	18
3.1. Caracterização da comunidade de artrópodes não alvo.....	18
3.2. Potencial impacto na comunidade de artrópodes não alvo.....	19
4. Discussão	19
5. Conclusões	21
6. Agradecimentos	21
7. Referências.....	21

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.** Número de morfoespécies e porcentagem de espécimes, entre parentes, por ordem de artrópodes não alvo coletadas por armadilhas Moericke, Sticky e Pitfall traps em tecnologias de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac e soja não Bt em Rio Verde (safra 2019/20) e Montividiu (safra 2020/21), Goiás, Brasil. 27
- Tabela S1.** Comprimentos dos gradientes (SD) da *Detrended Correspondence Analysis* (DCA) dos artrópodes não alvo mais representativos (frequência de coleta $\geq 10,0$) coletados em tecnologia de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac e em soja não Bt em Rio Verde (safra 2019/20) e Montividiu (safra 2020/21), Goiás, Brasil. 30

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figure 1.** Total de artrópodes não alvo coletados por armadilhas Moericke, Sticky e Pitfall traps em tecnologias de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac e soja não Bt em Rio Verde (safra 2019/20) e Montividiu (safra 2020/21), Goiás, Brasil. Valores sobre as barras representam o número de morfoespécies coletadas e entre parenteses o número de ordens das morfoespécies coletadas. 26
- Figure 2.** Curvas de resposta principal (PRCs) e pesos das morfoespécies (bk) de artrópodes não alvo coletados por (A) Moericke, (B) Sticky e (C) Pitfall traps em tecnologias de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac, comparadas com soja não Bt em Rio Verde, Goiás, Brasil, safra 2019/20. Morfoespécies com pesos entre -0,5 e 0,5 não foram representadas nos gráficos por contribuírem pouco com a resposta da comunidade na PRC (Van den Brink e Ter Braak, 1999). Os estádios fenológicos da soja foram avaliados de acordo com Farias *et al.* (2007)..... 28
- Figure 3.** Curvas de resposta principal (PRCs) e pesos das morfoespécies (bk) de artrópodes não alvo coletados por (A) Moericke, (B) Sticky e (C) Pitfall traps em tecnologias de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac, comparadas com soja não Bt em Montividiu, Goiás, Brasil, safra 2020/21. Morfoespécies com pesos entre -0,5 e 0,5 não foram representadas nos gráficos por contribuírem pouco com a resposta da comunidade na PRC (Van den Brink e Ter Braak, 1999). Os estádios fenológicos da soja foram avaliados de acordo com Farias *et al.* (2007)..... 29

RESUMO

CARRIJO, I. P. **Monitoramento pós-comercialização do potencial impacto de soja Bt expressando Cry1Ac na comunidade de artrópodes não alvo.** 2022. 30p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias – Agronomia). Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, Brasil.

Apesar da importância de estudos do potencial impacto de culturas Bt sobre organismos não alvo, ainda são poucas as pesquisas pós-comercialização a nível de comunidade, principalmente na cultura da soja no Brasil. Estudos de avaliação de risco de culturas Bt pós-comercialização (monitoramento) são importantes porque os efeitos da biotecnologia podem levar vários anos para serem expressos a nível de comunidade de artrópodes não alvo (NTAs). O objetivo do projeto é avaliar o potencial impacto pós-comercialização da soja Bt expressando a proteína inseticida Cry1Ac na comunidade de NTAs associada a cultura na região do sudoeste goiano. Para isso, ensaios de campo foram realizados em Rio Verde e Montividiu, nas safras 2019/20 e 2020/21, respectivamente. Os ensaios foram conduzidos em delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições e dois tratamentos: soja Bt expressando Cry1Ac e soja não Bt. A comunidade de NTAs foi avaliada utilizando armadilhas Moericke, Sticky e Pitfall traps, nos estádios de crescimento da soja V2/3, V5/6, R2/3, R5/6 e R7/8. O potencial impacto da soja Bt sobre NTAs foi avaliado utilizando análise de *Principal Response Curve* (PRC). Acreditando que os resultados do presente trabalho possam somar na literatura, ajudando a esclarecer os potenciais efeitos de culturas Bt sobre os NTAs. Com isso, contribuir para o desenvolvimento de estratégias de manejo de pragas mais eficientes e sustentáveis na cultura da soja.

Palavras-chave: Avaliação de risco de culturas Bt, *Bacillus thuringiensis*, plantas transgênicas, inimigos naturais, MIP, resistência de plantas.

ABSTRACT

CARRIJO, I. P. **Post market monitoring of the potential impact of Bt soybean expressing Cry1Ac on the non-target arthropods community.** 2022. 30p. Dissertation (Master in Agricultural Science – Agronomy). Federal Institute Goiano – *Campus* Rio Verde – GO, Brazil.

Despite the importance of studies about the potential impact of Bt crops on non-target organisms, there is still little post-market research at the community level, especially on soybean in Brazil. Post-market risk assessment (monitoring) studies of Bt crops are important because the biotechnology effects can take several years to be expressed at the non-target arthropod (NTAs) community. The objective of the work is to evaluate the potential post-market impact of Bt soybean expressing the insecticidal protein Cry1Ac in the community of NTAs associated with the crop in the Southwest region of Goiás. For this, field trials were carried out in Rio Verde and Montividiu, in the 2019/20 and 2020/21 seasons, respectively. The assays were carried out in a randomized block design with four replications and two treatments: Bt soybean expressing Cry1Ac and non-Bt soybean. The NTA community was evaluated using Moericke, Sticky and Pitfall traps, at soybean growth stages V2/3, V5/6, R2/3, R5/6 and R7/8. The potential impact of Bt soybeans on NTAs was assessed using Principal Response Curve (PRC) analysis. We believe that the results of the present work can add to the literature, helping to clarify the potential effects of Bt crops on NTAs. Thus, contributing to the development of more efficient and sustainable pest management strategies in soybean.

Keywords: Risk assessment of Bt crops, *Bacillus thuringiensis*, transgenic plants, natural enemies, IPM, plant resistance.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Entre as culturas agrícolas geneticamente modificadas (GM), a soja *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae) se destaca como a cultura que mais adota o uso de biotecnologia no mundo, com 48,2% da área cultivada na safra 2019 adotando eventos transgênicos, seguida pelo milho (32%) e algodão (13,5%) (ISAAA, 2019). No Brasil, maior produtor e exportador de soja do mundo, com produção de aproximadamente 124 milhões de toneladas na safra 2021/2022 (CONAB, 2022), a introdução de plantas GM completou 20 anos em 2018. Atualmente, o país ocupa a segunda posição no ranking dos países que mais adotam cultivos GM, com média de adoção em 94% das áreas de soja, milho, algodão e cana-de-açúcar. Os Estados Unidos lideram o ranking com adoção média de cultivos GM em 95% das áreas de milho, soja, algodão, canola entre outras culturas (ISAAA, 2019).

Do total de eventos GM em cultivos agrícolas aprovados de 1992 a 2018 no mundo, os eventos de resistência a insetos (IR) representam 15,8%, enquanto eventos para tolerância a herbicidas (HT) e eventos combinados (IR + HT) representam 20,7 e 30,5%, respectivamente (ISAAA, 2018). No caso dos eventos de resistência a insetos, a resistência das plantas se deve a expressão de proteínas inseticidas derivadas da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* (Bt). A ação inseticida das proteínas Bt sobre os insetos-alvo envolve um processo complexo que inicia pela ingestão da inclusão do cristal proteico Bt pelo inseto. Após a ingestão, a proteína Bt é solubilizada por processos proteolíticos no intestino médio do inseto, sendo necessário pH alcalino para que ocorra a ativação da proteína. Posteriormente, a proteína na sua forma ativa se liga de forma irreversível em receptores específicos na membrana do intestino médio do inseto, causando o rompimento da membrana, levando o inseto a morte (Whalon e Wingerd, 2003).

O uso de plantas Bt é importante ferramenta para programas de manejo integrado de pragas (Romeis *et al.*, 2006; Bernadi *et al.*, 2012; Machado *et al.* 2020). Atualmente estão disponíveis no mercado brasileiro três biotecnologias de soja Bt. A primeira foi a Intacta RR2 PRO®, que contém apenas a proteína inseticida Cry1Ac. Entretanto, com o surgimento de novas pragas agrícolas e o aumento da frequência de relatos de resistência de insetos a proteína inseticida Cry1Ac, duas novas biotecnologias com maior espectro de ação foram lançadas nos últimos anos, são elas a Intacta 2 Xtend®, que expressa as proteínas inseticidas Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1A e a tecnologia Conkesta E3® que expressa as proteínas inseticidas Bt Cry1Ac + Cry1F.

Embora as plantas Bt sejam amplamente utilizadas como ferramenta de manejo de pragas, seus benefícios são em parte questionados por falta de estudos para avaliar potenciais impactos em organismos não alvo (Naranjo, 2009; Romeis *et al.*, 2014). Estas avaliações são importantes porque efeitos adversos de plantas Bt podem acarretar estresse às comunidades de organismos não alvo, sendo decorrentes de efeitos diretos e indiretos, assim como efeitos letal e subletais (Guedes *et al.*, 2016; 2017).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial impacto pós-comercialização da soja Bt expressando a proteína inseticida Cry1Ac na comunidade de artrópodes não alvo associada a cultura na região do sudoeste goiano.

2.2. Objetivos Específicos

1. Avaliar o impacto da soja Bt expressando Cry1Ac sobre artrópodes não alvo associados ao dossel das plantas.
2. Avaliar o impacto da soja Bt expressando Cry1Ac sobre artrópodes não alvo da superfície do solo.

3. REFERÊNCIAS

BERNARDI, O. et al. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, v.68, p.1083-1091, 2012.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra Brasileira – Grãos, Safra 2021/2022. Disponível em < <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4536-safra-2021-22>> Consultado em 18/08/2022.

GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G.; DESNEUX, N. Pesticide-induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. **Annual Review of Entomology**, v.61, p.1-20, 2016.

GUEDES, R.N.C.; WALSE, S.S.; THRONE, J.E. Sublethal exposure, insecticide resistance and community stress. **Current Opinion in Insect Science**, v.21, p.47-53, 2017.

- ISAAA - INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRIBIOTECH APPLICATIONS. **Global status of commercialized biotech/GM crops: 2019**. Disponível em: <http://www.isaaa.org> > Acessado em 18/07/2022.
- ISAAA - INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRIBIOTECH APPLICATIONS. **GM approval database**. Disponível em: <http://www.isaaa.org> > Acessado em 18/07/2022.
- MACHADO, E.P. et al. Survival and development of *Spodoptera eridania*, *Spodoptera cosmioides* and *Spodoptera albula* (Lepidoptera: Noctuidae) on genetically-modified soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins. **Pest Management Science**, v. 76, p. 4029-4035, 2020.
- NARANJO, S.E. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. **CAB Reviews**, v.4, p.1-23, 2009.
- ROMEIS, J. et al. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, v.24, p.63-71, 2006.
- ROMEIS, J.; MEISSE, M.; ALVAREZ-ALFAGEME, F.; BIGLER, F.; BOHAN, D.A.; DEVOS, Y. et al. Potential use of an arthropod database to support the non-target risk assessment and monitoring of transgenic plants. **Transgenic Research**, v.23, p.995-1013, 2014.
- WHALON, M.E.; WINGERD, B.A. Bt: Mode of Action and Use. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v.54, p.200-211, 2003.

ARTIGO ÚNICO

O artigo foi escrito de acordo com as normas da revista Crop Protection
(Elsevier; JCR 3.036)

Monitoramento pós-comercialização do potencial impacto de soja Bt expressando Cry1Ac na comunidade de artrópodes não alvo

Resumo

Plantas Bt são importante ferramenta para programas de manejo integrado de pragas. Entretanto, seus benefícios são em parte questionados por falta de estudos de avaliação de risco de longo prazo a organismos não alvo. Este é o primeiro esforço no Brasil para avaliar potenciais impactos pós-comercialização da soja Bt expressando Cry1Ac sobre a comunidade de artrópodes não alvo (NTAs). Para isso, ensaios de campo foram conduzidos em duas localidades e safras. Os ensaios foram conduzidos em delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições e dois tratamentos (soja Bt e não Bt). Os NTAs foram amostrados utilizando armadilhas Moericke, Sticky e Pitfall traps. As coletas dos artrópodes foram realizadas nos estádios de crescimento da soja V2/3, V5/6, R2/3, R5/6 e R7/8. O potencial impacto da soja Bt sobre a comunidade de NTAs foi avaliado pela análise de *Principal Response Curve* (PRC). Nenhum efeito significativo da soja Bt – Cry1Ac foi verificado na comunidade de NTAs associado a cultura. Os resultados do presente trabalho confirmam que culturas Bt têm pouco ou nenhum efeito sobre NTAs. Entretanto, é necessário o constante monitoramento dos potenciais efeitos, principalmente a nível de comunidade para estabelecer estratégias sustentáveis para o controle de pragas.

Palavras-chave: Avaliação de risco, *Bacillus thuringiensis*, plantas transgênicas, inimigos naturais, MIP, resistência de plantas.

Post market monitoring of the potential impact of Bt soybean expressing Cry1Ac on the non-target arthropods community

Abstract

Bt plants are an important tool for integrated pest management programs. However, its benefits are partly questioned by the lack of long-term risk assessment studies for non-target organisms. This is the first effort in Brazil to assess potential post-market impacts of Bt soybean expressing Cry1Ac on the non-target arthropod (NTAs) community. For this, field trials were carried out in two locations and seasons. The trials were carried out in a randomized block design with four replications and two treatments (Bt and non-Bt soybeans). NTAs were sampled using Moericke, Sticky and Pitfall traps. Arthropods were collected at soybean growth stages V2/3, V5/6, R2/3, R5/6 and R7/8. The potential impact of Bt soybean on the NTA community was assessed by Principal Response Curve (PRC) analysis. No significant effect of Bt soybean – Cry1Ac was found on the NTA community associated with the crop. The results of the present work confirm that Bt crops have small or no effect on NTAs. However, constant monitoring of potential effects is necessary, especially at the community level, to establish sustainable strategies for pest control.

Keywords: Risk assessment, *Bacillus thuringiensis*, transgenic plants, natural enemies, IPM, plant resistance.

1. Introdução

No Brasil, o uso comercial de soja geneticamente modificada resistentes a insetos expressando proteínas inseticidas derivadas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) teve início na safra 2013/2014, com adoção de uma área de aproximadamente 2,2 milhões de hectares. Entretanto, o uso da biotecnologia Bt cresceu ano a ano e na safra 2016/17 a área cultivada com soja Bt passou para 20,3 milhões de hectares, e representou cerca de 60% da área total plantada com a cultura (ISAAA, 2017).

As culturas Bt são importante ferramenta em programas de manejo integrado de pragas (Romeis *et al.*, 2006; Bernadi *et al.*, 2012) e atualmente no Brasil estão disponíveis três biotecnologias de soja Bt (1) Intacta RR2 PRO®; (2) Intacta 2 Xtend® e a tecnologia Conkesta E3®. A primeira tecnologia comercializada de soja Bt foi a Intacta RR2 PRO®

na safra 2013/14. Esta tecnologia contém os eventos MON 89788 x MON 87701-2, que confere as variedades tolerância a herbicidas e resistência a insetos, respectivamente. A resistência a insetos se deve a expressão da proteína inseticidas Cry1Ac. Essa proteína é específica para o controle de lepidópteros e na cultura da soja tem como pragas-alvo *Anticarsia gemmatilis* (Hübner), *Chrysodeixis includens* (Walker), *Chloridea virescens* (Fabricius) e *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) (Bernadi *et al.*, 2012; 2014; Yu *et al.*, 2013).

Vários são os benefícios das plantas Bt, como o controle eficiente das pragas-alvo, redução na aplicação de inseticidas e preservação de inimigos naturais (Resende *et al.*, 2016; Romeis *et al.*, 2019). Entretanto, estes benefícios são em parte questionados por falta de estudos de campo a longo prazo pós-comercialização para avaliar potenciais impactos em organismos não alvo (ex. artrópodes) (Naranjo, 2009; Romeis *et al.*, 2014).

Artrópodes não alvo (NTAs) podem ser expostos as proteínas inseticidas Bt expressas pelas culturas transgênicas via rotas de exposição diretas e indiretas. A exposição direta pode ocorrer pela utilização de recursos vegetais das plantas Bt (ex. consumo de pólen e néctar), enquanto a exposição indireta ocorre pela alimentação/manipulação de pressas/hospedeiros contaminados (Kos *et al.* 2009; Álvarez-Alfageme *et al.* 2019). Ambas as rotas de exposição podem acarrear efeitos letal e subletais nos NTAs. Efeitos subletais são em muitos casos negligenciados, apesar de terem grande impacto na dinâmica populacional e nos serviços ecológicos de organismos benéficos (Desneux *et al.*, 2007). Além de possíveis impactos sobre organismos não alvo, o uso constante de culturas Bt sem o correto manejo pode acarretar resistência das pragas-alvo, refletindo em falha de controle no campo (Omoto *et al.*, 2016).

Diante dos fatos abordados, o objetivo do trabalho foi avaliar os potenciais impactos pós-comercialização da soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac sobre a comunidade de NTAs. Acreditando que o conhecimento dos efeitos da biotecnologia Bt sobre os NTAs permitirá o desenvolvimento de estratégias de manejo de pragas mais eficientes e sustentáveis na cultura da soja.

2. Material e Métodos

2.2. Áreas e procedimento experimental

Para avaliar o potencial impacto da soja Bt na comunidade de NTAs, foram conduzidos ensaios de campo em múltiplos locais e safras. Na safra 2019/20, o ensaio foi conduzido no Centro de Pesquisa Agrícola – CPA em Rio Verde-GO (17°46'55,7"S; 51°00'35,3"O), no período de 25/10/2019 a 26/01/2020. Já na safra 2020/21, o ensaio foi conduzido na estação experimental da empresa Progresso Consultoria Pesquisa em Montividiu-GO (17°22'33,6"S; 51°23'47,2"O), no período de 07/12/2020 a 25/01/2021. Os ensaios foram conduzidos em delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições e dois tratamentos (soja Bt e soja não Bt). No tratamento Bt, foi utilizada a cultivar M 5947 IPRO (Bayer S.A., São Paulo, SP, Brasil) na safra 2019/20 e a cultivar BMX Zeus IPRO (Brasmax, Cambé, PR, Brasil) na safra 2020/21. Ambas cultivares de soja possuem a tecnologia Intacta RR2 PRO® que contém o evento MON 87701-2, que confere resistência a lepidópteros pela expressão da proteína inseticida Bt Cry1Ac. Já no tratamento com soja não Bt, foram utilizadas as cultivares BMX Potência RR (Brasmax, Cambé, PR, Brasil) e BRS 433 RR (Embrapa, Brasília, DF, Brasil), nas safras 2019/20 e 2020/21, respectivamente. Estes cultivares foram selecionados por apresentarem ciclo de desenvolvimento, hábito de crescimento e grupo de maturação semelhantes as cultivares de soja Bt utilizadas. Cada parcela experimental foi constituída por oito linhas de 20 m de soja, com espaçamento de 0,5 m entre linhas e densidade de 18 plantas/m. Todas as parcelas experimentais (soja Bt e não Bt) foram conduzidas de forma semelhantes, seguindo as boas práticas agrícolas recomendadas para a cultura, com exceção a aplicação de inseticidas que não foi realizada.

2.3. Avaliação dos artrópodes não alvo

A comunidade de NTAs associada a cultura da soja foi avaliada pelo método de coleta passiva, utilizando armadilhas Moericke traps (bandeja amarela; 10 cm diâmetro) e Sticky traps (cartelas adesivas amarelas; 5.0 x 10.0 cm) para a coleta dos artrópodes da parte aérea das plantas e Pitfall traps (armadilhas de queda) para coleta dos artrópodes da superfície do solo. Em cada parcela experimental, foram instaladas duas armadilhas de cada tipo na linha central da parcela, de forma equidistantes. As armadilhas Moericke e Sticky foram instaladas na altura do terço superior das plantas com auxílio de haste de madeira. Nas armadilhas Moericke e Pitfall foram adicionadas mistura de água e álcool (50%) como líquido de captura. Algumas gotas de detergente foram adicionadas ao líquido de captura para quebrar a tensão superficial da água e evitar a fuga dos artrópodes

que caíram nas armadilhas. As amostragens dos NTAs foram realizadas nos estádios de crescimento da soja V2/3, V5/6, R2/3, R5/6 e R7/8 (Farias *et al.*, 2007) e as armadilhas permaneceram no campo por 48h. Após este período, as armadilhas Sticky foram acondicionadas individualmente em cases de garrafa Pet. Já nas armadilhas Moericke e Pitfall, o líquido de captura foi filtrado e os insetos retidos na peneira foram acondicionados em potes plásticos com álcool 70%.

2.4. Triagem e identificação dos artrópodes não alvo

Todo material coletado foi levado ao Laboratório de Entomologia do IF Goiano campus Rio Verde para triagem e separação de morfoespécies. Posteriormente, com o uso de chaves taxonômicas e auxílio de microscópio estereoscópio binocular (40x), as morfoespécies foram contabilizadas e identificadas ao nível de ordem taxonômica. Para auxiliar na identificação, as morfoespécies coletadas nas armadilhas Sticky foram fotografadas e as coletadas nas armadilhas Moericke e Pitfall foram acondicionadas em Eppendorfs (tamanho variável) com álcool 70%.

2.5. Análise dos dados

O potencial impacto da tecnologia de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac na comunidade de NTAs foi investigado usando o método *Principal Response Curve* (PRC). Este método estima a diferença na composição das amostras dos grupos tratamento e controle em cada momento da avaliação (Lawrence *et al.*, 2018). Para realização da PRC, a abundância dos NTAs amostrados foi submetida à *Rendundancy Analysis* (RDA) e a significância do primeiro eixo canônico foi testada pelo teste de permutação de Monte-Carlo (999 permutações) (Van den Brink e Ter Braak, 1999). Antes da RDA, a abundância dos NTAs foi transformada para $\log(x+1)$ para reduzir o efeito dos pesos inflacionados das morfoespécies alta abundância. Apenas morfoespécies que apresentaram frequência de coleta $\geq 10\%$ foram incluídas na análise (Marques *et al.*, 2021). O modelo de distribuição de matriz de dados também foi examinado usando a *Detrented Correspondence Analysis* (DCA) para garantir que o método linear RDA fosse apropriado, sendo o comprimento de gradiente $\leq 4,0$ usado como critério de aceitabilidade (Leps e Smilauer, 2003) (Tabela S1). Após a RDA, diagramas de PRC baseados na variação capturada no primeiro eixo da RDA foram construídos para cada método de

amostragem (Moericke, Sticky e Pitfall) e por local/safra (Rio Verde – safra 2019/20 e Montividiu – safra 2020/21). Os pesos das morfoespécies (bk) também foram estimados pela análise. O bk pode ser interpretado como a afinidade da morfoespécie com a curva de resposta principal (Cdt), em que pesos positivos indicam que as abundâncias das morfoespécies seguem a tendência da curva PRC e os pesos negativos seguem tendência oposta (Van den Brink e Ter Braak, 1999). Morfoespécies com pesos entre -0,5 e 0,5 não foram representadas nos gráficos por contribuírem pouco com a resposta da comunidade na PRC (Van den Brink e Ter Braak, 1999). Todas as análises foram realizadas usando o programa CANOCO 4.5 (Ter Braak e Smilauer, 2002), com $\alpha = 0,05$.

3. Resultados

3.1. Caracterização da comunidade de artrópodes não alvo

De forma geral, os maiores números de espécimes e morfoespécies amostrados, em ambos os tratamentos (soja Bt e não Bt) em Rio Verde (safra 2019/20) e Montividiu (safra 2020/21) foram nas armadilhas Sticky. Em Rio Verde, foram coletados nas armadilhas Sticky o total de 12.829 espécimes na soja não Bt e 11.772 na soja Bt, pertencentes a 133 e 94 morfoespécies, respectivamente (Figura 1A). Já em Montividiu, os totais de espécimes coletados pelas armadilhas Sticky foram de 17.682 na soja Bt e 14.428 na soja não Bt (Figura 1B). Nas armadilhas Moericke, os totais de espécimes, morfoespécies e ordens coletados em Montividiu foram maiores que os coletados em Rio Verde, em ambos os tratamentos (soja Bt e não Bt). Resultado contrário, com exceção do número de ordens, foi observado na avaliação dos NTAs coletados nas armadilhas Pitfall (Figuras 1A e 1B).

Na avaliação da composição da comunidade de NTAs, a ordem Diptera foi a que apresentou os maiores números de morfoespécies coletadas pelas armadilhas Moericke e Pitfall, em ambos os tratamentos (soja Bt e não Bt) e locais/safras (Rio Verde – 2019/20 e Montividiu – 2020/21) (Tabela 1). Entretanto, na safra 2019/20 a ordem Thysanoptera foi a que apresentou as maiores porcentagens de espécimes coletados pelas armadilhas Moericke e Pitfall, na soja Bt e não Bt (Tabela 1). Já na safra 2020/21, as maiores porcentagens de espécimes coletados foram das ordens Diptera e Hemiptera nas armadilhas Moericke e Sticky, respectivamente (Tabela 1). No geral, nas armadilhas

Pitfall os maiores números de morfoespécies e espécimes coletados na soja Bt e não Bt foram da ordem Coleoptera, tanto em Rio Verde como em Montividiu (Tabela 1).

3.2. Potencial impacto na comunidade de artrópodes não alvo

Os resultados das RDAs para os NTAs associados ao dossel das plantas de soja coletados por armadilhas Moericke e Sticky indicam que não há diferenças significativas entre as comunidades de NTAs da soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac e da soja não Bt (controle) em Rio Verde – safra 2019/20 (Moericke: $F = 3,22$; $P = 0,268$; Sticky: $F = 1,69$; $P = 0,270$) (Figuras 2A e B) e Montividiu – safra 2020/21 (Moericke: $F = 1,29$; $P = 0,752$; Sticky: $F = 1,43$; $P = 0,566$) (Figuras 3A e B). Na avaliação da comunidade de NTAs da superfície do solo, coletados por armadilhas Pitfall, também não foram observados efeitos significativos da soja Bt em comparação a soja não Bt em nenhum dos locais/safras avaliados (Rio Verde: $F = 1,99$; $P = 0,258$; Montividiu: $F = 1,41$; $P = 0,768$) (Figuras 2C e 3C).

4. Discussão

Os resultados do presente trabalho demonstram que mesmo após oito anos do início dos plantios comerciais no Brasil (safra 2013/14), a soja Bt expressando a proteína inseticida Cry1Ac não causou impactos significativos na composição e na estrutura da comunidade de NTAs associada a cultura. Estes resultados confirmam estudos prévios realizados em laboratório (Rodrigo-Simón *et al.*, 2006; González-Zamora *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2011; Tian *et al.*, 2012; 2014; Su *et al.*, 2015; Ali *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016) e de meta-análises (Marvier *et al.*, 2007; Wolfenbarger *et al.*, 2008) que indicam que proteínas Bt têm pouco ou nenhum efeito sobre NTAs, incluindo proteínas Bt presentes na cultura da soja.

Apesar da importância de estudos do potencial impacto de culturas Bt sobre organismos não alvo para a avaliação de risco ambiental (Naranjo, 2009; Romeis *et al.*, 2014), ainda são poucas as pesquisas com foco na avaliação dos impactos pós-comercialização a nível de comunidade de NTAs, principalmente na cultura da soja no Brasil, por ser uma biotecnologia recente. Estudos em pré-comercialização normalmente são realizados, pois as agências regulatórias de alguns países exigem a realização de estudos de avaliações de risco em campo para liberarem a comercialização das novas

biotecnologias e confirmar os estudos de nível inferior (laboratório) conduzidos em outros países. No Brasil, a agência que regula a liberação de culturas geneticamente modificadas (GM) é a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) que está vinculada ao Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovação e Comunicações (Nepomuceno *et al.* 2020). Entretanto, estudos de pós-comercialização (monitoramento) em campo não são exigências dentro dos regulamentos da avaliação de risco ambiental das culturas GM. Este fato pode limitar a compreensão dos potenciais impactos das culturas GM sobre NTAs, visto que efeitos de fatores de estresse, como culturas Bt, podem levar vários anos para serem expressos a nível de comunidade (Guedes *et al.*, 2016, 2017). Isso provavelmente explicaria o aumento da frequência de lagartas do complexo *Spodoptera* na cultura da soja, pragas não alvo da tecnologia Bt expressando Cry1Ac (Horikoshi *et al.*, 2021). Este aumento na frequência de lagartas do complexo *Spodoptera* na soja pode estar relacionado a efeitos indiretos da tecnologia Bt, como exemplos, redução da competição interespecífica e redução na aplicação de inseticidas. Estes efeitos a longo prazo podem acarretar alterações significativas na comunidade de NTAs.

Resultados de avaliação de risco em pré-comercialização no Brasil de soja Bt expressando Cry1Ac e Cry1F indicam que a tecnologia causa pouco efeito na comunidade de NTAs associada a cultura, comparada a aplicação de inseticida (Marques *et al.*, 2018). Resultados semelhantes foram relatados por Marques *et al.* (2021), que avaliaram o impacto do algodão Bt expressando as proteínas inseticidas Cry1Ac, Cry1F e Vip3Aa19 sobre a comunidade de NTAs. Estes autores concluíram que a comunidade de NTAs não foi afetada pela tecnologia Bt, em ensaios de pré-comercialização.

No Brasil, o presente estudo é o primeiro com o objetivo de avaliar os potenciais impactos pós-comercialização da soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac sobre a comunidade de NTAs em múltiplos locais e safras. É importante ressaltar também que os ensaios de campo foram conduzidos no período de plantio comercial da soja na região do sudoeste goiano, que é uma das principais regiões produtoras de soja do país. Isso garante avaliações realísticas do sistema de cultivo e das abundâncias das populações que compõem a comunidade de NTAs associada a cultura (Romeis *et al.* 2008). Estudos com tecnologias Bt de milho expressando as proteínas inseticidas Cry1A.105, Cry2AB2 e Cry3B (Zuim *et al.*, 2021) e algodão expressando Cry1Ac e Cry2Ab (Luz *et al.*, 2022), também concluíram não haver impactos significativos das tecnologias Bt sobre a comunidade e a teia alimentar dos NTAs associados as culturas em avaliações pós-comercialização.

Estes resultados estão em acordo com meta-análises publicadas recentemente, que avaliaram mais de vinte anos de bioensaios de laboratório e ensaios de campo e concluíram que culturas Bt, especialmente o milho, têm pouco ou nenhum efeito sobre NTAs. Além disso, os efeitos negativos das culturas Bt sobre NTAs, quando presentes, são em sua maioria relacionados a efeitos indiretos. Isso porque muitas das pragas-alvo das tecnologias Bt são presas/hospedeiros de inimigos naturais. Assim, a redução no número de pragas impacta indiretamente a comunidade de inimigos naturais (Pellegrino *et al.*, 2018; Meissle *et al.*, 2022). Artrópodes inimigos naturais estão entre os principais grupos de organismos que podem sofrer efeitos não alvo de plantas Bt, as quais podem reduzir o potencial desses agentes de controle biológico na regulação de populações de artrópodes praga (Naranjo, 2009; Desneux *et al.*, 2007).

5. Conclusões

Diante dos resultados obtido e nas condições que trabalho foi conduzido, conclui-se que a soja Bt expressando a proteína inseticida Cry1Ac não causa impactos significativos nas comunidades de artrópodes não-alvo associados a cultura. Entretanto, ressalta-se a importância do estabelecimento de protocolos de monitoramento constante dos potenciais efeitos das tecnologias Bt sobre NTAs.

6. Agradecimentos

Agradeço a Fundação CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Ministério da Educação do Brasil), ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a FAPEG – Fundação de Ampara à Pesquisa do Estado de Goiás, pelo apoio financeiro. A Dra. Valéria Moscardini (Corteva Agriscience), pela disponibilização das áreas de estudo. Agradeço também os colegas do Laboratório de Entomologia – IF Goiano – Rio Verde, pela ajuda na condução das avaliações e os revisores do trabalho pelas críticas e sugestões.

7. Referências

ALI, I.; ZHANG, S.; CUI, J.J. Bio-safety evaluation of Cry1Ac, Cry2Ab, Cry1Ca, Cry1F and Vip3Aa on *Harmonia axyridis* larvae. **Journal of Applied Entomology**, v.141, p.53-60, 2016.

- ÁLVAREZ-ALFAGEME, F.; DEVOS, Y.; MUÑOZ-GUAJARDO, I.; LI, Y.; ROMEIS, J.; MEISSE, M. Are ladybird beetles (Coleoptera: Coccinellidae) affected by Bt proteins expressed in genetically modified insect-resistant crops? A systematic review protocol. *Environmental Evidence*, v.8, p.25, 2019
- BERNARDI, O.; DOURADO, P.M.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; BERGER, G.U.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. High levels of biological activity of Cry1Ac protein expressed on MON 87701 × MON 89788 soybean against *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*, v.70, p.588-594, 2014.
- BERNARDI, O.; MALVESTITI, G.S.; DOURADO, P.M.; OLIVEIRA, W.S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G.U.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pest Management Science*, v.68, p.1083-1091, 2012.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.M. The sublethal effects of pesticides on beneficial organisms. *Annual Review of Entomology*, v.52, p.81-106, 2007.
- FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO, A.L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da Soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 9p.
- GONZÁLEZ-ZAMORA, J.E.; CAMÚÑEZ, S.; AVILLA, C. Effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins on developmental and reproductive characteristics of the predator *Orius albidipennis* (Hemiptera: Anthocoridae) under laboratory conditions. *Environmental Entomology*, v.36, p.1246-1253, 2007.
- GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G.; DESNEUX, N. Pesticide-induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. *Annual Review of Entomology*, v.61, p.1-20, 2016.
- GUEDES, R.N.C.; WALSE, S.S.; THRONE, J.E. Sublethal exposure, insecticide resistance and community stress. *Current Opinion in Insect Science*, v.21, p.47-53, 2017.
- HORIKOSHI, R.J.; DOURADO, P.M.; BERGER, G.U.; FERNANDES, D.S.; OMOTO, C.; WILSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; CORRÊA, A.S. Large-scale assessment of lepidopteran soybean pests and efficacy of Cry1Ac soybean in Brazil. *Scientific Reports*, v.11, p.15956, 2021
- INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY APPLICATIONS (ISAAA). **Global status of commercialized biotech/GM crops: 2017**. Disponível em: <http://www.isaaa.org> >Acessado em: 20 jun. 2021.
- KOS, M.; VAN LOON, J.J.A.; DICKE, M.; VET, L.E.M. Transgenic plants as vital components of integrated pest management. *Trends in Biotechnology*, v.27, p.621-627, 2009
- LAWRENCE, A.; BROWN, K.; FRAMPTON, G.; VAN DEN BRINK, P.J. **Guidance for experimental design and statistical analysis of ecotoxicological community effect studies (field studies)**. Report to UK Chemicals Regulation Directorate (CRD), 2018, 93p.

- LEPS, J.; SMILAUER, P. **Multivariate analysis of ecological data using CANOCO**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003.
- LI, Y.; ROMEIS, J.; WANG, P.; PENG, Y.; SHELTON, A.M. A comprehensive assessment of the effects of Bt cotton on *Coleomegilla maculata* demonstrates no detrimental effects by Cry1Ac and Cry2Ab. **Plos One**, v.6, e22185, 2011.
- LUZ, C.E.A.; ZUIM, V.; OLIVEIRA, A.A.S.; SANTOS, P.D.; CAMPOS, K.L.; HARO, M.M.; VIVAN, L.M.; BASTOS, C.S.; GUEDES, R.N.C. Arthropod food webs associated with cotton: Does Bt cotton mediate community stress? **Journal of Applied Entomology**, v.146, p.56-66, 2022
- MARQUES, L.H.; LEPPING, M.; CASTRO, B.A.; SANTOS, A.C.; ROSSETTO, J.; NUNES, M.Z.; SILVA, O.A.B.N.; MOSCARDINI, V.F.; SÁ, V.G.M.; NOWATZKI, T.; DAHMER, M.L.; GONTIJO, P.C. Field efficacy of Bt cotton containing events DAS-21023-5 × DAS-24236-5 × SYN-IR102-7 against lepidopteran pests and impact on the non-target arthropod community in Brazil. **Plos One**, v.16, e0251134, 2021.
- MARQUES, L.H.; SANTOS, A.C.; CASTRO, B.A.; STORER, N.P.; BABCOCK, J.M.; LEPPING, M.D.; SÁ, V.; MOSCARDINI, V.F.; RULE, D.M.; FERNANDES, O.A. Impact of transgenic soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins on the non-target arthropod community associated with soybean in Brazil. **Plos One**, v.13, e0191567, 2018.
- MARVIER, M.; MCCREEDY, C.; REGETZ, J.; KAREIVA, P. A Meta-Analysis of Effects of Bt Cotton and Maize on Nontarget Invertebrates. **Science**, v.316, p.1475-1477, 2007.
- MEISSLE, M.; NARANJO, S.E.; ROMEIS, J. Does the growing of Bt maize change abundance or ecological function of non-target animals compared to the growing of non-GM maize? A systematic review. **Environmental Evidence**, v.11, p.21, 2021
- NARANJO, S.E. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. **CAB Reviews**, v.4, p.1-23, 2009.
- NEPOMUCENO, A.L.; FUGANTI-PAGLIARINI, R.; FELIPE, M.S.S. et al. Brazilian biosafety law and the new breeding technologies. **Frontiers of Agricultural Science and Engineering**, v.7, p.204-210, 2020
- OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R.J.; DOURADO, P.M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R.A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v.72, p.1727-36, 2016.
- PELLEGRINO, E.; BEDINI, S.; NUTI, M. et al. Impact of genetically engineered maize on agronomic, environmental and toxicological traits: a meta-analysis of 21 years of field data. **Scientific Reports**, v.8, p.3113, 2018
- RESENDE, D.C.; MENDES, S.M.; MARUCCI, R.C.; SILVA, A.C.; CAMPANHA, M.M.; WAQUIL, J.M. Does Bt maize cultivation affect the non-target insect

- community in the agroecosystem? **Revista Brasileira de Entomologia**, v.60, p.82-93, 2016.
- RODRIGO-SIMÓN, A.; MAAGD, R.A.; AVILLA, C.; BAKKER, P.L.; MOLTHOFF, J.; GONZÁLEZ-ZAMORA, J.E.; FERRÉ, J. Lack of detrimental effects of *Bacillus thuringiensis* Cry Toxins on the insect predator *Chrysoperla carnea*: a toxicological, histopathological, and biochemical analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, p.1595-1603, 2006.
- ROMEIS, J.; BARTSCH, D.; BIGLER, F.; CANDOLFI, M.P.; GIELKENS, M.M.C.; HARTLEY, S.E. et al. Assessment of risk of insect resistant transgenic crops to non-target arthropods. **Nature Biotechnology**, v.26, p.203-208, 2008.
- ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; ALVAREZ-ALFAGEME, F.; BIGLER, F.; BOHAN, D.A.; DEVOS, Y. et al. Potential use of an arthropod database to support the non-target risk assessment and monitoring of transgenic plants. **Transgenic Research**, v.23, p.995-1013, 2014.
- ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, v.24, p.63-71, 2006.
- ROMEIS, J.; STEVEN E. NARANJO, S.E.; ANTHONY, M.M.; SHELTON, M. Genetically engineered crops help support conservation biological control. **Biological Control**, v.130, p.136-154, 2019.
- SU, H.H.; TIAN, J.; NARNAJO, S.E.; ROMEIS, J.; HELLMICH, R.L. SHELTON AM. *Bacillus thuringiensis* plants expressing Cry1Ac, Cry2Ab and Cry1F do not harm the assassin bug, *Zelus renardii*. **Journal of Applied Entomology**, v.139, p.23-30, 2015.
- TER BRAAK, C.J.F.; SMILAUER, P. **Canoco reference manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5)**. New York: Microcomputer Power, 2002.
- TIAN, J.; COLLINS, H.L.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; SHELTON, A.M. Using field-evolved resistance to Cry1F maize in a lepidopteran pest to demonstrate no adverse effects of Cry1F on one of its major predators. **Transgenic Research**, v.21, p.1303-10, 2012.
- TIAN, J.; LONG, L.P.; WANG, X.P.; NARANJO, S.E.; ROMEIS, J.; HELLMICH, R.; WANG, P.; SHELTON, A.M. Using resistant prey demonstrates that Bt plants producing Cry1Ac, Cry2Ab and Cry1F have no negative effects on *Geocoris punctipes* and *Orius insidiosus*. **Environmental Entomology**, v.43, p.242-251, 2014.
- VAN DEN BRINK, P.J.; TER BRAAK, C.J.F. Principal response curves: analysis of time-dependent multivariate responses of a biological community to stress. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.18, p.138-148, 1999.
- WANG, Z.X.; LI, Y.H.; HE, K.L.; BAI, S.X.; ZHANG, T.T.; CAI, W.Z.; WANG, Z.Y. Does Bt maize expressing Cry1Ac protein have adverse effects on the parasitoid

Macrocentrus cingulum (Hymenoptera: Braconidae)? **Insect Science**, v.24, p.599-612, 2016.

WOLFENBARGER, L.L.; NARANJO, S.E.; LUNDGREN, J.G.; BITZER, R.J.; WATRUD, L.S. Bt crop effects on functional guilds of non-target arthropods: a meta-analysis. **Plos One**, v.3, e2118, 2018.

YU, H.; LI, Y.; LI, X.; ROMEIS, J.; WU, K. Expression of Cry1Ac in transgenic Bt soybean lines and their efficiency in controlling lepidopteran pests. **Pest Management Science**, v.69, p.1326-1333, 2013.

ZUIM, V.; MARQUES, V.M.; GODOI, C.T.D.; GONTIJO, L.M.; HARO, M.M.; GUEDES, R.N.C. Does refuge spillover affect arthropod food webs associated with Bt maize? **Pest Management Science**, v.77, p.3088-3098, 2021

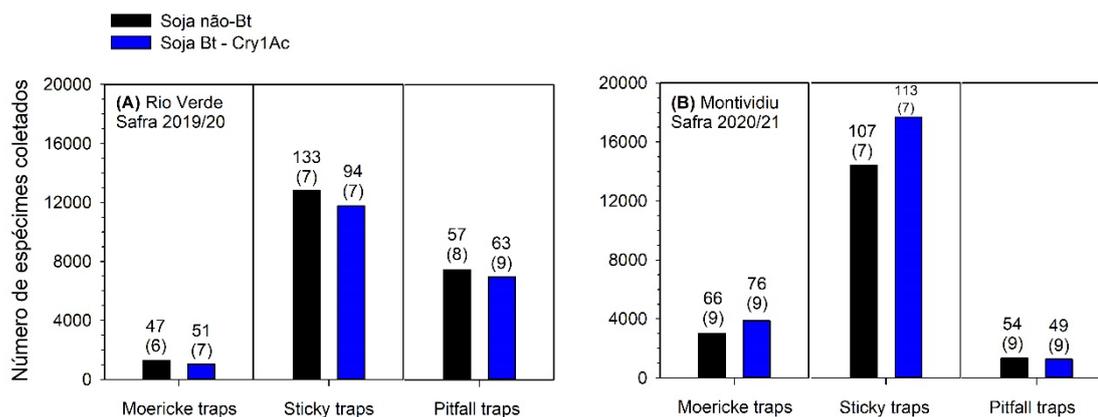


Figura 1. Total de artrópodes não alvo coletados por armadilhas Moericke, Sticky e Pitfall traps em tecnologias de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac e soja não Bt em Rio Verde (safra 2019/20) e Montividiu (safra 2020/21), Goiás, Brasil. Valores sobre as barras representam o número de morfoespécies coletadas e entre parentes o número de ordens das morfoespécies coletadas.

Tabela 1. Número de morfoespécies e porcentagem de espécimes, entre parentes, por ordem de artrópodes não alvo coletadas por armadilhas Moericke, Sticky e Pitfall traps em tecnologias de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac e soja não Bt em Rio Verde (safra 2019/20) e Montividiu (safra 2020/21), Goiás, Brasil.

Artrópodes Ordens	Métodos de amostragem (armadilhas)					
	Moericke		Sticky		Pitfall	
	Soja não Bt	Soja Bt – Cry1Ac	Soja não Bt	Soja Bt – Cry1Ac	Soja não Bt	Soja Bt – Cry1Ac
Rio Verde - Safra 2019/20						
Coleoptera	8 (15,49)	8 (21,93)	29 (3,09)	21 (3,42)	20 (87,83)	21 (72,06)
Collembola	-	-	-	-	-	1 (15,22)
Dermaptera	-	-	1 (0,01)	2 (0,02)	2 (0,67)	4 (1,08)
Diptera	22 (12,91)	23 (15,89)	51 (20,45)	22 (19,33)	11 (0,50)	14 (0,44)
Hemiptera	2 (0,16)	4 (0,58)	12 (6,32)	13 (5,33)	3 (0,20)	3 (0,16)
Hymenoptera	11 (2,97)	10 (3,22)	38 (1,22)	31 (1,40)	15 (10,03)	13 (10,18)
Lepidoptera*	2 (0,63)	3 (0,58)	-	4 (0,05)	2 (0,04)	2 (0,04)
Orthoptera	-	1 (0,97)	1 (0,05)	-	3 (0,70)	4 (0,77)
Thysanoptera	2 (67,84)	2 (56,73)	1 (68,86)	1 (70,55)	1 (0,04)	1 (0,04)
Montividiu - Safra 2020/21						
Coleoptera	22 (9,93)	19 (8,75)	21 (1,02)	23 (0,93)	22 (52,40)	21 (54,62)
Collembola	-	-	-	-	-	1 (0,87)
Dermaptera	1 (0,07)	1 (0,05)	-	-	3 (2,77)	3 (1,19)
Diptera	23 (67,44)	27 (75,67)	48 (17,76)	48 (16,90)	7 (3,75)	4 (1,26)
Hemiptera	5 (0,86)	4 (0,98)	15 (58,47)	13 (60,11)	1 (0,37)	-
Hymenoptera	8 (1,58)	15 (0,88)	19 (1,11)	24 (1,23)	14 (37,86)	11 (37,63)
Isoptera	1 (0,07)	1 (0,05)	-	-	1 (0,07)	1 (0,24)
Lepidoptera*	4 (1,32)	7 (0,59)	2 (0,01)	2 (0,01)	1 (0,07)	3 (0,40)
Orthoptera	1 (0,03)	1 (0,03)	1 (0,01)	2 (0,01)	4 (2,02)	4 (2,85)
Thysanoptera	1 (18,71)	1 (13,0)	1 (21,62)	1 (20,80)	1 (0,67)	1 (0,95)

*Adultos.

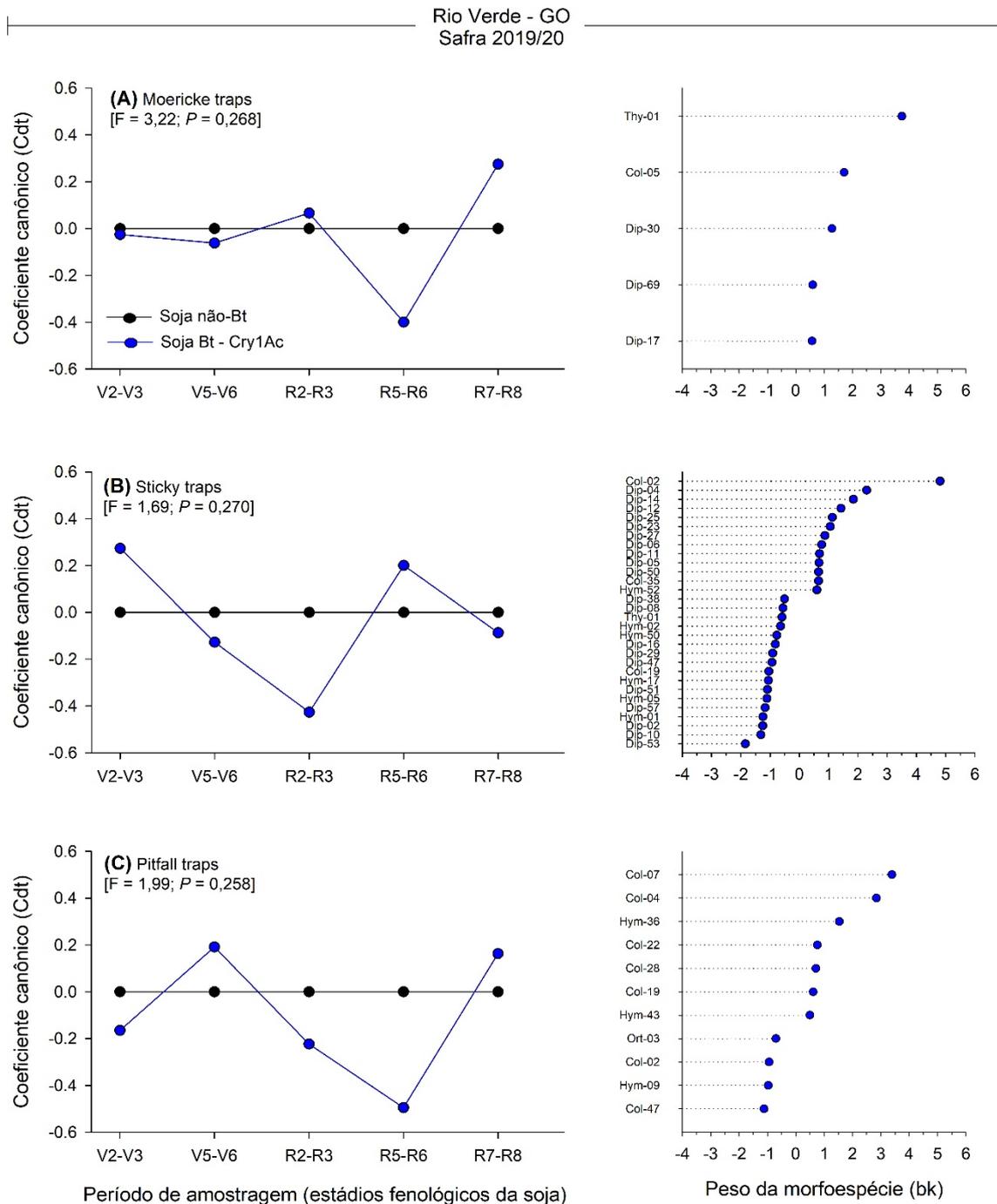


Figura 2. Curvas de resposta principal (PRCs) e pesos das morfoespécies (bk) de artrópodes não alvo coletados por (A) Moericke, (B) Sticky e (C) Pitfall traps em tecnologias de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac, comparadas com soja não Bt em Rio Verde, Goiás, Brasil, safra 2019/20. Morfoespécies com pesos entre -0,5 e 0,5 não foram representadas nos gráficos por contribuírem pouco com a resposta da comunidade na PRC (Van den Brink e Ter Braak, 1999). Os estádios fenológicos da soja foram avaliados de acordo com Farias *et al.* (2007).

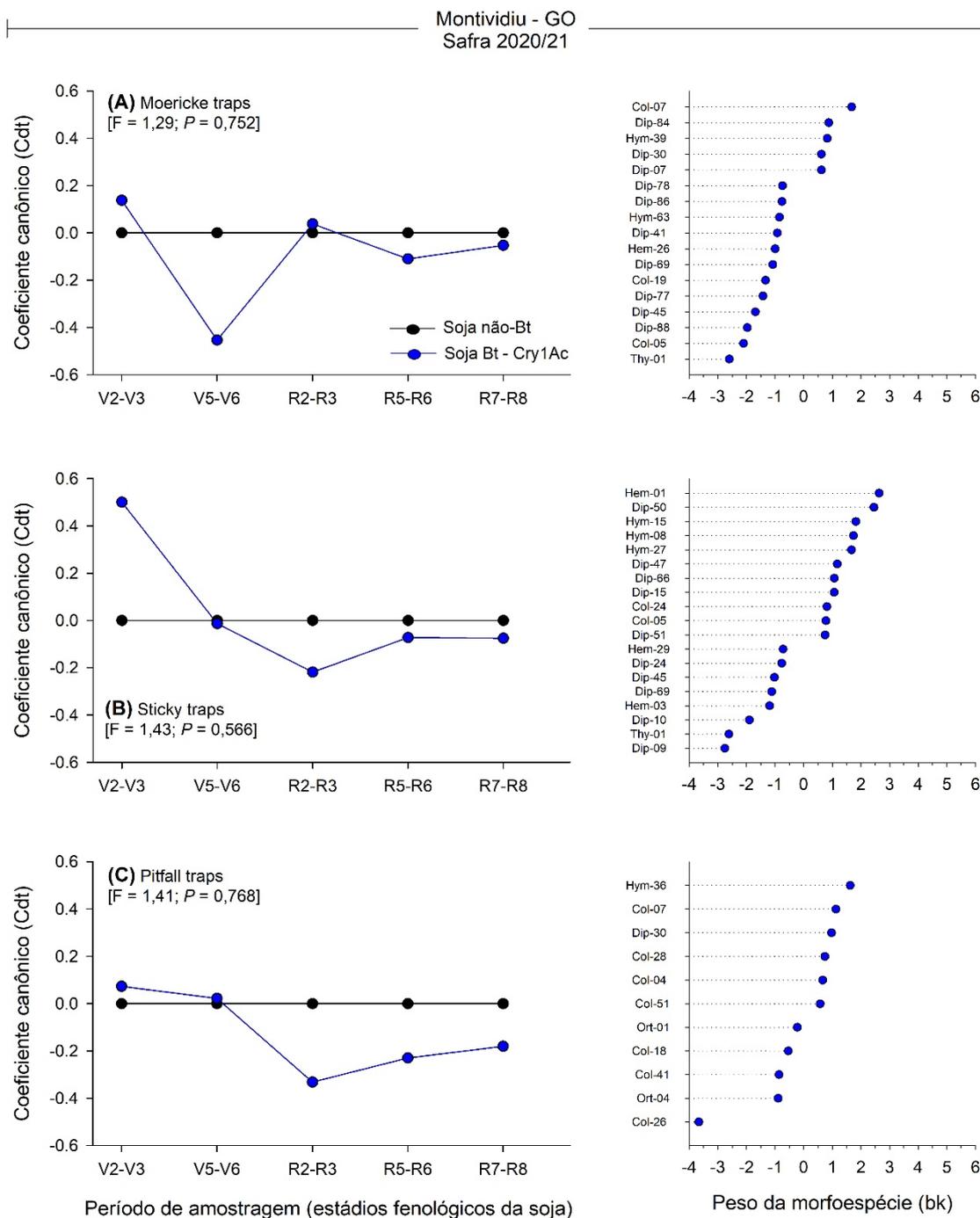


Figura 3. Curvas de resposta principal (PRCs) e pesos das morfoespécies (bk) de artrópodes não alvo coletados por (A) Moericke, (B) Sticky e (C) Pitfall traps em tecnologias de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac, comparadas com soja não Bt em Montividiu, Goiás, Brasil, safra 2020/21. Morfoespécies com pesos entre -0,5 e 0,5 não foram representadas nos gráficos por contribuírem pouco com a resposta da comunidade na PRC (Van den Brink e Ter Braak, 1999). Os estádios fenológicos da soja foram avaliados de acordo com Farias *et al.* (2007).

Tabela S1. Comprimentos dos gradientes da *Detrended Correspondence Analysis* (DCA) dos artrópodes não alvo mais representativos (frequência de coleta $\geq 10,0$) coletados em tecnologia de soja Bt expressando proteína inseticida Cry1Ac e em soja não Bt em Rio Verde (safra 2019/20) e Montividiu (safra 2020/21), Goiás, Brasil.

Método de amostragem	Local (safra)	
	Rio Verde (2019/20)	Montividiu (2020/21)
Moericke traps	4,0	2,2
Sticky traps	1,8	1,7
Pitfall traps	1,9	4,0

Comprimento de gradiente $\leq 4,0$ indica que os dados seguem modelo de distribuição linear, pressuposto da análise de redundância (Leps e Smilauer, 2003).