

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**METODOLOGIA DE PESQUISA E RESISTÊNCIA  
CONSTITUTIVA DE GENÓTIPOS DE ALGODÃO A  
*Spodoptera cosmioides* (WALKER) E *Chloridea virescens*  
(FABRICIUS) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**Carlos Alessandro de Freitas**  
Engenheiro Agrônomo

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**METODOLOGIA DE PESQUISA E RESISTÊNCIA  
CONSTITUTIVA DE GENÓTIPOS DE ALGODÃO A  
*Spodoptera cosmioides* (WALKER) E *Chloridea virescens*  
(FABRICIUS) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**Carlos Alessandro de Freitas**

**Orientador: Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola).

F866m	<p>Freitas, Carlos Alessandro de</p> <p>Metodologia de Pesquisa e resistência constitutiva de genótipos de algodão a <i>Spodoptera cosmioides</i> (Walker) e <i>Chloridea virescens</i> (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) / Carlos Alessandro de Freitas. -- Jaboticabal, 2019</p> <p>85 p. : il., tabs.</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientador: Arlindo Leal Boiça Júnior</p> <p>1. Antibiose. 2. Antixenose. 3. Lagarta-da-maçã-do-algodoeiro. 4. Lagarta-preta. 5. Resistência de plantas a insetos. I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

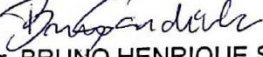
TÍTULO DA TESE: METODOLOGIA DE PESQUISA E RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA DE GENÓTIPOS DE ALGODÃO A *Spodoptera cosmioides* (WALKER) E *Chloridea virescens* (FABRICIUS) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)


AUTOR: CARLOS ALESSANDRO DE FREITAS


ORIENTADOR: ARLINDO LEAL BOIÇA JUNIOR

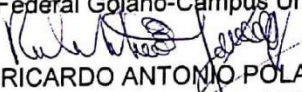
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOIÇA JUNIOR  
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Prof. Dr. BRUNO HENRIQUE SARDINHA DE SOUZA  
Departamento de Entomologia-UFLA / Lavras/SP

  
Prof. Dr. RAPHAEL DE CAMPOS CASTILHO  
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Prof. Dr. FLÁVIO GONÇALVES DE JESUS  
Instituto Federal Goiano-Campus Urutaí / Urutaí/GO

  
Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK  
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 18 de novembro de 2019

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**CARLOS ALESSANDRO DE FREITAS** – Natural de Pires do Rio, GO, nascido em 08 de outubro de 1993, filho de Vasco Luis de Freitas e Maria Luzia da Silva. Engenheiro Agrônomo graduado pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Urutaí, GO, no ano de 2015. Durante a graduação foi bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/IF Goiano) e do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (PIBITI/CNPq) desenvolvendo atividades nas áreas de Fruticultura e Nutrição de Plantas, sob orientação do Prof. Dr. Gilson Dourado da Silva e da Prof<sup>a</sup>. Dr. Carmen Rosa da Silva Curvêlo. Em março de 2016, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia (Entomologia Agrícola), porém em agosto de 2017 realizou a progressão para o curso de Doutorado Direto, pela Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, SP, atuando com pesquisas em Resistência de Plantas a Insetos, sob a orientação do Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior e sendo bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

E-mail: carloscaf77@gmail.com

“O acaso só favorece a mente preparada.”

Louis Pasteur

**DEDICO...**

À minha mãe **Maria Luzia da Silva**, pela dedicação e esforço para a educação dos filhos.

**OFEREÇO...**

A todos os professores que contribuíram para minha formação.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me acompanhar nessa caminhada, abençoando meus pensamentos e decisões.

A todos os professores, que transmitiram seus conhecimentos e auxiliaram diretamente na minha formação profissional e pessoal.

A Universidade Estadual Paulista e a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jaboticabal pela infraestrutura para realização deste trabalho e pela oportunidade de realização do curso de Pós-Graduação de qualidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela oportunidade de crescimento pessoal, profissional e realização do curso de Doutorado Direto. Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela dedicação e preocupação em transmitir conhecimento de qualidade para formação de profissionais críticos, éticos e comprometido com o desenvolvimento da sociedade.

Em especial, a minha mãe Maria Luzia da Silva por sempre ter acompanhado meus passos com dedicação, esforço e coragem mesmo diante de dificuldades. A minha família pelo carinho e ao meu pai, Vasco Luis de Freitas, pelo apoio.

A minha amada, Camila Gracyelle de Carvalho Lemes, pelo amor, carinho, paciência e por acreditar nos meus sonhos. Desde que iniciamos essa caminhada sempre esteve ao meu lado, com palavras de incentivo e zelando com carinho e amor do nosso futuro.

Ao Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior, pela confiança e amizade, pelos ensinamentos transmitidos, conselhos e apoio que foram fundamentais para meu desenvolvimento durante o Doutorado.

Aos Professores Dr. Raphael de Campos Castilho e Dr. Daniel Junior de Andrade pela participação e colaboração no Exame Geral de Qualificação.

Aos amigos e parceiros de trabalho Me. Marcelo Mueller de Freitas, Dr. Wellington Ivo Eduardo e Dr. Zulene Antônio Ribeiro pela paciência, companheirismo, por compartilhar seus conhecimentos, opiniões e auxílio sempre que solicitado.

Aos colegas do Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos que tive oportunidade de conhecer e discutir assuntos relacionados a Entomologia e



Resistência de Plantas a Insetos: Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza, Dr. Eduardo Neves Costa, Eng. Agr<sup>a</sup>. Franciele Cristina da Silva, Me. Lucas Adjuto Ulhoa, Luciano Nogueira, Dra. Mirella Marconato Di Bello, Me. Paulo Henrique Soares Barcelos, Dr. Renato Franco de Oliveira Moraes, Ma. Sandy Sousa Fonseca, Ma. Stéfane Carolina Quista da Silva Faria e Ma. Thaise Mylena Pascutti.

Aos Dr. Flávio Gonçalves de Jesus, Dr. Jacob Crosariol Netto, Dr. José Ednilson Miranda pela disponibilização das sementes utilizadas nesse trabalho. Ao professor Dr. Helder Louvandini e a Técnica de Laboratório Marina Regina Santos Rodeiro Peçanha pelo auxílio na realização da análise dos constituintes bromatológicos.

Aos colegas e amigos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pelo convívio e participação junto às disciplinas e cursos realizados.

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

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

**Muito obrigado!**

## SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. Introdução.....	1
2. Cultura do algodoeiro .....	3
3. <i>Chloridea virescens</i> .....	5
4. <i>Spodoptera cosmioides</i> .....	6
5. Resistência de algodoeiro a insetos-praga.....	7
6. Fatores que influenciam a expressão de resistência de plantas a insetos .....	9
7. Referências .....	11
CAPÍTULO 2 - Fatores que influenciam a expressão de antixenose em algodoeiro a <i>Spodoptera cosmioides</i> e <i>Chloridea virescens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) .....	20
1. Introdução.....	22
2. Material e métodos .....	23
2.1. Insetos e plantas.....	23
2.2. Condições experimentais.....	24
2.3. Experimento I: Densidade larval .....	25
2.4. Experimento II: Estrutura vegetal.....	26
2.5. Experimento III: Idade da planta .....	26
2.6. Análise dos dados.....	27
3. Resultados.....	27
3.1. Experimento I: Densidade larval .....	27
3.2. Experimento II: Estrutura vegetal.....	29
3.3. Experimento III: Idade da planta .....	31
4. Discussão .....	32
5. Referências .....	37
CAPÍTULO 3 – Resistência constitutiva de cultivares de algodão a <i>Spodoptera cosmioides</i> (Lepidoptera: Noctuidae) .....	42
1. Introdução.....	44
2. Material e métodos .....	45
2.1. Insetos e plantas.....	46
2.2. Atratividade e preferência alimentar .....	47
2.3. Desenvolvimento biológico .....	48

2.4. Índices nutricionais .....	48
2.5. Análises dos dados .....	49
3. Resultados.....	50
3.1. Atratividade e preferência alimentar .....	50
3.2. Desenvolvimento biológico .....	51
3.3. Índice nutricionais .....	52
4. Discussão .....	53
5. Referências .....	57
CAPÍTULO 4 - Os conteúdos de proteína bruta e taninos totais interferem na resistência constitutiva de cultivares de algodão a <i>Chloridea virescens</i> (Lepidoptera: Noctuidae) .....	63
1. Introdução.....	65
2. Material e métodos .....	67
2.1. Insetos .....	67
2.2. Plantas.....	68
2.3. Testes com e sem chance de escolha .....	68
2.4. Índices nutricionais .....	69
2.5. Análise bromatológica.....	70
2.6. Análise dos dados.....	71
3. Resultados.....	71
3.1. Testes com e sem chance de escolha .....	71
3.2. Índices nutricionais .....	73
3.3. Análise bromatológica.....	74
4. Discussão .....	75
5. Referências .....	78
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84

## METODOLOGIA DE PESQUISA E RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA DE GENÓTIPOS DE ALGODÃO A *Spodoptera cosmioides* (WALKER) E *Chloridea virescens* (FABRICIUS) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

**RESUMO** - A resistência de plantas a insetos pode trazer contribuições significativas para o manejo de *Chloridea virescens* (Fabricius) e *Spodoptera cosmioides* (Walker) em algodão. Porém, ainda há poucas informações de genótipos comerciais resistentes a essas pragas e para selecioná-los é preciso, primeiramente, estabelecer uma metodologia de pesquisa confiável, melhor diferenciar para materiais resistentes e suscetíveis. Assim, neste trabalho foram avaliados potenciais fatores capazes de interferir na expressão de resistência de algodoeiro a *S. cosmioides* e *C. virescens* e, posteriormente, foi avaliada a influência de diferentes genótipos de algodoeiro sobre o comportamento de alimentação e desenvolvimento biológico de ambas as espécies para selecionar genótipos resistentes. Foi avaliada a influência dos fatores densidade larval, estrutura vegetal e idade da planta, utilizando as cultivares DeltaOpal e FMT 701. Para *S. cosmioides*, o uso de duas lagartas de 3º instar por disco foliar oriundos da parte mediana de plantas de algodoeiro em estágio de florescimento e para *C. virescens* uma lagarta de 3º instar por disco foliar de folhas da parte superior de plantas em estágio de botão floral permitiram melhor discriminação entre as cultivares quanto seus níveis de resistência. Com base nesses resultados, foi avaliada a influência de genótipos comerciais de algodão sobre o comportamento de alimentação e desenvolvimento de ambas as espécies-praga. Em relação a *S. cosmioides*, foram avaliados as cultivares BRS 286, BRS 293, BRS 335, BRS 336, BRS 368 RF, BRS 372, DeltaOpal, FMT 701, FMT 707, FMT 709, FM 910 e FM 993. Menor consumo foliar e maiores efeitos negativos no desenvolvimento foram verificados nas cultivares BRS 293, BRS 335 e FMT 707, considerados resistentes. A maior área foliar consumida foi observada em DeltaOpal; no entanto, as lagartas alimentadas nesse genótipo tiveram reduzida viabilidade e baixo índice de adaptação, possivelmente devido a impropriedades nutricionais. Para *C. virescens* foram avaliados as cultivares DeltaOpal, FMT 701, FM 910, FM 993, BRS 336 e FMT 707, e visando identificar os mecanismos envolvidos na expressão de resistência foi realizada avaliação dos constituintes bromatológicos das folhas desses genótipos. As lagartas alimentadas em FMT 707, FM 993 e BRS 335 apresentaram menor taxa de consumo relativo (RCR) e eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI), devido à menor concentração de proteína bruta e maiores níveis de taninos totais. A cultivar FMT 701 interferiu negativamente no comportamento de alimentação e no crescimento por apresentar alguma característica de repelência e/ou deterrência alimentar; enquanto DeltaOpal e FM 910 foram considerados suscetíveis a *C. virescens*. Assim, as metodologias de pesquisa propostas se mostraram eficientes para estudos de resistência de algodoeiro a *S. cosmioides* e *C. virescens*, possibilitando a seleção da cultivar FMT 707 com moderada resistência a ambas as espécies.

**Palavras-chave:** antibiose, antixenose, lagarta-da-maçã-do-algodoeiro, lagarta-preta, resistência de plantas a insetos

## RESEARCH METHODOLOGY AND CONSTITUTIVE RESISTANCE OF COTTON GENOTYPES TO *Spodoptera cosmioides* (WALKER) AND *Chloridea virescens* (FABRICIUS) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

**ABSTRACT** – Host plant resistance can contribute significantly to the management of *Chloridea virescens* (Fabricius) and *Spodoptera cosmioides* (Walker) in cotton. However, there is still little information on commercial genotypes resistant to these pests and to select them we must first establish a reliable research methodology to better distinguish between resistant and susceptible materials. In this work, we evaluated potential factors capable of interfering in the expression of resistance of cotton to *S. cosmioides* and *C. virescens* and, subsequently, the influence of different cotton cultivars on the feeding behavior and biological development of both species was evaluated, aiming select resistant cultivars. The influence of larval density, plant structure and plant phenological stages was evaluated using the DeltaOpal and FMT 701 cultivars. The use of two 3<sup>rd</sup> instar of *S. cosmioides* larvae per leaf disc from the middle leaves of first open flower stage and one 3<sup>rd</sup> instar larva of *C. virescens* per leaf disc from the upper leaves of plants at first visible floral bud stage allowed better discrimination between genotypes as to their resistance levels. Based on these results, we evaluated the influence of commercial cotton cultivars on the feeding and developmental behavior of both pest species. For *S. cosmioides* were evaluated the genotypes BRS 286, BRS 293, BRS 335, BRS 336, BRS 368 RF, BRS 372, DeltaOpal, FMT 701, FMT 707, FMT 709, FM 910 and FM 993. BRS 293, BRS 335 and FMT 707 cultivars were considered resistant because they had lower leaf area consumed (LAC) and promoted negative developmental effects. The highest LAC was observed in DeltaOpal, however, the larvae fed on this genotype had reduced viability and low fitness index, possibly due to nutritional improprieties. For *C. virescens*, the DeltaOpal, FMT 701, FM 910, FM 993, BRS 336 and FMT 707 cultivars were evaluated. In order to identify the mechanisms involved in the expression of resistance, the bromatological constituents of the leaves of these cultivars were evaluated. Larvae fed on FMT 707, FM 993 and BRS 335 showed lower relative consumption rate (RCR) and efficiency of conversion of ingested food (ECI) due to lower crude protein concentration and higher total tannin levels. FMT 701 genotype interfered negatively with feeding behavior and growth due to some characteristics of food deterrence. While DeltaOpal and FM 910 were considered susceptible to *C. virescens*. Thus, the proposed research methodology was efficient for studies of cotton resistance to *S. cosmioides* and *C. virescens*, allowing the selection of cultivars FMT 707 with moderate resistance to both species.

**Keywords:** antibiosis, antixenosis, tobacco budworm, black armyworm, research methodology

## **CAPÍTULO 1 – Considerações gerais**

### **1. Introdução**

A resistência de plantas a insetos é um importante método de controle inserido no manejo integrado de pragas (MIP), uma vez que pode manter a densidade do herbívoro abaixo do nível de dano econômico, causa pouco ou nenhum efeito negativo ao agroecossistema, reduz a utilização de inseticidas, apresenta efeito contínuo e persistente, além de ser facilmente associado com outros métodos de controle (Sharma e Ortiz, 2002; Smith, 2005; Mitchell et al., 2016; Boiça Júnior et al., 2017). A resistência de plantas possui caráter genético e pode ser dividida em constitutiva, expressa independentemente do histórico anterior e está permanentemente presente como característica da planta, e induzida, expressa mediante um estresse sofrido pela planta (Stout, 2013; Mitchell et al., 2016; Boiça Júnior et al., 2019).

A expressão de resistência está relacionada a mecanismos físicos, morfológicos e/ou químicos, que podem influenciar na alimentação, oviposição e abrigo (antixenose) e/ou no desenvolvimento (antibiose) do inseto. As plantas também podem suportar a incidência do inseto-praga sem apresentar danos significativos (tolerância). No entanto, mesmo características herdadas, especialmente aqueles envolvidos em atributos fisiológicos, estão sujeitas à influência de fatores bióticos e abióticos, relacionados à planta e/ou inseto e ao ambiente, respectivamente (Panda e Khush, 1995; Smith, 2005; Mitchell et al., 2016).

De acordo com Smith (2005), os efeitos desses fatores ou a interação entre eles devem ser levados em consideração antes de se chegar a quaisquer conclusões, no que se diz respeito a plantas resistentes ou suscetíveis. Deve-se, portanto estabelecer uma metodologia de pesquisa visando reduzir possíveis erros na seleção de genótipos resistentes a insetos-praga (Boiça Júnior et al., 2013b). Com isso, a identificação dos mecanismos envolvidos na expressão de resistência é mais precisa, favorecendo os programas de MIP e de melhoramento genético de plantas, que buscam inserir características de resistência a pragas.

A influência de diversos fatores com potencial de interferir na expressão de resistência de plantas a insetos vem sendo pesquisada em culturas de importância

agronômica como soja (*Glycine max* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e outras (Raina et al., 1980; Underwood, 1998; Toscano et al., 2002; Boiça Júnior et al., 2013a; Boiça Júnior et al., 2015a; Eduardo, 2018; Freitas et al., 2018), permitindo o estabelecimento de metodologias de pesquisa específicas para melhor distinguir plantas resistentes e suscetíveis a importantes insetos-praga.

Em plantas de algodão (*Gossypium hirsutum* L.[Malvales: Malvaceae]), Boiça Júnior et al. (2013a) observaram maior preferência para oviposição de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na superfície inferior das folhas, situadas no terço superior de plantas com 60 dias de idade; utilizando densidade de três casais de adultos de *S. frugiperda* por planta, em testes com e sem chance de escolha. Campos et al. (2012) observaram que as folhas é a estrutura vegetal mais adequada para estudar a atratividade e a preferência alimentar de *S. frugiperda* em algodoeiro.

Apesar desses estudos, diversas pragas afetam a cultura do algodoeiro e o manejo dessas depende dos estudos e da compreensão das ferramentas de controle para posteriormente serem aplicadas em programas de MIP. A espécie *Chloridea virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) é tida como praga-chave do algodoeiro, causando desfolha e consumindo estruturas reprodutivas (Papa e Celoto, 2014). Por outro lado, *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) vem trazendo grandes preocupações, devido à sua alta capacidade de desfolha e também de destruir estruturas reprodutivas (Santos et al., 2010; Peres et al., 2012; Papa e Celoto, 2014; Hoffmann et al., 2019).

Pesquisas visando à resistência de genótipos de algodão a *C. virescens* e *S. cosmioides* ainda são escassas, embora ambas as espécies possuam grande capacidade em ocasionar danos para a cultura (Santos et al., 2010; Busoli et al., 2015). Além disso, ainda não há uma metodologia definida para pesquisas de resistência de algodoeiro a essas pragas, levando em consideração a influência de fatores bióticos e abióticos, que possibilite a seleção de genótipos resistentes. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar fatores que possivelmente influenciam a expressão de resistência de algodoeiro a *S. cosmioides* e *C. virescens*, estabelecendo

uma metodologia de pesquisa para, posteriormente, selecionar com mais precisão genótipos, cultivares e/ou linhagens com característica de resistência a essas pragas.

## 2. Cultura do algodoeiro

O algodão é a mais importante fibra cultivada no mundo, por conta disso é uma das espécies vegetais mais cultivadas. As plantas de algodão pertencem à família Malvaceae e ao gênero *Gossypium*, que apresenta aproximadamente 50 espécies. Dentre essas, quatro espécies são cultivadas: *G. hirsutum*, *Gossypium barbedense* L., *Gossypium herbaceum* L. e *Gossypium arboreum* L.. Cerca de 90% das áreas produtoras são cultivadas com o algodão de terras altas (*G. hirsutum*), devido a sua alta capacidade produtiva (Jabran et al., 2019). O algodão apresenta grande valor para o setor têxtil, no entanto, outros produtos gerados pela cultura são notoriamente importantes, tais como suas sementes, as quais são utilizadas na alimentação animal em forma de torta e na produção de óleo combustível de alto valor agregado (Alves et al., 2008; Jabran et al., 2019).

A cotonicultura no Brasil teve grande incentivo do governo após a crise do café, em 1930, concentrando-se nos estados de São Paulo e Paraná. A produção era realizada em pequenas propriedades e com baixo nível tecnológico. No entanto, na década de 1980 alguns fatores contribuíram para significativas modificações no sistema de produção. Dentre os quais podem ser destacados a entrada do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Boheman, 1843) (Coleoptera: Curculionidae), a principal praga da cultura, elevando custo de produção. A partir da década de 1990, ocorreram grandes alterações na cotonicultura nacional que possibilitou ao Brasil ser um dos principais produtores mundiais da fibra. As áreas produtoras deslocaram-se para a região de cerrado do Centro-Oeste, e atualmente já se expandiram para os estados do Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia. Além disso, o modelo de produção mudou muito e atualmente o algodão é produzido em grandes propriedades, em cultivos sucessivos, com processos tecnificados e com apoio de associações e fundações de pesquisa (Alves et al., 2014; Freire e Pessa, 2014; Hoffmann et al., 2019).



Atualmente, os principais produtores da fibra são Índia, China, Estados Unidos, Brasil e Paquistão. Na safra 2018/19, a área cultivada com algodão no mundo foi de aproximadamente 33,73 milhões de hectares e estima-se que essa área se mantenha para a safra 2019/20 (Usda, 2019). A produtividade média mundial da cultura é de aproximadamente 749 kg ha<sup>-1</sup>. A produtividade brasileira é superior a essa média, e nesta safra 2018/19 foram produzidos cerca de 1747 kg ha<sup>-1</sup>, a maior média entre os países produtores (Usda, 2019). Isso é reflexo da adoção de novas tecnologias pelo setor nacional e, também, devido a mudanças nos sistemas de plantio e produção.

Os principais estados brasileiros produtores são Mato Grosso, Bahia, Mato Grosso do Sul, Maranhão e Goiás. Na safra de 2018/19, a produção nacional ocupou uma área de 1,61 milhões de hectares, com expectativa de produção de 6,72 milhões de toneladas de algodão em caroço e 2,69 milhões de toneladas de algodão em pluma, um aumento de cerca de 34% em relação à safra anterior (Conab, 2019).

A incidência de diversos insetos-praga é um dos principais fatores que dificultam a produção da cultura, elevando seu custo (Papa e Celoto, 2014; Razaq et al., 2019). A ocorrência de muitas dessas pragas é favorecida pelo manejo que muitos produtores adotam, baseado em aplicações de inseticidas pré-estabelecidas ou simplesmente pela presença da praga na área (Diamantino et al., 2014; Papa e Celoto, 2014; Busoli et al., 2015). Diversos insetos-praga podem causar injúrias em plantas de algodão, desde sua emergência até a maturação, porém a maior preocupação é em relação ao *A. grandis*, tanto que muito do manejo fitossanitário da cultura é baseado no comportamento desta praga (Grigolli et al., 2017; Razaq et al., 2019).

Outros insetos-praga possuem grande importância para o algodoeiro, ocasionando injúrias diretamente nas estruturas reprodutivas da planta e/ou causando desfolha. Como por exemplo *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1843) (Lepidoptera: Gelechiidae), *Alabama argilacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidae) e *C. virescens* (Papa e Celoto, 2014; Razaq et al., 2019). Porém, a adoção de plantas geneticamente modificadas contendo genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner), que sintetizam proteínas inseticidas, tem modificado o cenário de pragas na cultura, e os problemas com essas três pragas têm reduzido (Hoffmann et al., 2019; Nava-Camberos et al., 2019; Razaq et al., 2019).

Entretanto, outros insetos-praga vêm ocasionado grandes preocupações nas últimas safras como observado em relação a *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e o complexo *Spodoptera* spp., constituído por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), *S. eridania* (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae) e *S. cosmioides*. Também tem aumentado a incidência de insetos sugadores como *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae), *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae), *Edessa meditabunda* (Fabricius, 1784) (Hemiptera: Pentatomidae), *Dysdercus* spp. (Hemiptera: Pyrrhocoridae) e outros (Papa e Celoto, 2014; Hoffmann et al., 2019; Nava-Camberos et al., 2019; Razaq et al., 2019)

### 3. *Chloridea virescens*

A espécie *C. virescens* é nativa de regiões tropicais e subtropicais, com ampla distribuição nas Américas. É um inseto polífago e se alimenta de folhas e estruturas reprodutivas, resultando em maiores danos econômicos. Importantes culturas podem ser hospedeiras dessa espécie, como algodão, soja, tomate, alfafa (*Medicago sativa* L.), milho (*Zea mays* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), uva (*Vitis* sp.) e outras (Graham e Robertson, 1970; Fitt, 1989; Sudbrink e Grant, 1995; Blanco et al., 2007; Bortolotto et al., 2014; Ventura et al., 2015). A espécie é considerada praga-chave na cultura do algodão, com capacidade de ocasionar desfolha e injúrias nos botões florais e maçãs, o que acarreta em perdas ainda mais significativas de produtividade (Papa e Celoto, 2014; Razaq et al., 2019).

A fase adulta de *C. virescens* apresenta asas anteriores de coloração esverdeada e três linhas oblíquas avermelhadas. Os ovos apresentam coloração amarelada e estriados longitudinalmente; a postura é realizada de forma isolada, principalmente em folhas do terço superior da planta, sendo colocados em média 600 ovos por fêmea (Pogue, 2013; Santos, 2015).

As lagartas recém eclodidas alimentam-se do parênquima de tecidos novos, folhas ou botões florais; quando maiores se alimentam também da maçã, podendo atingir até as sementes. As lagartas apresentam coloração variável de verde a verde-

escuro e chegam a atingir 20 - 25 mm de comprimento. As pupas são formadas no solo, das quais emergem os adultos. As mariposas apresentam hábito noturno, buscando alimento nos nectários das flores. O ciclo de vida dessa espécie pode variar de 42 a 64 dias, dependendo das condições ambientais (Papa e Celoto, 2014; Santos, 2015).

#### **4. *Spodoptera cosmioides***

A ocorrência de *S. cosmioides* é restrita à América do Sul (Silvain e Lalanne-Cassou, 1997). Estima-se que mais de 126 espécies de plantas cultivadas e não cultivadas podem servir como hospedeiro para essa espécie. As principais culturas hospedeiras são soja e algodão, porém, também são encontradas em feijão, tomate, amendoim (*Arachis hypogaea* L.), aveia (*Avena sativa* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.), maçã (*Malus domestica* Borkh), mamona (*Ricinus communis* L.), pimentão (*Capsicum annuum* L.), trigo (*Triticum* spp.) e outras (Nora e Reis Filho, 1988; Bavaresco et al., 2003; Santos et al., 2010; Cabezas et al., 2013; Specht e Roque-Specht, 2016)

De acordo com Santos et al. (2010), lagartas de *S. cosmioides* possuem alta capacidade de ocasionar desfolha e destruir estruturas reprodutivas de plantas de algodão. No entanto, a ocorrência dessa espécie como praga em algodão e outras culturas está associada a alguns fatores, dentre eles: a grande disponibilidade de recurso alimentar, favorecida pela sucessão de culturas; uso intensivo de inseticidas e fungicidas não seletivos aos inimigos naturais, reduzindo sua população e atuação; e a baixa suscetibilidade da espécie às tecnologias *Bt*, que são amplamente utilizadas nas áreas produtoras (Santos, 2015; Silva et al., 2017; Hoffmann et al., 2019; Nava-Camberos et al., 2019).

As mariposas de *S. cosmioides* apresentam asas membranosas cobertas por escamas, com as asas posteriores brancas e as anteriores pardas com desenhos em mosaicos nas fêmeas e mais amareladas nos machos. As mariposas apresentam hábitos noturnos e colocam seus ovos sobre a face inferior das folhas ou sobre as brácteas do algodão, em três a cinco camadas sobrepostas, sendo que cada fêmea pode ovipositar entre 150 e 500 ovos (Bavaresco et al., 2002; Papa e Celoto, 2014).

As lagartas eclodem com pouco mais de 1 mm de comprimento, com três a quatro dias após a oviposição. Lagartas-recém eclodidas apresentam coloração marrom clara e cabeça preta, permanecendo agrupadas e se alimentando do parênquima das folhas, levando à necrose e desfolha. Em algodão, ocorrem a partir da fase inicial da emissão dos botões florais e durante o pleno florescimento, causando desfolhas, mas também podem perfurar botões florais e maçãs jovens. À medida que crescem, se distribuem pelas plantas e passam a apresentar tonalidade parda a negro-acinzentada, com três listras longitudinais predominantemente alaranjadas, sendo uma dorsal e duas laterais, com pontos brancos. Acima dos pontos brancos estão presentes triângulos pretos direcionados para o dorso do inseto. Ao atingirem o último ínstar, as lagartas apresentam cores escuras variáveis, com uma faixa mais escura entre o terceiro par de pernas torácicas e o primeiro par das pernas abdominais, além de outras duas faixas na extremidade do abdome. Ao final da fase larval, atingem entre 35 e 40 mm de comprimento. Dependendo da temperatura e o alimento, a fase larval se completa entre 15 e 35 dias, quando as lagartas caem no solo para empupar, enquanto o ciclo de ovo-adulto pode variar de 28-78 dias (Bavaresco et al., 2002; Bavaresco et al., 2003; Zenker et al., 2007; Specht e Roque-Specht, 2016).

## **5. Resistência de algodoeiro a insetos-praga**

Em programas de MIP é preconizada a adoção de diferentes táticas e estratégias de manejo, visando manter a população de pragas em níveis que não causam danos econômicos (Busoli et al., 2015). Nesses programas, a utilização da resistência de plantas a insetos é uma das táticas básicas, juntamente com o controle cultural e o controle biológico conservativo, devido aos benefícios que esse método propicia ao agroecossistema associada à eficiência no controle de pragas. Plantas resistentes a determinado inseto-praga podem afetar o comportamento e/ou desenvolvimento do inseto, bem como a planta, também, pode ter a capacidade de suportar o ataque do inseto, sem perder em produtividade (Stout, 2013; Mitchell et al., 2016; Boiça Júnior et al., 2017).

Embora existam estudos que tratam da resistência de cultivares utilizadas na cotonicultura brasileira a insetos-praga, como *A. grandis*, *A. argilacea*, *S. frugiperda* e *B. tabaci* (Boiça Júnior et al., 2007; Gabriel e Blanco, 2009; Boiça Júnior et al., 2012; Jesus et al., 2014; Prado et al., 2016), há diversos outros insetos que podem ocasionar prejuízos a cultura. Além disso, plantas de algodão apresentam uma ampla gama de características físicas, morfológicas e/ou químicas capazes de lhes conferir resistência a inúmeros insetos pragas (Hagenbucher et al., 2013) e que podem ser utilizadas por meio de plantas geneticamente modificadas, melhoramento genético convencional ou serem associadas com as tecnologias *Bt* (Trapero et al., 2016).

Caracteres físicos e morfológicos de origem genética da planta são capazes de fornecer proteção ao algodoeiro contra uma das principais pragas da cultura, *A. grandis*. É o caso de brácteas do tipo frego e plantas com caule de coloração vermelha, as quais são capazes de interferir no microambiente necessário para o desenvolvimento do bicudo e/ou fornecem uma barreira morfológica à alimentação, oviposição e desenvolvimento da praga (Vidal Neto et al., 2005; Silva et al., 2008; Gabriel e Blanco, 2009).

A presença de tricomas, a coloração das folhas e o formato das folhas também são caracteres capazes de influenciar os níveis de resistência a determinadas pragas. Geralmente, os genótipos de algodão glabros apresentam maiores níveis de antixenose para oviposição de *B. tabaci* do que aqueles com alta densidade de tricomas (Chu et al., 2002; Prado et al., 2016).

Além disso, o algodoeiro produz uma série de compostos químicos por meio do metabolismo secundário, capazes de atuar contra os insetos-praga. Dentre esses compostos se destacam os terpenos, no qual o mais conhecido é o gossipol (Scheffler et al., 2012; Hagenbucher et al., 2013; Tian et al., 2016). A concentração desses compostos na planta e em seus tecidos está estreitamente relacionada com a presença de glândulas de pigmentos, onde esses compostos são armazenados, e estão presentes apenas em plantas do gênero *Gossypium* (Bell et al., 1978).

Outros terpenos, como hemigossipolone e os heliocidas, que estão presentes predominantemente em folhas, brácteas e maçãs podem possuir maior importância na defesa da planta contra insetos desfolhadores e/ou que atacam estruturas reprodutivas, como *C. virescens* e *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera:

Noctuidae) (Cai et al., 2004; Scheffler et al., 2012; Trapero et al., 2016). Santos e Boiça Júnior (2001) avaliaram a resistência de genótipos de algodoeiro a *A. argillacea* e concluíram que os genótipos CNPA 9211-31, CNPA Precoce 1, CNPA Precoce 2 e CNPA 9211-41 apresentaram resistência, enquanto GL2 GL3 e CNPA 9211-29 foram suscetíveis. Os autores explicam que essa resistência se deve à maior concentração de gossipol nos genótipos resistentes.

Campos et al. (2012), estudando a atratividade e preferência alimentar de lagartas de *S. frugiperda* em variedades de algodoeiro concluíram que, dentre as variedades avaliadas, BRS Acala-90, Fibermax-966 e DeltaPenta foram as menos atrativas, enquanto DeltaPenta, também foi a menos preferida para alimentação. Boiça Júnior et al. (2013a) verificaram que as variedades Coodetec 408, BRS Aroeira, BRS Araçá, BRS Ita 90 e DeltaPenta tiveram menor preferência para oviposição por *S. frugiperda*. Jesus et al. (2014) também observaram que a cultivar FM 993 possui alguma característica de resistência que interfere negativamente sobre o comportamento de oviposição de *S. frugiperda*. Boiça Júnior et al. (2007) verificaram baixa atratividade dos genótipos de algodoeiro Fabrika, CNPA Ita 90, Makina, Coodetec 407 e IAC 01-639 CPA 02-24, e menor preferência para oviposição de *B. tabaci* biótipo B nos genótipos BRS Aroeira, Coodetec 406, Fabrika e Coodetec 401.

## **6. Fatores que influenciam a expressão de resistência de plantas a insetos**

Além da constituição genotípica, a expressão de resistência está condicionada também a fatores bióticos e abióticos e suas interações, que podem modificar o nível de resistência da planta a determinado herbívoro (Smith, 2005; Boiça Júnior et al., 2015b). Assim, antes da seleção de genótipos resistentes é imprescindível que se faça um planejamento experimental, levando em consideração a influência desses fatores, reduzindo assim possíveis erros de interpretação de resultados (Boiça Júnior et al., 2015b).

Os fatores abióticos estão relacionados com as condições climáticas, edáficas e culturais, as quais são importantes reguladores da interação inseto-planta e podem influenciar diretamente os processos fisiológicos da planta ou a população do inseto e sua capacidade de dano (Panda e Khush, 1995; Smith, 2005). Condições ambientais

estão intimamente ligadas ao desempenho biológico dos insetos, principalmente a temperatura, fotoperíodo e umidade relativa. Richardson (2012) avaliando a resistência de genótipos de soja a *Aphis glycines* Matsumura (1917) (Hemiptera: Aphididae) observou que em temperaturas inferiores a 14°C e superiores a 28°C os genótipos LD05-16611 e PI 567597C, que são reconhecidos como resistentes aos biótipos 1 e 3 do pulgão, revelaram-se suscetíveis. De acordo com o autor, esses resultados podem estar relacionados em efeitos diretos sobre o inseto e/ou estar indiretamente relacionado, devido a alteração fenológicas na planta.

Em trabalhos de campo, principalmente, os fatores abióticos exercem mais influências, pois muitas vezes não são possíveis de serem controlados. Porém, alguns cuidados devem ser tomados com base no histórico da área, principalmente em áreas destinadas à pesquisa. Nessas áreas, as maiores preocupações estão relacionadas à desuniformidade da fertilidade do solo, por conta de trabalhos anteriores. Pannuti et al. (2013) observaram que o aumento da adubação nitrogenada também aumenta a incidência e o consumo por lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.). Pannuti et al. (2015) também observaram que maiores doses de nitrogênio resultaram em maior incidência de *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hemiptera: Cercopidae). Além disso, outros fatores devem ser observados, tais como o uso de agroquímicos, a umidade do solo, o tamanho da parcela experimental, etc.

Os fatores bióticos envolvem questões relacionadas à planta e ao inseto. Dentre os fatores associados a planta podem ser citados a fenologia, altura, estrutura vegetal, enxertia, sanidade da planta e outros que podem influenciar o comportamento de alimentação e/ou oviposição e no desenvolvimento do inseto. Boiça Júnior et al. (2013a) verificaram que as mariposas de *S. frugiperda* possuem maior preferência para oviposição em plantas de algodão com idade de 60 dias, em comparação a plantas com idade de 30, 45, 75 e 90 dias. Eduardo (2018) avaliando a influência da fenologia de plantas de soja sobre a expressão de resistência a *C. virescens*, observou que a utilização de plantas em estágio vegetativo promove melhor distinção entre genótipos resistente e suscetível, em comparação a plantas nos estádios de florescimento e reprodutivo.

Boiça Júnior et al. (2015a) avaliando fatores que influenciam na expressão de resistência em soja a *Anticarsia gemmatilis* Hübner (1818) (Lepidoptera: Erebidæ) e *S. frugiperda*, observaram que para a lagarta-da-soja, a utilização de discos foliares oriundos da parte superior da planta em fase reprodutiva possibilita melhor discriminação de plantas resistentes e suscetíveis, enquanto em relação à lagarta-militar isso ocorre quando são utilizados discos foliares da parte inferior da planta na fase reprodutiva.

Além disso, questões referentes à sanidade da planta devem ser levadas em consideração antes de serem conduzidos experimentos de resistência de plantas a insetos. A incidência de insetos-praga ou patógenos previamente pode desencadear processos bioquímicos nas plantas, relacionados à resistência induzida (Boiça Júnior et al., 2019). Eisenring et al. (2017) observaram que dependendo do nível ou do período de infestação prévia por lagartas de *C. virescens*, plantas de algodão realocam recursos de defesa, especialmente os terpenoides, para estruturas mais jovens da planta, as quais permanecem em níveis mais elevados por até 14 dias após a infestação. Freitas et al. (2018) também observaram que dependendo da posição da folha na planta que ocorrer uma infestação prévia por lagartas de *S. cosmioides*, plantas de soja podem aumentar os níveis de resistência.

Dessa forma, entende-se que a intensidade, estabilidade e expressão da resistência de uma planta a determinado inseto dependem de fatores relacionados a planta, ao inseto e do ambiente, bem como suas interações. Por conta disso, esses fatores devem ser levados em consideração e avaliados com antecedência, visando padronizar os ensaios e garantir confiabilidade aos dados.

## 7. Referências

- Alves LRA, Barros GSAdC, Bacchi MRP (2008) Produção e exportação de algodão: efeitos de choques de oferta e de demanda. **Revista Brasileira de Economia** 62:381-405. doi:10.1590/S0034-71402008000400002
- Alves LRA, Lima FF, Ferreira Filho JBdS (2014) Aspectos econômicos. In.: Borém A, Freire EC (eds.) **Algodão: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 9-30.



- Bavaresco A, Garcia MS, Grützmacher AD, Foresti J, Ringenberg R (2002) Biologia e exigências térmicas de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology** 31:49-54. doi:10.1590/S1519-566X2002000100007
- Bavaresco A, Silveira MG, Grützmacher AD, Foresti J, Ringenberg R (2003) Biologia comparada de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em cebola, mamona, soja e feijão. **Ciência Rural** 33:993-998.
- Bell AA, Stipanovic RD, O'Brien DH, Fryxell PA (1978) Sesquiterpenoid aldehyde quinones and derivatives in pigment glands of *Gossypium*. **Phytochemistry** 17:1297-1305. doi:10.1016/S0031-9422(00)94578-3
- Blanco CA, Terán-Vargas AP, López JD, Kauffman JV, Wei X (2007) Densities of *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in three plant hosts. **Florida Entomologist** 90:742-750. doi:10.1653/0015-4040(2007)90[742:DOHVAH]2.0.CO;2
- Boiça Júnior AL, Campos ZR, Lourenção AL, Campos AR (2007) Adult attractiveness and oviposition preference of *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae) B-biotype in cotton genotypes. **Scientia Agricola** 64:147-151. doi:10.1590/S0103-90162007000200007
- Boiça Júnior AL, Jesus FGd, Janini JC, Silva AGd, Alves GCS (2012) Resistance of cotton varieties to the leafworm *Alabama argillacea* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Ceres** 59:48-55. doi:10.1590/S0034-737X2012000100007
- Boiça Júnior AL, Campos ZR, Campos AR, Valério Filho WV, Campos OR (2013a) *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton: vertical distribution of egg masses, effects of adult density and plant age on oviposition behavior. **Arquivos do Instituto Biológico** 80:424-429. doi:10.1590/S1808-16572013000400008
- Boiça Júnior AL, De Souza BHS, Costa EN, Ribeiro ZA, Stout MJ (2015a) Factors influencing expression of antixenosis in soybean to *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** 108:317-325. doi:10.1093/jee/tou007

- Boiça Júnior AL, Souza BHS, Lopes GL, Cosdta EN, Moraes RFO, Eduardo WI (2013b) Atualidades em resistência de plantas a insetos. In.: Busoli AC, Alencar JRCC, Fraga DF, Souza LA, Souza BHS, Grigolli JFJ (eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola - VI**. Jaboticabal, SP: Gráfica Multipress, p. 207-224.
- Boiça Júnior AL, Souza BHS, Ribeiro ZA, Moraes RFO, Eduardo WI, Nogueira L (2015b) A defesa das plantas ao ataque dos insetos. In.: Busoli AC, Castilho RdC, Andrade DJ, Rossi GD, Viana DL, Fraga DF, Souza LA (eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola - VIII**. Jaboticabal-SP: Maria de Lourdes Brandel - ME, p. 161-180.
- Boiça Júnior AL, Freitas MM, Nogueira L, Di Bello MM, Freitas CA, Barcelos PHS, Faria SCQdS (2017) Resistência de plantas a insetos em culturas agrícolas. In.: Castilho RdC, Barilli DR, Truzi CC (eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola - X**. Jaboticabal, SP: Gráfica Multipress, p. 97-122.
- Boiça Júnior AL, Freitas MM, Freitas CA, di Bello MM, Ulhoa LA, Pascutti TM, Souza BHS (2019) Respostas induzidas de defesa das plantas e implicações no manejo integrado de pragas. In.: Castilho RdC, Rezende GF, NAscimento J, Rossi GD (eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola - XII**. Jaboticabal, SP: Multipress, p. 137-160.
- Bortolotto OC, Bueno AF, Braga K, Barbosa GC, SAnzovo A (2014) Biological characteristics of *Heliothis virescens* fed with Bt-soybean MON 87701 × MON 89788 and its conventional isolate. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 86:973-980. doi:10.1590/0001-3765201420130495
- Busoli AC, Guerreiro JC, Viana DdL, Pessoa R, Fraga DF, Santos LS (2015) Tópicos em manejo integrado de pragas em sistemas agrícolas. In.: Busoli AC, Castilho RdC, Andrade DJ, Rossi GD, Viana DdL, Fraga DF, Souza LA (eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola - VIII**. Jaboticabal, SP: Maria de Lourdes Brandel - ME, p. 277-303.
- Cabezas M, Nava D, Geissler L, Melo M, Garcia M, Krüger R (2013) Development and leaf consumption by *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on leaves of agroenergy crops. **Neotropical Entomology** 42:588-594. doi:10.1007/s13744-013-0169-6
- Cai Y, Zhang H, Zeng Y, Mo J, Bao J, Miao C, Bai J, Yan F, Chen F (2004) An optimized gossypol high-performance liquid chromatography assay and its application in evaluation of different gland genotypes of cotton. **Journal of Biosciences** 29:67-71. doi:10.1007/bf02702563

- Campos ZR, Boiça Júnior AL, Valério Filho WV, Campos OR, Campos AR (2012) The feeding preferences of *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton plant varieties. **Acta Scientiarum. Agronomy** 34:125-130. doi:10.4025/actasciagron.v34i2.11577
- Chu C-C, Natwick ET, Henneberry TJ (2002) *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotype B colonization on okra- and normal-leaf upland cotton strains and cultivars. **Journal of Economic Entomology** 95:733-738. doi:10.1603/0022-0493-95.4.733
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2019) **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, décimo primeiro levantamento**. 6(11). Brasília: Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acessado em: 31 ago. 2019.
- Diamantino EP, Castellani MA, Forti LC, Moreira AA, José ARS, Macedo JAd, Oliveira FdS, Silva BS (2014) Seletividade de inseticidas a alguns dos inimigos naturais na cultura do algodão. **Arquivos do Instituto Biológico** 81:150-158. doi:10.1590/1808-1657001792011
- Eduardo WI (2018). **Metodologia de pesquisa, níveis nas categorias de resistência constitutiva em genótipos de soja e resistência induzida a *Heliothis virescens* e os mecanismos de defesas envolvidos** 135 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Entomologia Agrícola) - Unesp, Jaboticabal.
- Eisenring M, Meissle M, Hagenbucher S, Naranjo SE, Wettstein F, Romeis J (2017) Cotton defense induction patterns under spatially, temporally and quantitatively varying herbivory levels. **Front Plant Sci** 8:Article 234. doi:10.3389/fpls.2017.00234
- Fitt GP (1989) The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology** 34:17-52. doi:10.1146/annurev.en.34.010189.000313
- Freire EC, Pessa JLR (2014) Organização dos produtores. In.: Borém A, Freire EC (eds.) **Algodão: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 31-48.
- Freitas MM, Souza BHS, Nogueira L, Di Bello MM, Boiça Júnior AL (2018) Soybean defense induction to *Spodoptera cosmioides* herbivory is dependent on plant

genotype and leaf position. **Arthropod-Plant Interactions** 12:85-96.  
doi:10.1007/s11829-017-9556-y

Gabriel D, Blanco FMG (2009) Efeito de linhagens com características morfológicas mutantes sobre o bicudo e a produção do algodoeiro. **Arquivos do Instituto Biológico** 76:211-215.

Graham HM, Robertson OT (1970) Host plants of *Heliothis virescens* and *H. zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Lower Rio Grande Valley, Texas. **Annals of the Entomological Society of America** 63:1261-1265.  
doi:10.1093/aesa/63.5.1261

Grigolli JFJ, Souza LA, Mota TA, Fernandes MG, Busoli AC (2017) Sequential sampling plan of *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) in cotton plants. **Journal of Economic Entomology** 110:763-769.  
doi:10.1093/jee/tox036

Hagenbucher S, Olson DM, Ruberson JR, Wäckers FL, Romeis J (2013) Resistance mechanisms against arthropod herbivores in cotton and their interactions with natural enemies. **Critical Reviews in Plant Sciences** 32:458-482.  
doi:10.1080/07352689.2013.809293

Hoffmann LV, Kresic IB, Paz JG, Bela DA, Tcach NE, Lamas FM, Sofiatti V (2019) Cotton production in Brazil and other South American countries. In.: Jabran K, Chauhan BS (eds.) **Cotton Production**. West Sussex: John Wiley & Sons Ltda., p. 277-295.

Jabran K, Ul-Allah S, Chauhan BS, Bakhsh A (2019) An Introduction to global production trends and uses, history and evolution, and genetic and biotechnological improvements in cotton. In.: Jabran K, Chauhan BS (eds.) **Cotton Production**. West Sussex: John Wiley & Sons Ltda., p. 1-22.

Jesus FGd, Boiça Junior AL, Alves GCS, Busoli AC, Zanuncio JC (2014) Resistance of cotton varieties to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Colombiana de Entomología** 40:158-163.

Mitchell C, Brennan RM, Graham J, Karley AJ (2016) Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. **Frontiers in Plant Science** 7:Article 1132.  
doi:10.3389/fpls.2016.01132

- Nava-Camberos U, Terán-Vargas AP, Aguilar-Medel S, Martínez-Carrillo JL, Ávila Rodríguez V, Rocha-Munive MG, Castañeda-Contreras S, Niaves-Nava E, Mota-Sánchez D, Blanco CA (2019) Agronomic and environmental impacts of Bt cotton in Mexico. **Journal of Integrated Pest Management** 10:1-7. doi:10.1093/jipm/pmz013
- Nora I, Reis Filho W (1988) Damage to apple (*Malus domestica*, Bork.) caused by *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Horticulturae** 232:209-212. doi:10.17660/ActaHortic.1988.232.28
- Panda N, Khush GS (1995) **Host plant resistance to insects**. Wallingford: CAB International, 431 pp.
- Pannuti LEdR, Baldin ELL, Gava GJdC, Kölln OT (2015) Efeitos da fertirrigação sobre a ocorrência e danos de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar. **Arquivos do Instituto Biológico** 82:1-8. doi:10.1590/1808-1657000332013
- Pannuti LEdR, Baldin ELL, Gava GJdC, Kölln OT, Cruz JCS (2013) Danos do complexo broca-podridão à produtividade e à qualidade da cana-de-açúcar fertirrigada com doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 48:381-387. doi:10.1590/S0100-204X2013000400005
- Papa G, Celoto FJ (2014) Manejo de pragas. In.: Borém A, Freire EC (eds.) **Algodão: do plantio à colheita**. Viçosa, MG, Brazil: Editora UFV, p. 217-249.
- Peres AJ, Tomquelski GV, Papa G, Vilela R, Martins GL (2012) Ocorrência de pragas em algodoeiro geneticamente modificado (*Bt*) e convencional. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 7:810-813. doi:10.5039/agraria.v7isa2248
- Pogue MG (2013) Revised status of *Chloridea* Duncan and (Westwood), 1841, for the *Heliothis virescens* species group (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) based on morphology and three genes. **Systematic Entomology** 38:523-542. doi:10.1111/syen.12010
- Prado JC, Peñaflor MFGV, Cia E, Vieira SS, Silva KI, Carlini-Garcia LA, Lourenção AL (2016) Resistance of cotton genotypes with different leaf colour and trichome density to *Bemisia tabaci* biotype B. **Journal of Applied Entomology** 140:405-413. doi:10.1111/jen.12274

- Raina AK, Benepal PS, Sheikh AQ (1980) Effects of excised and intact leaf methods, leaf size, and plant age on Mexican bean beetle feeding. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 27:303-306. doi:10.1007/BF00333841
- Razaq M, Mensah R, Athar HuR (2019) Insect pest management in cotton. In.: Jabran K, Chauhan BS (eds.) **Cotton Production**. West Sussex: John Wiley & Sons Ltda., p. 85-107.
- Richardson ML (2012) Temperature influences the expression of resistance of soybean (*Glycine max*) to the soybean aphid (*Aphis glycines*). **Journal of Applied Entomology** 136:641-645. doi:10.1111/j.1439-0418.2011.01692.x
- Santos JW (2015) Manejo das pragas do algodão, com destaque para o cerrado brasileiro. In.: Freire EC (ed.) **Algodão no Cerrado do Brasil**. Brasília, DF: Gráfica e Editora Positiva, p. 267-364.
- Santos KB, Meneguim AM, Santos WJ, Neves PMOJ, Santos RB (2010) Caracterização dos danos de *Spodoptera eridania* (Cramer) e *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) a estruturas de algodoeiro. **Neotropical Entomology** 39:626-631. doi:10.1590/s1519-566x2010000400025
- Santos TM, Boiça Júnior AL (2001) Resistência de genótipos de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) a *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology** 30:297-303. doi:10.1590/S1519-566X2001000200014
- Scheffler JA, Romano GB, Blanco CA (2012) Evaluating host plant resistance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) with varying gland densities to tobacco budworm (*Heliothis virescens* F.) and bollworm (*Helicoverpa zea* Boddie) in the field and laboratory. **Agricultural Sciences** 3:14-23. doi:10.4236/as.2012.31004
- Sharma HC, Ortiz R (2002) Host plant resistance to insects: an eco-friendly approach for pest management and environment conservation. **Journal of Environmental Biology** 23:111-135.
- Silva DMd, Bueno AdF, Stecca CdS, Andrade K, Neves PMOJ, Oliveira MCNd (2017) Biology of *Spodoptera eridania* and *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) on different host plants. **Florida Entomologist** 100:752-760. doi:10.1653/024.100.0423

- Silva FP, Bezerra APL, Silva AF (2008) Oviposição e alimentação do bicudo, *Anthonomus grandis* Boheman, em linhagens mutantes de algodoeiro herbáceo de cultura de soca. **Revista Ciência Agronômica** 39:85-89.
- Silvain JF, Lalanne-Cassou B (1997) Distinction entre *Spodoptera latifascia* (Walk.) et *Spodoptera cosmioides* (Walk.), bona species (Lepidoptera: Noctuidae). **Revue Française d'Entomologie** 19:95-97.
- Smith CM (2005) **Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches**. Dordrecht: Springer, 421 pp.
- Specht A, Roque-Specht VF (2016) Immature stages of *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae): developmental parameters and host plants. **Zoologia** 33:e20160053. doi:10.1590/S1984-4689zool-20160053
- Stout MJ (2013) Reevaluating the conceptual framework for applied research on host-plant resistance. **Insect Science** 20:263-272. doi:10.1111/1744-7917.12011
- Sudbrink DL, Jr., Grant JF (1995) Wild host plants of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Eastern Tennessee. **Environmental Entomology** 24:1080-1085. doi:10.1093/ee/24.5.1080
- Tian X, Ruan J, Huang J, Fang X, Mao Y, Wang L, Chen X, Yang C (2016) Gossypol: phytoalexin of cotton. **Science China Life Sciences** 59:122-129. doi:10.1007/s11427-016-5003-z
- Toscano LC, Boiça Júnior AL, Maruyama WI (2002) Fatores que afetam a oviposição de *Bemisia tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology** 31:631-634. doi:10.1590/S1519-566X2002000400017
- Trapero C, Wilson IW, Stiller WN, Wilson LJ (2016) Enhancing integrated pest management in GM cotton systems using host plant resistance. **Frontiers in Plant Science** 7:Article 500. doi:10.3389/fpls.2016.00500
- Underwood NC (1998) The timing of induced resistance and induced susceptibility in the soybean-Mexican bean beetle system. **Oecologia** 114:376-381. doi:10.1007/s004420050460

USDA - United States Department of Agriculture (2019) **Cotton: World markets and trade.** Disponível em:

<<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/downloads>>.

Acessado em: 31 ago. 2019.

Ventura MU, Roberto SR, Hoshino AT, Carvalho MG, Hata FT, Genta W (2015) First record of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) damaging table grape bunches. **Florida Entomologist** 98:783-786, 784. doi:10.1653/024.098.0259

Vidal Neto FdC, Silva FPd, Bleicher E, Melo FIO (2005) Mutantes morfológicos de algodoeiro herbáceo como fonte de resistência ao bicudo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 40:123-128. doi:10.1590/S0100-204X2005000200004

Zenker MM, Specht A, Corseuil E (2007) Estágios imaturos de *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Zoologia** 24:99-107. doi:10.1590/S0101-81752007000100013



## **CAPÍTULO 2 - Fatores que influenciam a expressão de antixenose em algodoeiro a *Spodoptera cosmioides* e *Chloridea virescens* (Lepidoptera: Noctuidae)**

**RESUMO** - A expressão de resistência de plantas pode ser afetada por fatores bióticos e abióticos que devem ser avaliados antes da seleção de genótipos resistentes. Assim, esse trabalho objetivou avaliar fatores capazes de influenciar a expressão de resistência em genótipos de algodoeiro, *Gossypium hirsutum* L., a *Spodoptera cosmioides* (Walker) e *Chloridea virescens* (Fabricius). Foram realizados testes com e sem chance de escolha com os genótipos FMT 701 e DeltaOpal, considerados resistente e suscetível, respectivamente, no qual foram avaliados os fatores de densidade larval, estrutura vegetal e idade da planta, utilizando lagartas de 3º ínstar. A utilização de duas lagartas de *S. cosmioides* por disco foliar oriundos da parte mediana de plantas de algodoeiro em estágio de florescimento e uma lagarta de *C. virescens* por disco foliar de folhas da parte superior de plantas em estágio de botão floral permitiu melhor discriminação entre as cultivares quanto a seus níveis de resistência. Os resultados demonstraram a importância de estudos prévios avaliando esses fatores, os quais interferem distintamente sobre a expressão de resistência, de acordo com a espécie de herbívoro. A partir desses resultados é possível selecionar genótipos de algodão resistentes a ambos lepidópteros com maior precisão.

**Palavras-chave:** lagarta-das-maçãs-do-algodoeiro, lagarta-preta, metodologia de pesquisa, não preferência para alimentação, resistência de plantas a insetos

## CHAPTER 2 - Factors influencing expression of antixenosis to *Spodoptera cosmioides* and *Chloridea virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton

**ABSTRACT** - Host plant resistance (HPR) is an important method of control within integrated pest management programs. However, the selection of genotypes resistant to insects requires full comprehension of the biotic and abiotic factors that can affect the expression of plant resistance to arthropods. In this study, we evaluated the effects of larval density, plant structure and phenological stages on the expression of antixenosis to *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Chloridea virescens* (Fabricius) in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes. Free- and no-choice feeding assays were conducted using third-instar larvae and the cotton genotypes, FMT 701 and DeltaOpal, which are considered resistant and susceptible, respectively, to both *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) and *Alabama argillacea* (Hübner). The use of two larvae of *S. cosmioides* per leaf disc from middle leaves of first open flower stage and one larva of *C. virescens* per leaf disc from the upper leaves of plants at first visible floral bud stage provided better discrimination of resistance expression in the two cotton genotypes. Our results show the importance of validating methodologies that evaluate the biotic factors that may affect the expression of resistance to different herbivores before the selection of resistant genotypes.

**Keywords:** tobacco budworm, black armyworm, research methodologies, feeding non-preference, host plant resistance

## 1. Introdução

Dentre os métodos de controle disponíveis no manejo integrado de pragas (MIP), a resistência de plantas a insetos (RPI) possui grande destaque (Stout, 2013), uma vez que é capaz de reduzir a densidade populacional do inseto-praga abaixo do nível de dano econômico e possibilita a utilização de outros métodos de controle em conjunto (Boiça Júnior et al., 2015b). A RPI possui caráter genético, consistindo então em uma característica hereditária que confere às plantas a capacidade de serem menos injuriadas e/ou danificadas em comparação a outras, em igualdade de condições (Painter, 1958; Mitchell et al., 2016).

A resistência se deve a características químicas, físicas e/ou morfológicas da planta, que podem interferir sobre a alimentação, oviposição, abrigo (antixenose) e/ou os aspectos biológicos do inseto (antibiose) (Painter, 1958; Stout, 2013; Mitchell et al., 2016). Assim, para que esse método de controle seja aplicado em programas de MIP, é necessário selecionar genótipos com características de resistência, bem como identificar os mecanismos envolvidos.

Dessa forma, a RPI pode constituir em uma importante ferramenta no manejo de *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Chloridea virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodão, *Gossypium hirsutum* L. (Malvales: Malvaceae). As lagartas de ambas as espécies ocasionam desfolha na planta, no entanto, seus danos são principalmente devido à incidência sobre estruturas reprodutivas, com destaque às maçãs do algodoeiro.

A espécie *C. virescens* é considerada praga primária para a cultura, enquanto que *S. cosmioides* é tida como praga secundária; porém, possui alto potencial em ocasionar dano, e sua incidência na cultura vem aumentando nas últimas safras por conta do aumento das áreas com tecnologia Bt, a qual a espécie não é alvo, bem como pelo fato de que as áreas produtoras são extensas e durante quase todo o ano existem cultura no campo que são hospedeiras de *S. cosmioides*, o que contribui para seu aumento populacional (Santos et al., 2010; Papa e Celoto, 2014; Silva et al., 2017).

Antes da seleção de genótipos resistentes, deve-se levar em consideração que fatores relacionados à planta, ao inseto e ao ambiente e suas interações podem

interferir na expressão da resistência, principalmente no que se refere aos níveis de resistência. Para isso, metodologias específicas para cada espécie de planta e de inseto-praga devem ser determinadas por meio de estudos prévios (Smith, 2005). O estabelecimento de uma metodologia confiável é a base para a seleção de genótipos resistentes e determinação dos mecanismos de resistência, permitindo a inserção da RPI em programas de MIP, bem como o sucesso de programas de melhoramento de plantas que visam introduzir características de resistência a insetos pragas em genótipos comerciais (Davis, 1985).

Boiça Júnior et al. (2015a) observaram que fatores como a densidade larval, posição da folha no estrato da planta, estágio fenológico e outros influenciam significativamente na expressão de antixenose de genótipos de soja a *Spodoptera frugiperda* (J E Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner (1818) (Lepidoptera: Erebidae). Os resultados obtidos por esse estudo serviram como base para Boiça Júnior et al. (2017), que avaliaram a influência de experiência prévia de *S. frugiperda* em genótipos de soja sobre seu comportamento alimentar.

Visto a importância em estabelecer metodologias de pesquisa em RPI, a falta de informações prévias para estudos de resistência de algodoeiro a *S. cosmioides* e *C. virescens* e o potencial que essas pragas possuem em causar danos à cultura, este trabalho teve como objetivo avaliar alguns fatores capazes de influenciar a expressão de antixenose de genótipos de algodão a esses insetos-praga.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Insetos e plantas**

Para os experimentos foram utilizadas lagartas de terceiro ínstar de *S. cosmioides* e *C. virescens*, ambas mantidas em dieta artificial (Greene et al., 1976). As lagartas de *S. cosmioides* usadas foram da 19ª a 21ª geração de uma colônia de laboratório, iniciada a partir de ovos provenientes da criação do Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP, Piracicaba, SP, Brasil, sendo que anualmente foram adicionados indivíduos coletados a campo para manutenção da diversidade genética. A população de *C. virescens* foi iniciada por meio de lagartas recém

eclodidas oriundas do Laboratório de Criação de Insetos da Bayer Crop Science, Paulínia, SP, Brasil, e as lagartas da primeira a terceira geração foram utilizadas nos experimentos.

As cultivares de algodão foram semeados em vasos com capacidade de 12 L, preenchidos com substrato composto por solo, esterco bovino curtido e areia, na proporção de 3:1:1, respectivamente, mantidos em casa de vegetação vedada com tela anti-afídeo e irrigados sempre que necessário. Nos experimentos foram utilizados as cultivares DeltaOpal e FMT 701, que são cultivares de ciclo médio (aproximadamente 160 dias) e considerados suscetível e resistente, respectivamente, para *S. frugiperda* e *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidae) (Boiça Júnior et al., 2012; Jesus et al., 2014).

## **2.2. Condições experimentais**

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Estadual Paulista – Câmpus de Jaboticabal, Departamento de Fitossanidade, Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, em condições de laboratório com temperatura de  $26 \pm 2^\circ \text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12:12 (L:E) horas.

Os experimentos avaliaram três fatores que potencialmente influenciam a expressão de antixenose de plantas de algodão a *S. cosmioides* e *C. virescens*, na seguinte ordem: densidade larval (experimento I), estrutura vegetal (experimento II) e idade da planta (experimento III). Para cada fator avaliado foram realizados ensaios separados por meio de testes com e sem chance de escolha, no qual os resultados obtidos foram utilizados nos experimentos subsequentes, totalizando 12 ensaios., conjuntamente para as duas espécies de insetos.

Em todos os experimentos, os testes com chance de escolha foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados e os testes sem chance de escolha foram realizados em delineamento inteiramente casualizados. Nos experimentos I e III nos testes com chance de escolha foi adotado esquema em parcelas subdivididas, nas quais as parcelas principais constituíram dos fatores sob investigação (densidade larval e idade da planta) e as subparcelas das cultivares, enquanto nos testes sem chance de escolha foi adotado esquema fatorial  $3 \times 2$  (fatores sob investigação  $\times$

genótipos). Nos experimentos I e III foram realizadas 10 repetições e no experimento II foram realizadas 12 repetições.

Para os experimentos, as estruturas vegetais utilizadas foram coletadas e conduzidas ao laboratório, onde foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (0.05%) por um minuto, enxaguadas em água deionizada e secas em papel toalha. Nos experimentos em que foram utilizados discos foliares (3 cm de diâmetro), estes foram cortados com vazador metálico.

Nos testes com chance de escolha, as estruturas vegetais foram distribuídas em arenas de forma equidistante do centro sobre papel filtro umedecido e as lagartas foram liberadas no centro das arenas. No experimento I e III as arenas constituíram de placas de Petri (14 cm de diâmetro), ao passo que no experimento II foram usadas caixas plásticas do tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm). Nos testes sem chance de escolha, as estruturas vegetais foram individualizadas em placas de Petri (9 cm de diâmetro), exceto no experimento II em que foram usados recipientes plásticos (6 cm de diâmetro e 5 cm de altura), sobre papel filtro umedecido e em seguida liberadas as lagartas.

Em todos os experimentos as lagartas foram mantidas por 72 horas ou quando aproximadamente 75% da estrutura vegetal de uma das repetições foi consumida. Em seguida, a área foliar consumida (AFC, cm<sup>2</sup>) foi quantificada usando o software ImageJ (Rasband, 1997). No experimento II, em exceção, foi determinada a porcentagem de injúria, atribuídas por três avaliadores por meio de escala visual com variação de 0 a 100% (Santos et al., 2010), na qual 0% significa ausência de injúria, 1-20% apenas injúrias externas, 21-35% injúrias externas e uma perfuração, 36-50% duas perfurações, 51-100% injúrias no exterior e interior da maçã. Optou-se por essa escala para que as injúrias ocasionadas nos discos foliares e nas maçãs fossem comparadas de forma proporcional a suas respectivas áreas, uma vez que essas estruturas apresentavam áreas distintas e, conseqüentemente, dispunham de diferentes quantidades de substrato alimentar.

### **2.3. Experimento I: Densidade larval**

O primeiro experimento avaliou o uso de uma, duas ou três lagartas de terceiro ínstar por genótipo. Assim, respectivamente, no teste com chance de escolha foram

liberadas duas, quatro e seis lagartas por repetição e no teste sem chance de escolha uma, duas e três lagartas. Para ambos os testes foram utilizados discos foliares oriundos da primeira e segunda folhas completamente expandidas a partir do ápice de plantas no estágio B1 (primeiro botão floral visível) (Marur e Ruano, 2001).

#### **2.4. Experimento II: Estrutura vegetal**

Com base nos resultados do experimento I, para os experimentos subsequentes foi utilizada a densidade de duas lagartas de *S. cosmioides* e uma lagarta de *C. virescens* por genótipo. O segundo experimento consistiu em avaliar a influência de diferentes estruturas vegetais na expressão de resistência de genótipos de algodoeiro, no qual os tratamentos consistiram em discos foliares oriundos de folhas da parte superior e de folhas da parte mediana da planta, além de maçãs pequenas e maçãs grandes. As folhas da parte superior compreenderam a primeira e segunda folhas completamente expandidas a partir do ápice das plantas e as folhas da parte mediana da nona e décima folhas.

Com relação às maçãs, as que apresentavam diâmetro entre 1,0 – 1,5 cm foram consideradas maçãs pequenas e as com 2,0 – 2,5 cm, maçãs grandes, sendo todas as estruturas coletadas de planta em estágio C1 (abertura do primeiro capulho) (Marur e Ruano, 2001). Os tratamentos foram comparados dois a dois, ou seja, estrutura da cultivar suscetível versus resistente, e dessa forma nos testes com chance de escolha foram liberadas quatro lagartas de *S. cosmioides* e duas lagartas de *C. virescens* por repetição e nos testes sem chance de escolha duas lagartas de *S. cosmioides* e uma lagarta de *C. virescens* por repetição.

#### **2.5. Experimento III: Idade da planta**

De acordo com os resultados obtidos no experimento II, para o terceiro experimento foram utilizados discos foliares oriundos de folhas da parte mediana de plantas de algodão para os testes com *S. cosmioides* e de folhas da parte superior para *C. virescens*. O terceiro experimento avaliou o consumo foliar pelas lagartas nos dois genótipos de algodão nos estádios fenológicos B1 (primeiro botão floral visível),

F1 (abertura da primeira flor) e C1 (abertura do primeiro capulho) (Marur e Ruano, 2001). Para os testes com *S. cosmioides*, no estágio B1 foram coletadas a quinta e sexta folhas a partir do ápice das plantas; em F1 foram a sétima e oitava folhas; e em C1, a nona e décima folhas. Para os testes com *C. virescens*, foram utilizadas as folhas da parte superior, primeira e segunda folha completamente expandidas a partir do ápice da planta. Assim, nos testes com chance de escolha foram liberadas seis lagartas de *S. cosmioides* e três de *C. virescens* por repetição e nos testes sem chance de escolha, duas lagartas de *S. cosmioides* e uma lagarta de *C. virescens* por repetição.

## 2.6. Análise dos dados

Os dados de consumo alimentar foram submetidos ao teste de normalidade dos resíduos e homogeneidade da variância pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Quando necessário, os dados foram transformados de acordo com o teste de BoxCox, pelo procedimento PROC TRANSREG, para posteriormente serem submetidos à análise de variância ( $P < 0.05$ ). Em caso de significância as médias foram submetidas ao teste de Tukey ( $P < 0.05$ ), utilizando o procedimento PROC GLM. Os dados do experimento II foram submetidos ao teste  $t$  de Student ( $P < 0.05$ ) através do procedimento PROC TTEST. As análises foram realizadas utilizando o software SAS, versão 9.4 (Sas Institute, 2013).

## 3. Resultados

### 3.1. Experimento I: Densidade larval

Em teste com chance de escolha com lagartas de *S. cosmioides* (Tabela 1), verificou-se diferença significativa entre as densidades de lagartas ( $F_{2, 18} = 17.78$ ;  $P < 0.0001$ ), porém, o mesmo não foi observado entre genótipos ( $F_{1, 27} = 0.27$ ;  $P = 0.6088$ ) e para a interação entre densidade larval e genótipo ( $F_{2, 27} = 1.52$ ;  $P = 0.3750$ ). No teste sem chance de escolha (Tabela 1) houve interação significativa entre as cultivares e as densidades de lagarta ( $F_{2, 54} = 3.86$ ;  $P < 0.0271$ ). Além disso, o



consumo foliar pelas lagartas diferiu entre genótipos ( $F_{2, 54} = 42.32$ ;  $P < 0.0001$ ) e entre densidades larvais ( $F_{2, 54} = 4.76$ ;  $P = 0.0335$ ). Para DeltaOpal ( $F_{2, 54} = 13.87$ ;  $P < 0.0001$ ) e FMT 701 ( $F_{2, 54} = 32.31$ ;  $P < 0.0001$ ), três lagartas por disco foliar promoveu maior consumo foliar, no entanto com essa densidade não foi possível discriminar os níveis de resistência entre as cultivares ( $F_{1, 54} = 0.98$ ;  $P = 0.3273$ ). Já utilizando uma ( $F_{1, 54} = 4.48$ ;  $P = 0.0389$ ) e duas lagartas ( $F_{1, 54} = 7.03$ ;  $P = 0.0105$ ), tal diferenciação foi observada, sendo que a densidade de duas lagartas promoveu a melhor distinção quanto aos níveis de resistência entre os DeltaOpal, suscetível, e FMT 70, resistente.

Tabela 1. Área foliar consumida ( $\text{cm}^2$ ;  $\pm\text{EP}$ ) em discos foliares de genótipos de algodão por lagartas de *Spodoptera cosmioides* com diferentes densidades larvais por disco foliar, em testes com e sem chance de escolha.

Densidade	Com chance			Sem chance		
	Suscetível	Resistente	Média	Suscetível	Resistente	Média
Uma	0,89 $\pm$ 0,22bA	0,31 $\pm$ 0,11bA	0,59 $\pm$ 0,14c	1,32 $\pm$ 0,16bA	0,68 $\pm$ 0,07cB	1,00 $\pm$ 0,11c
Duas	1,38 $\pm$ 0,34abA	1,27 $\pm$ 0,27bA	1,32 $\pm$ 0,21b	2,56 $\pm$ 0,22aA	1,76 $\pm$ 0,22bB	2,16 $\pm$ 0,18b
Três	2,01 $\pm$ 0,33aA	2,31 $\pm$ 0,35aA	2,16 $\pm$ 0,24a	2,80 $\pm$ 0,26aA	3,10 $\pm$ 0,28aA	2,95 $\pm$ 0,19a
Média	1,42 $\pm$ 0,19A	1,29 $\pm$ 0,21A		2,23 $\pm$ 0,17A	1,85 $\pm$ 0,22B	

Médias com diferentes letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha são significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) pelo teste de Tukey.

Nos testes com lagartas de *C. virescens* foi observado efeito significativo quanto às cultivares ( $F_{1, 27} = 5.31$ ;  $P = 0.0291$ ) e em relação as densidades larvais avaliadas ( $F_{2, 18} = 16.45$ ;  $P < 0.0001$ ), em teste com chance de escolha (Tabela 2), em que se teve maior consumo em DeltaOpal e na densidade de três lagartas por genótipo. Porém, embora não se tenha observado interação significativa entre genótipo e densidade larval ( $F_{2, 27} = 0.94$ ;  $P = 0.4019$ ), a densidade de uma lagarta por genótipo promoveu melhor diferenciação entre os níveis de resistência das cultivares ( $F_{1, 27} = 5.36$ ;  $P = 0.0284$ ). Já em teste sem chance escolha (Tabela 2) foi verificado diferença significativa apenas entre as densidades larvais avaliadas ( $F_{2, 54} = 29.83$ ;  $P < 0.0001$ ), em que tanto a utilização das densidades de duas ou três lagartas por genótipo resultaram em maior consumo foliar. Entretanto, não houve efeito significativo entre genótipos ( $F_{1, 54} = 0.28$ ;  $P = 0.5959$ ) tampouco da interação entre genótipo e densidade larval ( $F_{2, 54} = 0.08$ ;  $P = 0.9203$ ). Assim, as densidades de duas lagartas de *S. cosmioides* e uma lagarta de *C. virescens* por genótipo foram utilizadas nos testes subsequentes.

Tabela 2. Área foliar consumida (cm<sup>2</sup>; ±EP) em discos foliares de genótipos de algodão por lagartas de *Chloridea virescens* com diferentes densidades larvais por disco foliar, em testes com e sem chance de escolha.

Densidade	Com chance			Sem chance		
	Suscetível	Resistente	Média	Suscetível	Resistente	Média
Uma	1,26±0,29bA	0,28±0,11bB	0,77±0,19b	1,27±0,10bA	1,21±0,26bA	1,24±0,13b
Duas	1,37±0,34abA	0,83±0,31bA	1,10±0,23b	2,99±0,17aA	2,94±0,37aA	2,96±0,20a
Três	2,46±0,38aA	2,30±0,39aA	2,38±0,27a	3,47±0,37aA	3,21±0,35aA	3,34±0,25a
Média	1,70±0,21A	1,14±0,23B		2,58±0,22A	2,45±0,24A	

Médias com diferentes letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha são significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) pelo teste de Tukey.

### 3.2. Experimento II: Estrutura vegetal

Em teste com chance de escolha, para lagartas de *S. cosmioides*, observou diferença entre os dois genótipos utilizando folhas da parte superior ( $t_{1, 22} = 2.32$ ;  $P = 0.0300$ ) e folhas da parte mediana ( $t_{1, 21} = 5.54$ ;  $P < 0.0001$ ), sendo este último o que melhor distinguiu os níveis de resistência entre as cultivares (Figura 1). Quando se utilizaram maçãs pequenas ( $t_{1, 22} = 1.43$ ;  $P = 0.1676$ ) e maçãs grandes ( $t_{1, 21} = 0.94$ ;  $P = 0.3590$ ) não foram observadas diferenças quanto à porcentagem de injúria ocasionada pelas lagartas entre os dois genótipos de algodoeiro. No teste sem chance de escolha (Figura 1), não houve diferença entre as cultivares utilizando folhas da parte superior ( $t_{1, 21} = 0.39$ ;  $P = 0.6997$ ), folhas da parte mediana ( $t_{1, 22} = 0.50$ ;  $P = 0.6203$ ), maçãs pequenas ( $t_{1, 21} = -1.20$ ;  $P = 0.6458$ ) ou maçãs grandes ( $t_{1, 21} = -1.09$ ;  $P = 0.2875$ ).

Com relação ao teste com chance de escolha para lagartas de *C. virescens* (Figura 1), observou-se maior porcentagem de injúria na cultivar DeltaOpal, em comparação a FMT 701 quando foi utilizado folhas da parte superior ( $t_{1, 20} = 3.23$ ;  $P = 0.0042$ ), maçãs pequenas ( $t_{1, 22} = 2.34$ ;  $P = 0.0291$ ) e maçãs grandes ( $Z_1 = 2.05$ ;  $P = 0.0403$ ). Não houve diferença entre as cultivares quanto a porcentagem de injúria utilizando folhas da parte mediana da planta ( $Z_1 = -0.5797$ ;  $P = 0.5621$ ). Nos testes sem chance de escolha, verificou-se diferença entre as cultivares com o uso de folhas da parte superior da planta ( $t_{1, 20} = 2.47$ ;  $P = 0.0225$ ) e maçãs pequenas ( $t_{1, 20} = -4.26$ ;  $P = 0.0002$ ), enquanto que o mesmo não foi observado quanto a folhas da parte

mediana ( $Z_1 < 0.01$ ;  $P = 0.9999$ ) e maçã grande ( $t_{1, 22} = -0.18$ ;  $P = 0.8607$ ). Para ambos os testes com e sem chance de escolha, com lagartas de *C. virescens* a melhor distinção quanto aos níveis de resistência entre as cultivares ocorreu utilizando folhas da parte superior da planta.

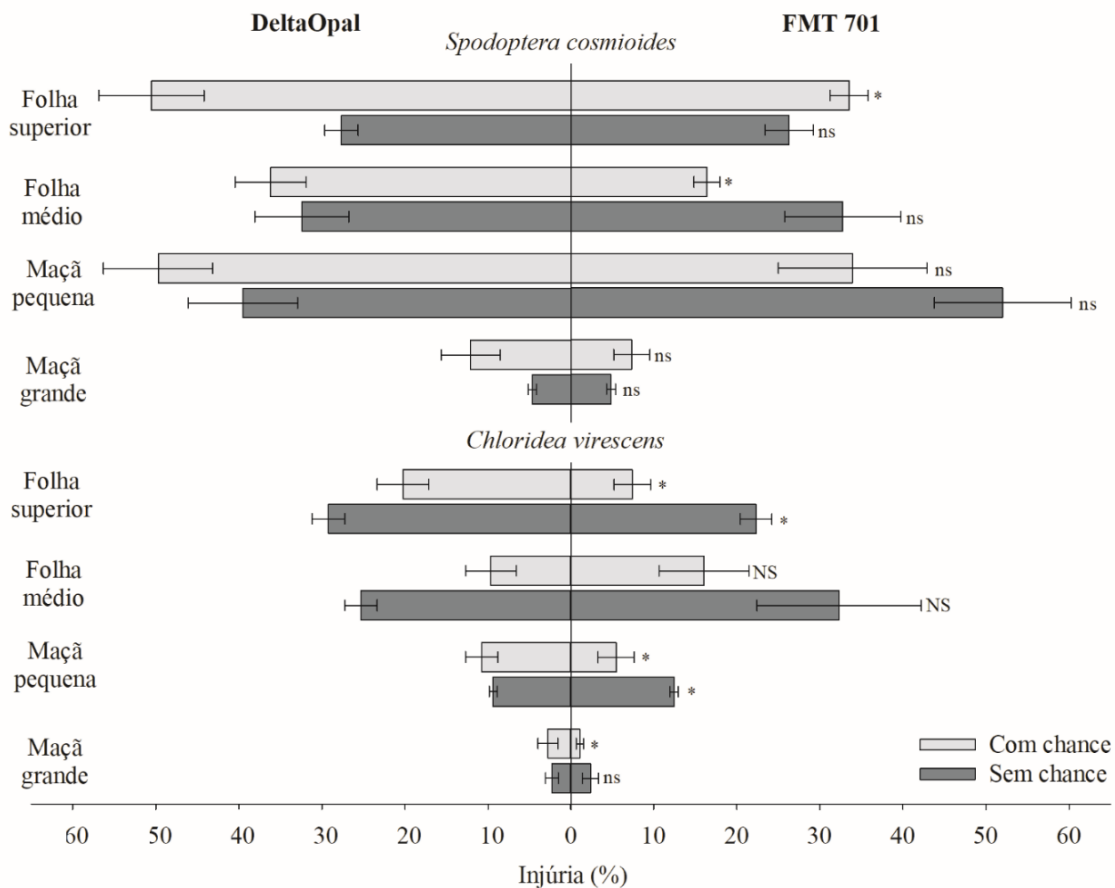


Figura 1. Injúria (%) em folhas da parte superior, folhas da parte mediana, maçãs pequenas e maçãs grandes de genótipos de algodoeiro por lagartas de *Spodoptera cosmioides* e *Chloridea virescens*, em testes com e sem chance de escolha. \*Significativo pelo teste *t* de Student ( $P < 0.05$ ); <sup>ns</sup>Não significativo pelo teste *t* de Student ( $P < 0.05$ ); \*\*Significativo pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0.05$ ); <sup>NS</sup>Não significativo pelo teste de Wilcoxon ( $P < 0.05$ ).

Dessa forma, para lagartas de *S. cosmioides* no teste subsequente foram utilizadas folhas da parte mediana, enquanto para lagartas de *C. virescens* foram utilizadas folhas da parte superior das plantas.

### 3.3. Experimento III: Idade da planta

Em teste com chance de escolha para lagartas de *S. cosmioides* (Tabela 3) constatou-se diferença significativa entre as idades da planta ( $F_{2, 36} = 9.46$ ;  $P = 0.0005$ ) e as cultivares ( $F_{1, 9} = 5.92$ ;  $P = 0.0378$ ), em que a cultivar suscetível, DeltaOpal, e plantas em estágio de botão floral foram mais consumidas. Entretanto, não se observou efeito significativo para a interação entre genótipo e idade da planta ( $F_{2, 36} = 0.31$ ;  $P = 0.7384$ ). Em teste sem chance de escolha (Tabela 3), não houve diferença entre as cultivares ( $F_{1, 54} = 2.85$ ;  $P = 0.0972$ ); entretanto, houve diferença na interação entre genótipo e idade das plantas ( $F_{2, 54} = 5.73$ ;  $P = 0.0055$ ) e as idades ( $F_{2, 54} = 9.17$ ;  $P = 0.0004$ ) e. Tanto em DeltaOpal ( $F_{2, 54} = 4.14$ ;  $P = 0.0212$ ) quanto em FMT 701 ( $F_{2, 54} = 10.76$ ;  $P = 0.0001$ ) o maior consumo foliar se deu em discos foliares provenientes de plantas em estágio de botão floral. No entanto, apenas em discos foliares oriundos de plantas em florescimento ( $F_{1, 54} = 13.37$ ;  $P = 0.0009$ ) foi possível diferenciar os níveis de resistência entre os dois genótipos.

Tabela 3. Área foliar consumida ( $\text{cm}^2$ ;  $\pm\text{EP}$ ) por lagartas de *Spodoptera cosmioides* em discos foliares de genótipos de algodão com diferentes idades, em testes com e sem chance de escolha.

Idade	Com chance <sup>a</sup>			Sem chance		
	Suscetível	Resistente	Média	Suscetível	Resistente	Média
Botão floral	2,19 $\pm$ 0,36aA	1,87 $\pm$ 0,29aA	2,03 $\pm$ 0,23a	2,55 $\pm$ 0,29aA	2,33 $\pm$ 0,27aA	2,44 $\pm$ 0,19a
Florescimento	1,01 $\pm$ 0,19bA	0,64 $\pm$ 0,19bA	0,83 $\pm$ 0,14b	2,03 $\pm$ 0,28abA	0,85 $\pm$ 0,19bB	1,44 $\pm$ 0,21b
Capulho	1,34 $\pm$ 0,24abA	1,28 $\pm$ 0,24abA	1,31 $\pm$ 0,17ab	1,58 $\pm$ 0,13bA	1,99 $\pm$ 0,23aA	1,79 $\pm$ 0,14b
Média	1,51 $\pm$ 0,18A	1,27 $\pm$ 0,16B		2,06 $\pm$ 0,15A	1,73 $\pm$ 0,18A	

Médias com diferentes letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha são significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) pelo teste de Tukey. <sup>a</sup>Dados transformados em  $\sqrt{x}$ .

Para as lagartas de *C. virescens* (Tabela 4), em teste com chance de escolha, houve diferença no consumo entre os dois genótipos ( $F_{1, 9} = 6.36$ ;  $P = 0.0352$ ), em que DeltaOpal foi mais consumido em comparação a FMT 701. Porém não se observou diferença de consumo pelas lagartas em relação às idades fenológicas ( $F_{2, 36} = 2.45$ ;  $P = 0.1006$ ), assim como não houve interação significativa entre genótipos e idades fenológicas ( $F_{2, 36} = 1.02$ ;  $P = 0.37000$ ). Para o teste sem chance de escolha, houve efeito significativo para a interação entre genótipos e idade da planta ( $F_{2, 54} = 3.33$ ;  $P = 0.0431$ ), em que na cultivar DeltaOpal houve maior consumo pelas lagartas

no estágio de botão floral ( $F_{2, 54} = 10.81$ ;  $P = 0.0001$ ), enquanto em FMT 701 não houve diferença de consumo pelas lagartas de *C. virescens* entre os estádios fenológicos avaliados ( $F_{2, 54} = 1.86$ ;  $P = 0.1656$ ). Houve também diferenças significativas foram observadas quanto às idades ( $F_{2, 54} = 9.34$ ;  $P = 0.0003$ ), sendo o maior consumo observado em discos foliares oriundos de plantas em estágio de botão floral; porém, não houve efeito significativo entre genótipos ( $F_{1, 54} = 0.64$ ;  $P = 0.4274$ ). Com relação a idade da planta apenas quando utilizado discos foliares oriundos de plantas de algodão em botão floral foi possível distinguir os dois genótipos quanto seus respectivos níveis de resistência à *C. virescens* ( $F_{1, 54} = 5.51$ ;  $P = 0.0226$ ).

Tabela 4. Área foliar consumida ( $\text{cm}^2$ ;  $\pm\text{EP}$ ) por lagartas de *Chloridea virescens* em discos foliares de genótipos de algodão com diferentes idades, em testes com e sem chance de escolha.

Idade	Com chance <sup>a</sup>			Sem chance <sup>a</sup>		
	Suscetível	Resistente	Média	Suscetível	Resistente	Média
Botão floral	1,77 $\pm$ 0,05aA	1,59 $\pm$ 0,06aB	1,68 $\pm$ 0,04a	1,55 $\pm$ 0,42aA	0,60 $\pm$ 0,21aB	1,07 $\pm$ 0,25a
Florescimento	1,77 $\pm$ 0,10aA	1,65 $\pm$ 0,0aA	1,71 $\pm$ 0,06a	0,21 $\pm$ 0,14bA	0,43 $\pm$ 0,17aA	0,32 $\pm$ 0,11b
Capulho	1,64 $\pm$ 0,05aA	1,55 $\pm$ 0,05aA	1,60 $\pm$ 0,04a	0,15 $\pm$ 0,04bA	0,13 $\pm$ 0,06aA	0,14 $\pm$ 0,04b
Média	1,73 $\pm$ 0,04a	1,60 $\pm$ 0,03B		0,64 $\pm$ 0,19a	0,39 $\pm$ 0,10a	

Médias com diferentes letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha são significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) pelo teste de Tukey. <sup>a</sup>Dados transformados em  $(x + 1)^2$ .

#### 4. Discussão

Para a realização desse tipo de estudo, algumas questões como a escolha das cultivares e dos fatores a serem avaliados, devem ser levadas em consideração e analisadas previamente com objetivo de minimizar possíveis erros na seleção de genótipos, cultivares e/ou linhagens resistentes. Primeiramente, é essencial selecionar genótipos que possuam níveis de resistência contrastantes descritos para algum herbívoro com hábitos alimentares semelhantes ao que será objeto de estudo, enquanto os fatores a serem avaliados devem ser aqueles que potencialmente vão interferir sobre a expressão de resistência (Reynolds e Smith, 1985; Boiça Júnior et al., 2015a; Freitas et al., 2018). A adoção desses critérios possibilita maior confiança sobre os resultados e torna mais evidente a influência dos fatores avaliados sobre a expressão da resistência.

Por conta disso, neste estudo foram selecionados os fatores de densidade larval, estrutura vegetal e idade das plantas que conhecidamente interferem na expressão de resistência (Smith, 2005), bem como as cultivares DeltaOpal e FMT 701, que respectivamente são suscetível e resistente a *S. frugiperda*, uma praga generalista, e *A. argillacea*, uma praga especialista do algodoeiro (Boiça Júnior et al., 2012; Jesus et al., 2014).

O experimento I demonstrou que a densidade de duas lagartas de *S. cosmioides* e uma lagarta de *C. virescens* por disco foliar foram mais adequadas para distinguir os dois genótipos de algodão em resistente e suscetível. Identificar a densidade ideal de insetos é essencial para o sucesso dos estudos de RPI, uma vez que densidades inadequadas podem super ou subestimar possíveis níveis de resistência (Harris, 1979; Smith, 2005). Tal fato pôde ser verificado neste estudo em que, embora a liberação de três lagartas de *S. cosmioides* (Tabela 1) e duas ou três lagartas de *C. virescens* (Tabela 2) por disco foliar tenham resultado em maior área foliar consumida, não houve diferenciação entre as cultivares quanto aos níveis de resistência.

A diferença da densidade ótima a ser utilizada de acordo com a espécie avaliada, provavelmente, está relacionada a fatores comportamentais da espécie. As lagartas de *C. virescens*, por exemplo, se tornam agressivas quando incomodadas por outra lagarta e estão propensas inclusive ao canibalismo (Gould et al., 1980), podendo assim interferir negativamente na distinção entre genótipos resistentes e suscetíveis, como observado quando foram utilizadas as densidades de duas e três lagartas por disco foliar. Boiça Júnior et al. (2015a) avaliando a resistência de genótipos de soja a *S. frugiperda*, que também apresenta comportamento de canibalismo, observaram que a utilização de uma lagarta por disco foliar permite melhor diferenciação entre genótipos resistentes e suscetíveis. Já para as lagartas de *S. cosmioides*, não se tem conhecimento sobre esse tipo de comportamento, porém, de acordo com Santos et al. (2010) a fase larval necessita ingerir uma grande quantidade de alimento para seu desenvolvimento; assim pode haver competição por alimento se forem adotadas em testes de RPI densidade superior à ideal.

Densidades muito elevadas podem rapidamente ocasionar injúrias em genótipos suscetíveis, reduzindo o período de avaliação nos testes e impossibilitando

a identificação de materiais moderadamente resistentes (Bosque-Pérez e Schotzko, 2000). Por outro lado, o uso de densidades larvais inferiores ao ideal pode prolongar o período de avaliação sem que se tenha injúria suficiente para distinguir os níveis de resistência entre as cultivares. Além disso, vão ocorrendo modificações metabólicas nos tecidos foliares excisados com o decorrer do tempo (Singh et al., 1973), que podem interferir no consumo do herbívoro.

Com relação às estruturas vegetais, o uso de folhas da parte superior e da parte mediana das plantas possibilitaram diferenciar as cultivares em resistente suscetível a *S. cosmioides*, em teste com chance de escolha (Figura 1). Entretanto, menor porcentagem de injúria na cultivar FMT 701 foi verificada quando foram utilizadas folhas da parte mediana da planta em teste com chance de escolha, permitindo, assim, sua melhor discriminação em relação à cultivar suscetível, DeltaOpal. Para os testes com lagartas de *C. virescens*, os melhores resultados foram obtidos utilizando de folhas da parte superior da planta (Figura 1).

De acordo com (Schoonhoven et al., 2005), os insetos generalistas, como o caso de *S. cosmioides*, possuem maior preferência por folhas mais velhas das parte mais inferiores das plantas, enquanto insetos especialista, como *C. virescens*, preferem as folhas mais novas da parte superior da planta. Na parte apical da planta acumulam-se maiores concentrações de compostos secundários que podem ser específicos de cada espécie de planta e serem nocivos aos insetos, no entanto, os insetos especialistas estão adaptados e esses compostos não acarretam danos significativos ao seu desenvolvimento.

O conhecimento desse do comportamento das espécies de insetos deve ser levado em consideração e associado aos estudos de RPI. As mariposas de *S. cosmioides* têm preferência em ovipositar na parte mediana e inferior de algodoeiro (Silva et al., 2017), enquanto a oviposição de *C. virescens* ocorre preferencialmente em folhas apicais da planta (Hillhouse e Pitre, 1976). Dessa forma, os resultados obtidos nesse estudo possibilitarão que sejam selecionados com maior precisão genótipos, cultivares e/ou linhagens com característica de resistência que vão auxiliar no controle dessas lagartas recém-eclodidas, uma vez que as estruturas vegetais utilizadas nos testes de RPI são exatamente as que as mariposas possuem maior preferência de oviposição.

A maior quantidade de recursos associados à defesa da planta estão alocados nos tecidos mais jovens, de acordo com a teoria da ótima defesa (Mckey, 1979), justificando a melhor distinção entre materiais resistentes e suscetíveis de algodoeiro a *C. virescens* quando utilizadas folhas da parte superior. Em plantas de algodão há acúmulo de taninos condensados, flavonoides, antocianinas e terpenoides aldeídos como gossipol, hemigossipol, hemigossipolene e heliocidas, que variam de acordo com a espécie de *Gossypium* ou com o genótipo, e interferem negativamente no comportamento e/ou desenvolvimento de diversos herbívoros, ocasionando, por exemplo, menor consumo pelas lagartas, maior mortalidade e período de desenvolvimento (Hedin et al., 1991; Hedin et al., 1992; Meyer et al., 2004; Wu et al., 2010). Porém, em relação a *S. cosmioides*, o menor consumo foliar nos discos foliares oriundos da parte mediana da planta de algodão com características de resistência pode estar relacionado aos maiores teores de fibras, como a lignina, que apresenta níveis mais elevados nos tecidos mais velhos das plantas (Coley et al., 1985). Além disso, questões relacionadas a fatores nutricionais (Ishaaya, 1986; Hedin et al., 1991; Huber et al., 2012) e aos compostos do metabolismo secundário da planta (Bennett e Wallsgrove, 1994) podem influenciar a interação inseto-planta nos diferentes estratos da planta e, conseqüentemente, interferir na expressão de resistência.

Embora *S. cosmioides* apresente grande potencial em ocasionar injúrias em maçãs (Santos et al., 2010), como observado neste estudo em que causaram injúrias acima de 30% em maçãs pequenas dos dois genótipos, e *C. virescens* também incidir principalmente em maçãs (Papa e Celoto, 2014), a utilização dessa estrutura reprodutiva do algodoeiro não permitiu diferenciar as cultivares em relação a seus níveis de resistência, exceto para *C. virescens* quando utilizado maçãs grande, porém com baixa porcentagem de injúria. Caso seja do interesse em realizar estudos de RPI utilizando as maçãs do algodoeiro, tanto para *S. cosmioides* quanto para *C. virescens*, outros estudos devem ser realizados, porém, será necessário empregar lagartas em ínstares mais avançados para que se tenha mais consumo durante o tempo usado no ensaio.

Com relação às idades fenológicas de algodoeiro, foi observado maior preferência alimentar das lagartas de ambas as espécies por plantas em estágio de botão floral (Tabela 3 e 4). Porém, utilizando plantas nessa idade fenológica foi



possível diferenciar as cultivares quanto a seus níveis de resistência apenas em relação a *C. virescens*. Para lagartas de *S. cosmioides*, a melhor distinção entre os dois genótipos ocorreu em plantas em estágio de florescimento.

Associando os resultados da estrutura vegetal (experimento II) e idade fenológica (experimento III), sabe-se que os teores de fibras nas folhas mais velhas aumentam de acordo com o desenvolvimento da planta (Hedin et al., 1992). Assim, possivelmente as folhas da parte mediana das plantas da cultivar resistente, FMT 701, apresentam maiores teores de fibras no estágio de florescimento comparado à cultivar suscetível, DeltaOpal. Ao mesmo tempo que as plantas no estágio de capulho podem apresentar elevado acúmulo de fibras impossibilitando discernir os níveis de resistência das cultivares. Já as plantas em estágio de botão floral são mais adequadas aos estudos de antixenose em algodoeiro a *C. virescens*, provavelmente pelos maiores teores de terpenoides, especialmente heliocidas e hemigossipolene, nas folhas apicais da cultivar resistente (Stipanovic et al., 1988; Bezemer et al., 2004; Hagenbucher et al., 2013).

Os resultados obtidos com esse trabalho enfatizam a importância de estudos investigando a influência de fatores relacionados à planta e ao inseto sobre a expressão de resistência de plantas antes da seleção de genótipos resistentes. Além disso, as informações sobre a estrutura vegetal e a idade da planta mais preferidas para ambas as espécies também podem contribuir para o manejo destas pragas em campo, identificando hábitos alimentares e períodos de maior suscetibilidade da planta.

A densidade larval, a estrutura vegetal e idade fenológica da planta influenciaram diretamente a expressão de resistência de plantas de algodoeiro, no entanto, cada fator interferiu distintamente de acordo com o inseto-praga, por isso a necessidade de realizar estudos específicos para cada espécie. Assim, este trabalho oferece suporte para o estabelecimento de um protocolo de “screening” a ser empregado em estudos de resistência de algodoeiro a *S. cosmioides* e *C. virescens*, que devem ser realizados de forma criteriosa e em igualdade de condições. Enfim, conclui-se que a utilização de duas lagartas por discos foliares, oriundos de folhas da parte mediana de plantas em estágio de florescimento para *S. cosmioides*, e de uma lagarta por disco foliar de folhas da parte superior de plantas em estágio de botão

floral para *C. virescens* promoveram melhor distinção entre os níveis de resistência, e devem ser empregados em testes de antixenose de genótipos de algodão para esses insetos-praga.

## 5. Referências

- Bennett RN, Wallsgrave RM (1994) Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New Phytologist** 127:617-633. doi:10.1111/j.1469-8137.1994.tb02968.x
- Bezemer TM, Wagenaar R, van Dam NM, van Der Putten WH, Wäckers FL (2004) Above- and below-ground terpenoid aldehyde induction in cotton, *Gossypium herbaceum*, following root and leaf injury. **Journal of Chemical Ecology** 30:53-67. doi:10.1023/B:JOEC.0000013182.50662.2a
- Boiça Júnior AL, Souza BHS, Costa EN, Paiva LB (2017) Influence of fall armyworm previous experience with soybean genotypes on larval feeding behavior. **Arthropod-Plant Interactions** 11:89-97. doi:10.1007/s11829-016-9469-1
- Boiça Júnior AL, Jesus FGd, Janini JC, Silva AGd, Alves GCS (2012) Resistance of cotton varieties to the leafworm *Alabama argillacea* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Ceres** 59:48-55. doi:10.1590/S0034-737X2012000100007
- Boiça Júnior AL, De Souza BHS, Costa EN, Ribeiro ZA, Stout MJ (2015a) Factors influencing expression of antixenosis in soybean to *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** 108:317-325. doi:10.1093/jee/tou007
- Boiça Júnior AL, Souza BHS, Ribeiro ZA, Moraes RFO, Eduardo WI, Nogueira L (2015b) A defesa das plantas ao ataque dos insetos. In.: Busoli AC, Castilho RdC, Andrade DJ, Rossi GD, Viana DL, Fraga DF, Souza LA (eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola - VIII**. Jaboticabal-SP: Maria de Lourdes Brandel - ME, p. 161-180.
- Bosque-Pérez NA, Schotzko DJ (2000) Wheat genotype, early plant growth stage and infestation density effects on russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) population increase and plant damage. **Journal of Entomological Science** 35:22-38. doi:10.18474/0749-8004-35.1.22

- Coley PD, Bryant JP, Chapin FS (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science** 230:895-899. doi:10.1126/science.230.4728.895
- Davis FM (1985) Entomological techniques and methodologies used in research programmes on plant resistance to insects. **International Journal of Tropical Insect Science** 6:391-400. doi:10.1017/S1742758400004689
- Freitas MM, Souza BHS, Nogueira L, Di Bello MM, Boiça Júnior AL (2018) Soybean defense induction to *Spodoptera cosmioides* herbivory is dependent on plant genotype and leaf position. **Arthropod-Plant Interactions** 12:85-96. doi:10.1007/s11829-017-9556-y
- Gould F, Holtzman G, Rabb RL, Smith M (1980) Genetic variation in predatory and cannibalistic tendencies of *Heliothis virescens* Strains. **Annals of the Entomological Society of America** 73:243-250. doi:10.1093/aesa/73.3.243
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean Caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology** 69:487-488. doi:10.1093/jee/69.4.487
- Hagenbucher S, Wäckers Felix L, Wettstein Felix E, Olson Dawn M, Ruberson John R, Romeis J (2013) Pest trade-offs in technology: reduced damage by caterpillars in Bt cotton benefits aphids. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** 280:20130042. doi:10.1098/rspb.2013.0042
- Harris MK (1979) Arthropod-plant interactions related to agriculture, emphasizing host plant resistance. In.: Harris MK (ed.) **Biology and breeding for resistance to arthropods and pathogens in agricultural plants**. College Station, TX, USA: Texas A & M University, p. 23-51.
- Hedin PA, Parrott WL, Jenkins JN (1991) Effects of cotton plant allelochemicals and nutrients on behavior and development of tobacco budworm. **Journal of Chemical Ecology** 17:1107-1121. doi:10.1007/bf01402937
- Hedin PA, Parrott WL, Jenkins JN (1992) Relationships of glands, cotton square terpenoid aldehydes, and other allelochemicals to larval growth of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** 85:359-364. doi:10.1093/jee/85.2.359

- Hillhouse TL, Pitre HN (1976) Oviposition by *Heliothis* on soybeans and cotton. **Journal of Economic Entomology** 69:144-146. doi:10.1093/jee/69.2.144
- Huber D, Römheld V, Weinmann M (2012) Relationship between nutrition, plant diseases and pests. In.: Marschner P (ed.) **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. London, UK: Elsevier Ltd., p. 283-298.
- Ishaaya I (1986) Nutritional and allelochemic insect-plant interactions relating to digestion and food intake: some examples In.: Miller JR, Miller TA (eds.) **Insect-plant interactions**. New York: Springer Science+Business Media, p. 191-224.
- Jesus FGd, Boiça Junior AL, Alves GCS, Busoli AC, Zanuncio JC (2014) Resistance of cotton varieties to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Colombiana de Entomología** 40:158-163.
- Marur CJ, Ruano O (2001) A reference system for determination of developmental stages of upland cotton. **Revista de Oleaginosas e Fibrosas** 5:313-317.
- McKey D (1979) The distribution of secondary compounds within plants. In.: Rosenthal GA, Jansen DH (eds.) **Herbivores-their interaction with secondary plant metabolites**. New York, USA: Academic Press, p. 55-134.
- Meyer R, Vorster S, Dubery IA (2004) Identification and quantification of gossypol in cotton by using packed micro-tips columns in combination with HPLC. **Analytical and Bioanalytical Chemistry** 380:719-724. doi:10.1007/s00216-004-2817-5
- Mitchell C, Brennan RM, Graham J, Karley AJ (2016) Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. **Frontiers in Plant Science** 7:Article 1132. doi:10.3389/fpls.2016.01132
- Painter RH (1958) Resistance of plants to insects. **Annual Review of Entomology** 3:267-290. doi:10.1146/annurev.en.03.010158.001411
- Papa G, Celoto FJ (2014) Manejo de pragas. In.: Borém A, Freire EC (eds.) **Algodão: do plantio à colheita**. Viçosa, MG, Brazil: Editora UFV, p. 217-249.

- Rasband W 1997.** ImageJ Software computer program, version 1.8.0. By Rasband W, Bethesda, MD.
- Reynolds GW, Smith CM (1985) Effects of leaf position, leaf wounding, and plant age of two soybean genotypes on soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) growth. **Environmental Entomology** 14:475-478. doi:10.1093/ee/14.4.475
- Santos KB, Meneguim AM, Santos WJ, Neves PMOJ, Santos RB (2010) Caracterização dos danos de *Spodoptera eridania* (Cramer) e *Spodoptera cosmioides* (Walker)(Lepidoptera: Noctuidae) a estruturas de algodoeiro. **Neotropical Entomology** 39:626-631. doi:10.1590/s1519-566x2010000400025
- Sas Institute 2013.** Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures computer program, version 9.4. By Sas Institute, Cary, NC.
- Schoonhoven LM, van Loon JJA, Dicke M (2005) **Insect-plant biology**. Hampshire: Oxford University Press on Demand, pp.
- Silva DMd, Bueno AdF, Stecca CdS, Andrade K, Neves PMOJ, Oliveira MCNd (2017) Biology of *Spodoptera eridania* and *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) on different host plants. **Florida Entomologist** 100:752-760. doi:10.1653/024.100.0423
- Singh TN, Aspinall D, Paleg LG, Boggess S (1973) Stress Metabolism II. Changes in proline concentration in excised plant tissues. **Australian Journal of Biological Sciences** 26:57-64. doi:10.1071/BI9730057
- Smith CM (2005) **Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches**. Dordrecht: Springer, 421 pp.
- Stipanovic RD, Altman DW, Begin DL, Greenblatt GA, Benedict JH (1988) Terpenoid aldehydes in upland cottons: analysis by aniline and HPLC methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 36:509-515. doi:10.1021/jf00081a026
- Stout MJ (2013) Reevaluating the conceptual framework for applied research on host-plant resistance. **Insect Science** 20:263-272. doi:10.1111/1744-7917.12011

Wu G, Guo J-Y, Wan F-H, Xiao N-W (2010) Responses of three successive generations of beet armyworm, *Spodoptera exigua*, fed exclusively on different levels of gossypol in cotton leaves. **Journal of Insect Science** 10:Article 165. doi:10.1673/031.010.14125

### **CAPÍTULO 3 – Resistência constitutiva de cultivares de algodão a *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae)**

**RESUMO** – A incidência e os danos ocasionados por *Spodoptera cosmioides* (Walker) na cotonicultura brasileira têm aumentado significativamente nas últimas safras, porém, ainda são poucas as informações para o controle dessa praga. Nesse trabalho foram avaliados a influência de diferentes cultivares de algodão sobre o comportamento de alimentação e o desenvolvimento biológico de *S. cosmioides*, visando selecionar materiais resistentes. As cultivares de algodão avaliados foram os seguintes: BRS 286, BRS 293, BRS 335, BRS 336, BRS 368 RF, BRS 372, DeltaOpal, FMT 701, FMT 707, FMT 709, FM 910 e FM 993. A preferência alimentar foi avaliada por testes com e sem chance de escolha, avaliando a porcentagem de lagartas presentes nos discos foliares e a área foliar consumida (AFC, cm<sup>2</sup>). O desenvolvimento biológico foi avaliado por parâmetros de crescimento, como peso, período de desenvolvimento e sobrevivência nos diferentes estágios do ciclo de vida, além dos índices nutricionais das lagartas. As cultivares BRS 368 RF e FM 993 foram deterrentes, já BRS 293, BRS 372, e FMT 707 foram as mais estimulantes. Em BRS 293, BRS 335 e FMT 707 as lagartas consumiram menos e foram observados efeitos negativos no desenvolvimento, refletindo em menores índices de adaptação. Em DeltaOpal foi observado maior AFC e taxa de consumo relativo (RCR), porém, reduzida viabilidade larval e de pupas e baixo índice de adaptação, devido possivelmente às propriedades nutricionais, uma vez que a eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) e digerido (ECD) foram baixos. Dessa forma, BRS 293, BRS 335, FMT 707 e DeltaOpal foram moderadamente resistentes e FM 910 altamente suscetível quanto à resistência constitutiva a *S. cosmioides*.

**Palavras-chave:** antibiose, antixenose, lagarta-preta, resistência de plantas a insetos

### CHAPTER 3 – Constitutive resistance of cotton cultivars to *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton cultivars

**ABSTRACT** – The incidence and damage caused by *Spodoptera cosmioides* (Walker) in the Brazilian cotton crop have increased significantly in recent seasons, but there is still little information to control this pest in the crop. In this work we evaluated the influence of different cotton cultivars on feeding behavior and biological development of *S. cosmioides*, aiming to select resistant cultivars. The cotton cultivars evaluated were: BRS 286, BRS 293, BRS 335, BRS 336, BRS 368 RF, BRS 372, DeltaOpal, FMT 701, FMT 707, FMT 709, FM 910 and FM 993. Feeding preference was evaluated by free- and no-choice tests, evaluating the percentage of larvae in each genotype and the leaf area consumed (LAC, cm<sup>2</sup>). While biological development was evaluated through growth parameters such as weight, period of development and survival in different stages of the life cycle, in addition to the nutritional indices of larvae. BRS 368 RF and FM 993 cultivars were deterrent, while BRS 293, BRS 372, and FMT 707 were stimulant. However, in BRS 293, BRS 335 and FMT 707 the larvae consumed less and negative effects on development were observed, reflecting in lower fitness index. Larvae fed in DeltaOpal had higher leaf area consumed and relative consumption rate (RCR) but reduced larval and pupae viability and low fitness index, possibly due to nutritional inadequacies, since the efficiency of conversion of the ingested (ECI) and digested food (ECD) were low. Thus BRS 293, BRS 335, FMT 707 and DeltaOpal were moderately resistant and FM 910 highly susceptible.

**Keywords:** antibiosis, antixenosis, black armyworm, host plant resistance



## 1. Introdução

A espécie *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) é nativa da América do Sul e pode incidir sobre uma ampla gama de plantas hospedeiras que incluem 40 famílias e mais de 126 espécies de plantas, sendo muitas destas plantas cultivadas e de grande importância econômica como amendoim (*Arachis hypogaea* L.), soja [*Glycine max* (L.) Merril.], feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), milho (*Zea mays* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), algodão (*Gossypium* spp.) e outras (Specht e Roque-Specht, 2016).

Essa polifagia tem contribuído para a rápida adaptação de *S. cosmioides* nas principais áreas produtoras agrícolas, onde se observa aumento de sua incidência, ocasionando danos em culturas que são “commodities”, como soja e algodão, sendo estas as culturas mais adequadas para seu desenvolvimento (Silva et al., 2017). Além disso, outros fatores têm contribuído para o aumento da ocorrência dessa praga, tais como: a alta adoção de plantas geneticamente modificadas através da inserção de genes de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), as quais não tem como alvo *S. cosmioides* e apresentam baixa toxicidade a essa espécie (Santos et al., 2009; Blanco et al., 2016; Silva et al., 2016); a sucessão de cultivos que ocorre nessas áreas produtoras com culturas que são hospedeiras da praga (Santos et al., 2010; Bueno et al., 2013); e, para a cultura do algodão ainda não se dispõem de inseticidas com registro para controle dessa espécie (Agrofit, 2019). Essas questões dificultam o manejo de *S. cosmioides* no campo e aumentam o custo de produção do algodoeiro.

Em plantas de algodão, as lagartas de *S. cosmioides* possuem alto potencial de dano, devido à desfolha ocasionada pelas lagartas de instares iniciais e principalmente por incidirem nas estruturas reprodutivas à medida que se desenvolvem, de modo que cada lagarta ocasiona perfurações em cerca de cinco botões florais e três maçãs (Santos et al., 2010; Papa e Celoto, 2014; Silva et al., 2017). Diante da importância dessa praga e dos diversos fatores que favorecem sua ocorrência no campo são necessárias medidas que visam reduzir os danos ocasionados por esse inseto-praga através de diferentes táticas e estratégias inseridas no manejo integrado de pragas (MIP).

Para isso tem se intensificado estudos básicos e aplicados, dentre os quais se destacam a determinação do potencial biótico (Specht e Roque-Specht, 2019), identificação de feromônios sexuais para serem utilizados principalmente no monitoramento das mariposas (Blassioli-Moraes et al., 2016), seleção de plantas hospedeiras as quais *S. cosmioides* é menos adaptada para serem utilizadas em rotação de culturas (Silva et al., 2017), prospecção e utilização de inimigos naturais (Goulart et al., 2011; Pomari et al., 2013; Freitas et al., 2019), avaliação da suscetibilidade à inseticidas (Lutz et al., 2018), dentre outros.

Outra tática de controle que possui destaque em programas de MIP é a resistência de plantas a insetos, que pode ser constitutiva quando é permanentemente expressa na planta e/ou induzida quando desencadeada por algum fator estressante. Características físicas, morfológicas e/ou químicas da própria planta podem interferir no comportamento e/ou desenvolvimento biológico de determinados herbívoros e reduzir sua população para níveis inferiores ao de dano econômico. (Painter, 1958; Stout, 2013; Mitchell et al., 2016). Portanto, é essencial identificar genótipos resistentes para serem incorporados em programas de MIP. Assim, neste trabalho foi avaliado a influência de diferentes cultivares de algodão sobre o comportamento de alimentação, desenvolvimento e aspectos nutricionais de *S. cosmioides*, visando selecionar cultivares resistentes constitutivamente.

## **2. Material e métodos**

Os experimentos foram realizados em laboratório sob condições controladas ( $26 \pm 2^\circ \text{C}$ ;  $70 \pm 10\% \text{UR}$ ; fotoperíodo de 12 h L:12 h E), avaliando 12 cultivares de algodão, os quais possuem histórico de resistência/suscetibilidade para outras espécies-praga em literatura e/ou são utilizados comercialmente na cotonicultura brasileira (Tabela 1). Para avaliação da resistência desses materiais a *S. cosmioides* foram realizados bioensaios avaliando o comportamento de alimentação em testes com e sem chance de escolha, o desenvolvimento por meio do acompanhamento do ciclo biológico e avaliação dos aspectos nutricionais das lagartas alimentadas com folhas das cultivares.

Tabela 1. Cultivares de algodão, procedência, ciclo e histórico de resistência dos materiais avaliados quanto à resistência a *Spodoptera cosmioides*.

Cultivar	Procedência	Ciclo (dias)	Histórico de resistência
BRS 286	Embrapa	Precoce (150)	Não avaliado
BRS 293	Embrapa	Médio (160)	Não avaliado
BRS 335	Embrapa	Médio (160)	Não avaliado
BRS 336	Embrapa	Médio (170-190)	Não avaliado
BRS 368 RF	Embrapa	Médio (160-170)	Não avaliado
BRS 372	Embrapa	Médio (170-190)	Não avaliado
DeltaOpal	D&PL Brasil Ltda	Médio (160)	Suscetível a <i>Alabama argillacea</i> (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) (Boiça Júnior et al., 2012) e <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1757) (Lepidoptera: Noctuidae) (Jesus et al., 2014)
FMT 701	Fundação MT	Médio (160)	Antixenose e/ou antibiose a <i>A. argillacea</i> (Boiça Júnior et al., 2012) e <i>S. frugiperda</i> (Jesus et al., 2014)
FMT 707	Fundação MT	Médio (160)	Não avaliado
FMT 709	Fundação MT	Tardio (160-190)	Não avaliado
FMX 910	Bayer S.A.	Tardio (160-190)	Antibiose a <i>A. argillacea</i> (Boiça Júnior et al., 2012)
FMX 993	Bayer S.A.	Médio (150-180)	Suscetível a <i>Chrysodeixis includens</i> (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) (Funichello et al., 2013)

## 2.1. Insetos e plantas

Para os experimentos foram utilizadas lagartas de *S. cosmioides* da 22ª geração de uma colônia de laboratório mantida em dieta artificial (Greene et al., 1976) no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos da UNESP - Jaboticabal. A colônia de *S. cosmioides* foi iniciada com ovos provenientes da criação do Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP, Piracicaba, SP, Brasil, sendo que anualmente foram adicionados indivíduos coletados a campo para manutenção da diversidade genética. Os ovos foram mantidos em recipientes plásticos (diâmetro 12 cm; altura 9,5 cm) até a eclosão das lagartas, quando aproximadamente 200 lagartas recém eclodidas foram transferidas para recipientes plásticos (diâmetro 12 cm; altura 9,5 cm) contendo dieta artificial, onde permaneciam por sete dias. Posteriormente, foram utilizados recipientes plásticos (diâmetro 8,5 cm; altura 5 cm) contendo dieta artificial, sendo transferidas duas lagartas para cada recipiente. As lagartas permaneciam nos recipientes até a fase de pupa, quando foram removidas, sexadas e colocadas em caixa do tipo gerbox (comprimento 11 cm; largura 11 cm; altura 3,5 cm) até a emergência dos adultos. Doze casais de adultos recém emergidos foram colocados

em gaiolas de oviposição (diâmetro 10 cm; altura 20 cm) cobertas com tecido “voile” e revestidas internamente com papel sulfite como substrato para oviposição. No fundo das gaiolas foram colocados pratos plásticos (diâmetro 12 cm) forrados com papel sulfite. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% (água/volume), a qual era embebida em algodão hidrofílico e colocado em recipientes plásticos (diâmetro 3,5 cm; altura 0,5 cm) colocados no interior da gaiola de oviposição. Diariamente foi realizada a retirada dos ovos e armazenados em recipientes conforme descrito anteriormente.

As cultivares de algodão foram semeados em vasos com capacidade de 12 L, contendo substrato composto por solo, esterco bovino curtido e areia, na proporção de 3:1:1, respectivamente. Foram semeadas seis sementes por vasos e posteriormente realizado o desbaste deixando três plantas por vaso, os quais foram mantidos em casa de vegetação vedada com tela anti-afídeo e irrigados sempre que necessário.

## **2.2. Atratividade e preferência alimentar**

Os experimentos de atratividade e preferência alimentar foram realizados através de testes com e sem chance de escolha, utilizando lagartas de terceiro ínstar de *S. cosmioides* e discos foliares (diâmetro 3 cm) oriundos de folhas da parte mediana de plantas de algodão em fase de florescimento (F1) (Marur e Ruano, 2001), cortados com vazador metálico. Para o teste com chance de escolha, os discos foliares dos 12 cultivares foram distribuídos de forma equidistante nas extremidades de arenas (recipientes circular de alumínio, com 35 cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido e liberadas duas lagartas por genótipo no centro da arena, totalizando 24 lagartas por arena. Para o teste sem chance de escolha, os discos foliares foram individualizados em placas de Petri (diâmetro 9 cm) forradas com papel filtro umedecido onde foram liberadas duas lagartas em cada placa.

As lagartas permaneceram se alimentando até que um disco foliar em uma das repetições tivesse cerca de 80% da área foliar consumida. Dessa forma, a atratividade foi determinada através do número de lagartas presentes em cada disco foliar nos tempos de 10, 20, 30, 60, 120, 360 e 540 minutos após a liberação das lagartas no

teste com chance de escolha, e 10, 20, 30, 60, 120, 360, 720 e 1440 minutos no teste sem chance de escolha. Ao final, as lagartas foram retiradas e foi determinada a área foliar consumida com auxílio do software ImageJ (Rasband, 1997), através da diferença entre a área foliar inicial e final.

### 2.3. Desenvolvimento biológico

Lagartas recém-eclodidas (<12h) de *S. cosmioides* foram individualizadas em placa de Petri (diâmetro 9 cm; altura 1,5 cm) forradas com papel filtro umedecido com água deionizada e contendo seções de folhas, “ad libitum”, da parte mediana e superior das respectivas cultivares de algodão, em fase de florescimento (F1) (Marur e Ruano, 2001), sendo acompanhado o desenvolvimento dos indivíduos até a morte dos adultos. A limpeza dos excrementos das lagartas no interior das placas foi realizada sempre que necessário, assim como a umectação ou troca do papel filtro das placas.

Aos 10 dias após a eclosão as lagartas foram pesadas em balança analítica de precisão (Ohaus Corporation, modelo AR2140, Parsippany, NJ, USA; 0,0001 g) e quando atingiram a fase de pupa o fornecimento de alimento foi interrompido. Foram observados os seguintes parâmetros: período larval, período pupal, período total (da eclosão até emergência do adulto), viabilidade larval, peso pupal com 24h de idade, viabilidade pupal, viabilidade total e longevidade dos adultos.

Para estimar o crescimento populacional foi determinado o índice de adaptação ( $rL$ ) proposto por Jallow e Zalucki (2003) e adaptado por Boregas et al. (2013), que é um indicador do desempenho da prole. Este índice foi determinado pelo cálculo:  $rL = lx.mx/tl$ , onde  $lx$  é a sobrevivência larval,  $mx$  é a média do peso de pupas das fêmeas e  $tl$  é a duração do desenvolvimento larval (dias).

### 2.4. Índices nutricionais

Lagartas de terceiro ínstar de *S. cosmioides* foram retiradas da colônia de laboratório, privadas de alimentação por 3h para limpar o trato digestivo, pesadas em balança de precisão (Ohaus Corporation, modelo AR2140, Parsippany, NJ, USA;

0,0001 g) e posteriormente foram individualizadas em placas de Petri (diâmetro 9 cm; altura 1,5 cm) forradas com papel filtro umedecido com água deionizada. Discos foliares (diâmetro 5 cm) foram cortados de folhas da parte mediana das respectivas cultivares de algodão em fase de florescimento (F1) (Marur e Ruano, 2001), com auxílio de um vazador metálico e, em seguida foram individualizados nas placas de Petri. Cinco discos foliares de cada genótipo e trinta lagartas de terceiro ínstar com peso seco inicial médio de  $2,719 \pm 0,065$  mg ( $F_{11, 108} = 1,44$ ;  $P = 0,1641$ ) foram utilizadas como alíquotas. As lagartas permaneceram se alimentando dos discos foliares por três dias (60 h).

Após o término do experimento, as lagartas, a sobra dos discos foliares das respectivas cultivares, as fezes e os discos foliares separados como alíquotas foram secos em estufa (Odontobrás, modelo EL 1.4, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) a 60 °C por 48 h e por fim pesados em balança analítica de precisão (0,0001 g). Os índices nutricionais foram estabelecidos com base no peso seco, segundo metodologia estabelecida por Waldbauer (1968) e foram determinadas a taxa de consumo relativo ( $RCR = I/B_m$  por T; mg/mg/dia), taxa de crescimento relativo ( $RGR = B/B_m$  por T; mg/mg/dia), eficiência de conversão do alimento ingerido ( $ECI = [B/I] \times 100$ ; %), digestibilidade aparente ( $AD = [I - F]/I \times 100$ ; %) e conversão do alimento digerido ( $ECD = B/[I - F] \times 100$ ; %), onde: T = período de alimentação; B = ganho de peso larval durante T;  $B_m$  = peso larval médio durante T; I = peso do alimento ingerido (mg) durante T; F = peso das fezes (mg) produzidas durante T. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, avaliando os 12 cultivares de algodão e 10 repetições, sendo cada repetição composta por uma lagarta.

## 2.5. Análises dos dados

Os dados de atratividade foram analisados através do teste Qui-quadrado de Pearson ( $P < 0,05$ ). Os dados de área foliar consumida, os parâmetros de desenvolvimento e dos índices nutricionais foram submetidos ao teste de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Quando necessário, os dados foram transformados de acordo com o teste de BoxCox, pelo procedimento PROC TRANSREG para

posteriormente serem submetidos à análise de variância ( $P < 0,05$ ) utilizando o procedimento PROC GLM, com auxílio do software SAS, versão 4.1 (Sas Institute, 2013). Em caso de significância, as médias foram submetidas ao teste de Scott & Knott ( $P < 0,05$ ), com exceção do parâmetro de viabilidade de pupas que foi submetido ao teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), através do software AgroEstat, versão 1.1.0.712 (Barbosa e Maldonado Júnior, 2015).

### 3. Resultados

#### 3.1. Atratividade e preferência alimentar

Com relação à atratividade, houve diferença entre as cultivares avaliados em teste com chance de escolha, na qual a cultivar FM 993 teve menor porcentual de lagartas atraídas, não diferindo de BRS 368 RF, BRS 335, FMT 701 e FM 910 ( $\chi^2_{11} = 40,09$ ;  $P < 0,0001$ ; Tabela 2). BRS 293 apresentou maior atratividade, embora não diferenciando de BRS 372, FMT 707, BRS 336, BRS 286 e DeltaOpal. Para o teste sem chance de escolha, não houve diferença entre as cultivares quanto a porcentagem de lagartas atraídas ( $\chi^2_{11} = 10,16$ ;  $P = 0,5158$ ; Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem de lagartas presente nos discos foliares e área foliar consumida (AFC, cm<sup>2</sup>) por lagartas de *Spodoptera cosmioides* em cultivares de algodoeiro em testes com e sem chance de escolha.

Cultivares	Porcentagem de lagartas (%)		Área foliar consumida (cm <sup>2</sup> )	
	Com chance <sup>a</sup>	Sem chance <sup>a</sup>	Com chance <sup>b</sup>	Sem chance <sup>b</sup>
BRS 286	9,07±0,98abc	6,12±0,46a	1,51±0,55a	1,75±0,29c
BRS 293	12,01±1,80a	8,02±0,63a	1,46±0,28a	1,31±0,11c
BRS 335	6,09±1,40cd	8,82±0,81a	1,13±0,46a	1,99±0,24c
BRS 336	10,48±1,07ab	7,04±0,27a	1,35±0,39a	1,63±0,19c
BRS 368 RF	5,56±0,34d	7,72±0,29a	1,07±0,40a	1,81±0,24c
BRS 372	11,12±0,62ab	9,69±0,28a	1,80±0,48a	3,00±0,34b
DeltaOpal	8,64±1,03abc	7,84±0,99a	1,26±0,34a	4,52±0,34a
FMT 701	6,11±0,95cd	9,48±0,35a	1,08±0,43a	2,50±0,25b
FMT 707	10,51±2,14ab	8,61±0,81a	1,06±0,30a	2,13±0,27c
FMT 709	8,31±1,12bc	8,65±0,30a	1,59±0,45a	2,41±0,34b
FM 910	6,69±1,40cd	8,70±0,27a	0,90±0,29a	2,19±0,42c
FM 993	5,41±2,68d	9,31±0,49a	1,13±0,67a	2,09±0,31c

<sup>a</sup>Médias seguidas por diferentes letras diferem significativamente entre si pelo teste de Qui-quadrado ( $P < 0,05$ ).

<sup>b</sup>Médias seguidas por diferentes letras diferem significativamente entre si pelo teste de Skott-Knott ( $P < 0,05$ ).

Em teste com chance de escolha, não foi observada diferença entre as cultivares com relação à área foliar consumida ( $F_{11, 99} = 0,75$ ;  $P = 0,6881$ ; Tabela 2). Porém, em teste sem chance de escolha a cultivar DeltaOpal teve maior área foliar consumida, enquanto BRS 293, BRS 336, BRS 286, BRS 368 RF, BRS 335, FM 993, FM 910 e FMT 707 tiveram menor consumo foliar pelas lagartas ( $F_{11, 108} = 8,31$ ;  $P < 0,0001$ ; Tabela 2).

### 3.2. Desenvolvimento biológico

As lagartas que se alimentaram em BRS 293 e BRS 335 tiveram maior período de desenvolvimento larval, enquanto em FM 910, o menor ( $F_{11, 48} = 7,69$ ;  $P < 0,0001$ ; Figura 1A).

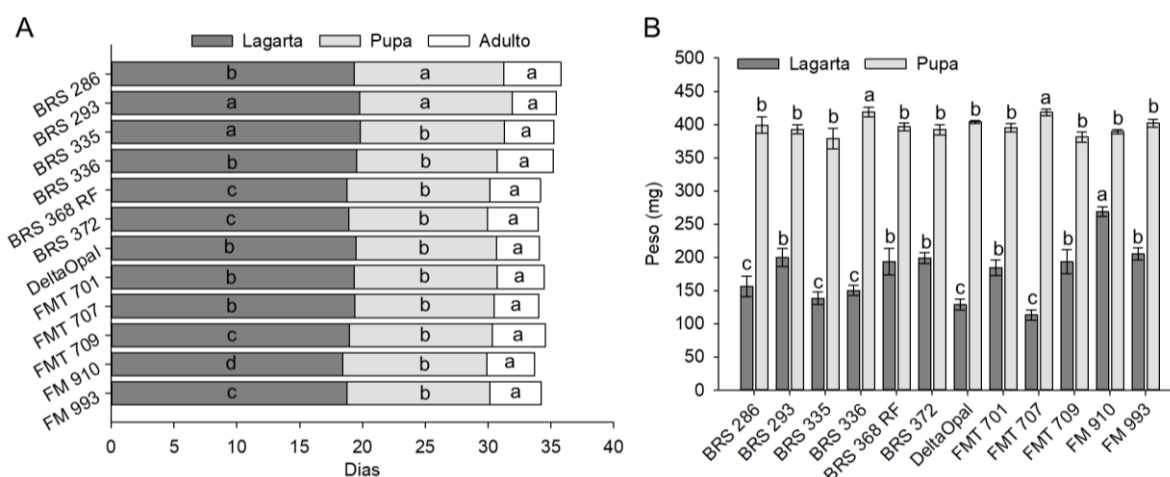


Figura 1. Período larval, pupal e longevidade de adultos (A), peso de lagartas e pupas (B) de *Spodoptera cosmioides* em cultivares de algodão. Barras com diferentes letras diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ).

Nas cultivares BRS 293 e BRS 286 houve maior período de pupa em relação aos demais ( $F_{11, 48} = 3,90$ ;  $P = 0,0005$ ; Figura 1A), porém, não houve diferença na longevidade de adultos ( $F_{11, 48} = 1,63$ ;  $P = 0,1207$ ; Figura 1A). Considerando o ciclo de desenvolvimento, as cultivares BRS 293, BRS 335 e BRS 286 proporcionaram maior período total de *S. cosmioides* ( $F_{11, 48} = 8,56$ ;  $P < 0,0001$ ; Figura 1A).

Para os parâmetros de peso, as cultivares FMT 707, DeltaOpal, BRS 335, BRS 336 e BRS 286 promoveram menor peso de lagartas ( $P_{11, 48} = 12,16$ ;  $P < 0,0001$ ;



Figura 1B). Por outro lado, nas cultivares BRS 336 e FMT 707 foram observados os maiores pesos de pupas comparado às demais cultivares ( $P_{11, 48} = 2,45$ ;  $P = 0,0160$ ; Figura 1B).

Nas cultivares DeltaOpal, FMT 707 e BRS 293 foi observada menor viabilidade larval ( $F_{11, 48} = 2,29$ ;  $P = 0,0241$ ; Tabela 3), em comparação as demais cultivares. A viabilidade pupal foi menor em BRS 335 em relação a BRS 368 RF ( $F_{11, 48} = 2,13$ ;  $P = 0,0362$ ; Tabela 3). Embora em BRS 335 e BRS 336 tenha sido verificado alta viabilidade larval, foi observado reduzida viabilidade pupal, resultando em menor viabilidade total, semelhante a proporcionada pelas cultivares BRS 293, DeltaOpal e FMT 707 ( $F_{11, 48} = 2,51$ ;  $P = 0,0138$ ; Tabela 3). As lagartas apresentaram menor índice de adaptação quando alimentadas como as cultivares DeltaOpal, BRS 335, BRS 293, FMT 707 e FMT 709, em relação aos demais ( $F_{11, 48} = 2,84$ ;  $P = 0,0061$ ; Tabela 3).

Tabela 3. Viabilidade larval, pupal e total e índice de adaptação de *Spodoptera cosmioides* em cultivares de algodão.

Cultivares	Viabilidade (%)			Índice de adaptação <sup>a</sup>
	Larval <sup>a</sup>	Pupal <sup>b</sup>	Total <sup>a</sup>	
BRS 286	98,00±2,00a	65,43±8,83ab	63,43±6,89a	20,21±0,56a
BRS 293	86,00±6,78b	64,83±10,10ab	56,00±11,22b	17,10±1,44b
BRS 335	88,00±3,74a	55,94±5,87b	50,00±7,07b	16,74±0,54b
BRS 336	92,00±3,74a	62,44±4,09ab	58,00±5,83b	19,70±0,77a
BRS 368 RF	94,00±2,45a	91,33±2,18a	86,00±4,00a	19,87±0,65a
BRS 372	94,00±2,45a	76,89±6,06ab	72,00±4,90a	19,50±0,79a
DeltaOpal	78,00±3,74b	60,71±3,53ab	47,25±3,17b	16,19±0,82b
FMT 701	94,00±2,45a	72,44±2,26ab	68,00±2,00a	19,20±0,55a
FMT 707	80,00±6,32b	68,17±10,75ab	56,00±10,30b	17,33±1,50b
FMT 709	90,00±5,45a	72,54±6,14ab	66,00±8,12a	18,02±0,89b
FM 910	96,00±2,45a	72,44±5,87ab	70,00±7,07a	20,29±0,64a
FM 993	92,00±3,74a	78,17±4,97ab	72,00±5,83a	19,69±0,68a

<sup>a</sup>Médias seguidas por diferentes letras diferem significativamente entre si pelo teste de Skott-Knott ( $P < 0,05$ ).

<sup>b</sup>Médias seguidas por diferentes letras diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ )

### 3.3. Índice nutricionais

Os índices nutricionais das lagartas diferiram de acordo com as cultivares avaliadas (Tabela 4). Menores RCR foram observadas em lagartas alimentadas com as cultivares FM 993, FMT 707, FMT 709, FM 910, BRS 286, BRS 335, BRS 372 e BRS 336 ( $F_{11, 108} = 15,29$ ;  $P < 0,0001$ ). Por outro lado, em DeltaOpal as lagartas apresentaram maior RCR, porém, isso não refletiu em maiores RGR, ECI e ECD, pelo

contrário. As menores RGR foram verificadas em lagartas que se alimentaram das cultivares BRS 293, BRS 335 BRS 336, BRS 368 RF, BRS 286 e DeltaOpal ( $F_{11, 108} = 3,31$ ;  $P = 0,0006$ ). Menor ECI foi observada em lagartas alimentadas com a cultivar DeltaOpal ( $F_{11, 107} = 11,47$ ;  $P < 0,0001$ ), que juntamente com aquelas alimentadas pelas cultivares BRS 293 e FM 910 também tiveram menores ECD ( $F_{11, 108} = 6,16$ ;  $P < 0,0001$ ). Nas cultivares BRS 368 RF, BRS 336 e BRS 372 as lagartas tiveram menor AD ( $F_{11, 108} = 7,82$ ;  $P < 0,0001$ )

Tabela 4. Índices nutricionais de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas em folhas de genótipos de algodão.

Genótipos	RCR (mg/mg/d)	RGR (mg/mg/d)	ECI (%)	AD (%)	ECD (%)
BRS 286	2,096±0,071c	0,495±0,016b	23,760±0,930b	38,512±2,652b	58,128±3,088b
BRS 293	2,504±0,084b	0,478±0,015b	19,344±1,072c	40,083±2,390a	50,139±4,321c
BRS 335	2,161±0,111c	0,478±0,014b	21,425±1,204c	36,547±2,959b	63,333±6,444b
BRS 336	2,170±0,088c	0,479±0,029b	22,305±1,528c	29,422±3,331c	66,114±2,660a
BRS 368 RF	2,441±0,070b	0,484±0,015b	19,992±0,899c	23,943±2,405c	73,678±4,185a
BRS 372	2,167±0,059c	0,522±0,023a	24,116±1,079b	29,866±2,077c	81,262±5,320a
DeltaOpal	3,088±0,093a	0,498±0,022b	16,260±0,855d	34,155±3,457b	45,911±3,552c
FMT 701	2,389±0,084b	0,528±0,025a	22,183±1,103c	36,390±2,184b	57,993±2,827b
FMT 707	1,978±0,114c	0,554±0,018a	28,592±1,355a	35,491±3,200b	72,378±3,356a
FMT 709	2,061±0,054c	0,552±0,013a	27,008±1,140a	44,422±3,205a	63,597±5,363b
FM 910	2,067±0,064c	0,520±0,013a	25,346±0,953b	50,040±3,326a	51,781±2,390c
FM 993	1,918±0,043c	0,541±0,008a	28,449±1,056a	48,357±2,341a	55,676±1,901b

Médias seguidas por diferentes letras diferem significativamente entre si pelo teste de Skott-Knott ( $P < 0,05$ ). RCR: taxa de consumo relativo; RGR: taxa de crescimento relativo; ECI: eficiência de conversão do alimento ingerido; AD: digestibilidade aparente; ECD: eficiência de conversão do alimento digerido

#### 4. Discussão

Os resultados obtidos evidenciam que as cultivares avaliadas influenciam distintamente no comportamento de alimentação e no crescimento/desenvolvimento de lagartas de *S. cosmioides*. As cultivares em que foram observados menor consumo foliar, efeitos negativos no desenvolvimento e/ou nos aspectos nutricionais de *S. cosmioides* devem apresentar características constituintes capazes de conferir resistência, em maior ou menor nível.

Plantas de algodão apresentam diversos mecanismos capazes de conferir a elas resistência a insetos-praga, dentre os quais os constituintes químicos possuem grande destaque (Hagenbucher et al., 2013). Muitas dessas substâncias podem ser reconhecidas pelos insetos, como os compostos voláteis que podem favorecer (caïromônios) ou desfavorecer (alomônios) a localização da planta pelo herbívoro,

interferindo na seleção hospedeira de forma que a menor atratividade pode estar relacionada a ausência de cairomônios e/ou altos níveis de alomônios (Smith, 2005; Xu e Turlings, 2018). Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que as lagartas de *S. cosmioides* são mais atraídas para as cultivares BRS 293 e BRS 372 e menos para BRS 335, BRS 368 RF, FMT 701, FM 910 e FM 993, muito possivelmente por conta desse balanço de cairomônios e alomônios, que em plantas de algodão tem-se destaque para alguns terpenoides voláteis como,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -myrceno e outros (Rodriguez-Saona et al., 2003; Yang et al., 2013; Silva et al., 2015).

O consumo foliar, entretanto, nem sempre é proporcional à atratividade. Mesmo em plantas que são verificados maior número de insetos outras características podem atuar como deterrente alimentar, reduzindo a alimentação e podendo inclusive trazer consequências negativas para o desenvolvimento biológico do herbívoro (Smith, 2005; Hagenbucher et al., 2013). Isso pôde ser verificado em relação as cultivares BRS 293 e FMT 707 que embora tenham sido mais estimulantes, tiveram reduzida área foliar consumida pelas lagartas de *S. cosmioides*. Enquanto nas cultivares BRS 335, BRS 368 RF, FMT 701, FM 910 e FM 993 tiveram menos lagartas presentes em seus discos foliares e menor consumo foliar pelas lagartas.

O teste com chance de escolha permite identificar genótipos potencialmente resistentes (Smith, 2005), no entanto, neste trabalho não foi verificado diferença no consumo das lagartas entre as cultivares avaliados neste teste. Esse fato pode estar relacionado ao menor período de avaliação na condução deste ensaio e, assim, para trabalhos futuros deve-se buscar alternativas, como o uso de discos foliares maiores, para aumentar o período de avaliação. No teste sem chance de escolha, os insetos não possuem alternativa de escolha (Smith, 2005); com isso possivelmente há alguma característica das plantas de BRS 286, BRS 293, BRS 335, BRS 336, BRS 368 RF, FMT 707, FM 910 e FM 993 capazes de interferir negativamente no comportamento de alimentação de *S. cosmioides*, pois nesses materiais foram verificados menores consumos foliares.

Mecanismos morfológicos e físicos da planta podem ocasionar efeitos negativos no comportamento de alimentação de inúmeros insetos-praga (Smith, 2005). Além disso, plantas de *Gossypium* sp. produzem uma gama de compostos com propriedades inseticidas como antocianinas, flavonoides, taninos e terpenoides. Os

terpenoides têm maior destaque e são mais estudados, especialmente o gossipol, hemigossipol, hemigossipolone e heliocidas, que são armazenados em glândulas de pigmentos epidérmicas localizadas nas diferentes estruturas do algodoeiro. Esses compostos possuem efeitos tóxicos, repelentes e de deterrência alimentar, principalmente sobre muitos lepidópteros generalistas que incidem sobre o algodoeiro (Hedin et al., 1991; Hedin et al., 1992; Meyer et al., 2004; Wu et al., 2010; Hagenbucher et al., 2013).

Kong et al. (2010) avaliando os efeitos da presença de glândulas de pigmentos em plantas de algodão sobre o crescimento e desenvolvimento de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) observaram redução 76,5% do peso e aumento de aproximadamente 3,7 dias na duração do período de lagartas que foram alimentadas com folhas de algodão com presença de glândulas de pigmentos em relação às folhas sem as glândulas. Hagenbucher et al. (2019) também verificaram redução do peso e sobrevivência das lagartas e da área foliar consumida por *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) em plantas de algodão com alta concentração de gossipol em relação a linhagens que tiveram a síntese de gossipol silenciada. Assim, principalmente BRS 293, BRS 335, FMT 707 e FMT 709 que tiveram menores áreas foliares consumidas, viabilidade total e baixo índice de adaptação possivelmente podem apresentar maiores níveis desses compostos terpenoides e podem ser classificados como resistentes, pois interferem negativamente na alimentação e no desenvolvimento de *S. cosmioides*.

De acordo com Mithofer e Boland (2012), os compostos do metabolismo secundário relacionados à defesa das plantas também podem acarretar em impropriedades nutricionais nos insetos. Além disso, os insetos possuem exigência nutricional diversificada, dependendo da espécie, fase de desenvolvimento, sexo e outros fatores, para o crescimento, manutenção dos tecidos e metabolismo e para reprodução. Em geral, os insetos necessitam de aminoácidos, carboidratos, lipídeos, vitaminas e minerais e grande parte desses produtos são ingeridos com os alimentos. O excesso ou a falta desses nutrientes podem ser prejudiciais ao desenvolvimento dos insetos e, assim, esses nutrientes devem ser ingeridos em quantidades adequadas e em equilíbrio (Chapman, 2013). O balanço desses nutrientes nas plantas

é variável, de acordo com diversos fatores, dentre eles o genótipo da planta (Smith, 2005; Mithofer e Boland, 2012; Hagenbucher et al., 2013).

Genótipos que não apresentam níveis adequados de nutrientes em relação às necessidades do inseto podem promover prejuízos ao seu desenvolvimento. Tal fato pôde ser observado em DeltaOpal, o qual teve maior área foliar consumida e maior RCR, ou seja, maior quantidade de alimento ingerido em relação ao peso das lagartas, o que é característico de materiais suscetíveis. Porém, observou-se menor viabilidade larval e total, baixo índice de adaptação e reduzida RGR, que reflete ao ganho de massa pelo inseto em razão do seu peso. Assim, as lagartas buscam suprir esse desequilíbrio nutricional aumentando sua alimentação, uma vez que a conversão do alimento ingerido (ECI) e digerido (ECD) em biomassa e a quantidade de alimento ingerido que é efetivamente assimilada (AD) pelo inseto foram baixas.

Dessa forma, as cultivares BRS 293, BRS 335, FMT 707, FMT 709 e DeltaOpal são consideradas moderadamente resistentes a *S. cosmioides*, entretanto, as causas de resistência deles parecem ser distintas. As cultivares BRS 293 e FMT 707 não tem ação deterrente, porém, apresentam efeitos de antibiose, assim como DeltaOpal devido a impropriedades nutricionais. Por outro lado, BRS 335 e FMT 709 foram deterrentes, tiveram efeitos negativos no consumo foliar e isso refletiu no desenvolvimento, evidenciando a importância de compostos repelentes no comportamento de alimentação e, conseqüentemente, na biologia do inseto.

A seleção de genótipos comerciais com moderada resistência pode propiciar grandes avanços no manejo de praga e representar ganhos econômicos significativos (Hutchison et al., 2010), uma vez que podem ser utilizados com eficiência, principalmente se aliada com outros métodos de controle, como controle biológico, cultural, comportamental e outros. Isso favorece tanto o controle da praga quanto a atuação de inimigos naturais, e aumenta as expectativas de utilização prática da resistência de plantas a insetos. Além disso, a obtenção de genótipos comerciais com alta resistência e alto potencial produtivo ainda é difícil de ser conseguida.

Os próximos passos é verificar se em condições de campo esses materiais mantêm o nível de resistência. Outra possibilidade é identificar os mecanismos responsáveis por conferir resistência a *S. cosmioides* e aumentar sua expressão na planta ou incorporá-los em outras cultivares comerciais através de programas de

melhoramento genético de planta, podendo inclusive serem associados junto a genes Bt para ampliar a ação contra mais pragas.

## 5. Referências

AGROFIT - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2019) **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acessado em: 18 de julho de 2019.

Barbosa JC, Maldonado Júnior W (2015) **Experimentação agrônômica & agroestatística para análises estatísticas de ensaios agrônômicos**. Jaboticabal: Multipress, 396 pp.

Blanco CA, Chiaravalle W, Dalla-Rizza M, Farias JR, García-Degano MF, Gastaminza G, Mota-Sánchez D, Murúa MG, Omoto C, Pieralisi BK, Rodríguez J, Rodríguez-Maciel JC, Terán-Santofimio H, Terán-Vargas AP, Valencia SJ, Willink E (2016) Current situation of pests targeted by *Bt* crops in Latin America. **Current Opinion in Insect Science** 15:131-138. doi:10.1016/j.cois.2016.04.012

Blassioli-Moraes MC, Borges M, Viana AR, Laumann RA, Miranda JE, Magalhães DM, Birkett MA (2016) Identification and field evaluation of the sex pheromone of a Brazilian population of *Spodoptera cosmioides*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 51:545-554. doi:10.1590/S0100-204X2016000500015

Boiça Júnior AL, Jesus FGd, Janini JC, Silva AGd, Alves GCS (2012) Resistance of cotton varieties to the leafworm *Alabama argillacea* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Ceres** 59:48-55. doi:10.1590/S0034-737X2012000100007

Boregas KGB, Mendes SM, Waquil JM, Fernandes GW (2013) Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Bragantia** 72:61-70.

Bueno AF, Paula-Moraes SV, Gazzoni DL, Pomari AF (2013) Economic thresholds in soybean-integrated pest management: old concepts, current adoption, and adequacy. **Neotropical Entomology** 42:439-447. doi:10.1007/s13744-013-0167-8

- Chapman RF (2013) **The insects: structure and function**. New York: Cambridge University Press, pp.
- Freitas JGd, Takahashi TA, Figueiredo LL, Fernandes PM, Camargo LF, Watanabe IM, Foerster LA, Fernandez-Triana J, Shimbori EM (2019) First record of *Cotesia scotti* (Valerio and Whitfield, 2009) (Hymenoptera: Braconidae: Microgastrinae) comb. nov. parasitising *Spodoptera cosmioides* (Walk, 1858) and *Spodoptera eridania* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia** xxx:xxx-xxx. doi:10.1016/j.rbe.2019.05.001
- Funichello M, Grigolli JFJ, Souza BHSd, Boiça Junior AL, Busoli AC (2013) Effect of transgenic and non-transgenic cotton cultivars on the development and survival of *Pseudaletia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Agricultural Research** 8:5424-5428.
- Goulart MMP, Bueno AdF, Bueno RCOdF, Vieira SS (2011) Interaction between *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum* in the management of *Spodoptera* spp. **Revista Brasileira de Entomologia** 55:121-124. doi:10.1590/S0085-56262011000100019
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean Caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology** 69:487-488. doi:10.1093/jee/69.4.487
- Hagenbucher S, Olson DM, Ruberson JR, Wäckers FL, Romeis J (2013) Resistance mechanisms against arthropod herbivores in cotton and their interactions with natural enemies. **Critical Reviews in Plant Sciences** 32:458-482. doi:10.1080/07352689.2013.809293
- Hagenbucher S, Eisenring M, Meissle M, Rathore KS, Romeis J (2019) Constitutive and induced insect resistance in RNAi-mediated ultra-low gossypol cottonseed cotton. **BMC Plant Biology** 19:Article 322. doi:10.1186/s12870-019-1921-9
- Hedin PA, Parrott WL, Jenkins JN (1991) Effects of cotton plant allelochemicals and nutrients on behavior and development of tobacco budworm. **Journal of Chemical Ecology** 17:1107-1121. doi:10.1007/bf01402937
- Hedin PA, Parrott WL, Jenkins JN (1992) Relationships of glands, cotton square terpenoid aldehydes, and other allelochemicals to larval growth of *Heliothis*

*virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** 85:359-364. doi:10.1093/jee/85.2.359

Hutchison WD, Burkness EC, Mitchell PD, Moon RD, Leslie TW, Fleischer SJ, Abrahamson M, Hamilton KL, Steffey KL, Gray ME, Hellmich RL, Kaster LV, Hunt TE, Wright RJ, Pecinovsky K, Rabaey TL, Flood BR, Raun ES (2010) Areawide suppression of European corn borer with *Bt* maize reaps savings to non-*Bt* maize growers. **Science** 330:222-225. doi:10.1126/science.1190242

Jallow MF, Zalucki MP (2003) Relationship between oviposition preference and offspring performance in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Australian Journal of Entomology** 42:343-348. doi:10.1046/j.1440-6055.2003.00365.x

Jesus FGd, Boiça Junior AL, Alves GCS, Busoli AC, Zanuncio JC (2014) Resistance of cotton varieties to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Colombiana de Entomología** 40:158-163.

Kong G, Daud MK, Zhu S (2010) Effects of pigment glands and gossypol on growth, development and insecticide-resistance of cotton bollworm (*Heliothis armigera* (Hübner)). **Crop Protection** 29:813-819. doi:10.1016/j.cropro.2010.03.016

Lutz AL, Bertolaccini I, Scotta RR, Curis MC, Favaro MA, Fernandez LN, Sánchez DE (2018) Lethal and sublethal effects of chlorantraniliprole on *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science** 74:2817-2821. doi:10.1002/ps.5070

Marur CJ, Ruano O (2001) A reference system for determination of developmental stages of upland cotton. **Revista de Oleaginosas e Fibras** 5:313-317.

Meyer R, Vorster S, Dubery IA (2004) Identification and quantification of gossypol in cotton by using packed micro-tips columns in combination with HPLC. **Analytical and Bioanalytical Chemistry** 380:719-724. doi:10.1007/s00216-004-2817-5

Mitchell C, Brennan RM, Graham J, Karley AJ (2016) Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. **Frontiers in Plant Science** 7:Article 1132. doi:10.3389/fpls.2016.01132



Mithofer A, Boland W (2012) Plant defense against herbivores: chemical aspects. **Annu Rev Plant Biol** 63:431-450. doi:10.1146/annurev-arplant-042110-103854

Painter RH (1958) Resistance of plants to insects. **Annual Review of Entomology** 3:267-290. doi:10.1146/annurev.en.03.010158.001411

Papa G, Celoto FJ (2014) Manejo de pragas. In.: Borém A, Freire EC (eds.) **Algodão: do plantio à colheita**. Viçosa, MG, Brazil: Editora UFV, p. 217-249.

Pomari AF, Bueno AF, Bueno RCOF, Menezes AO (2013) *Telenomus remus* Nixon egg parasitization of three species of *Spodoptera* under different temperatures. **Neotropical Entomology** 42:399-406. doi:10.1007/s13744-013-0138-0

**Rasband W 1997**. ImageJ Software computer program, version 1.8.0. By Rasband W, Bethesda, MD.

Rodriguez-Saona C, Crafts-Brandner SJ, Cañas LA (2003) Volatile emissions triggered by multiple herbivore damage: beet armyworm and whitefly feeding on cotton plants. **Journal of Chemical Ecology** 29:2539-2550. doi:10.1023/a:1026314102866

Santos KB, Meneguim AM, Santos WJ, Neves PMOJ, Santos RB (2010) Caracterização dos danos de *Spodoptera eridania* (Cramer) e *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) a estruturas de algodoeiro. **Neotropical Entomology** 39:626-631. doi:10.1590/s1519-566x2010000400025

Santos KB, Neves P, Meneguim AM, Santos RB, Santos WJ, Boas GV, Dumas V, Martins E, Praça LB, Queiroz P, Berry C, Monnerat R (2009) Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control** 50:157-163. doi:10.1016/j.biocontrol.2009.03.014

**Sas Institute 2013**. Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures computer program, version 9.4. By Sas Institute, Cary, NC.

Silva DMd, Bueno AdF, Stecca CdS, Andrade K, Neves PMOJ, Oliveira MCNd (2017) Biology of *Spodoptera eridania* and *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera:

Noctuidae) on different host plants. **Florida Entomologist** 100:752-760. doi:10.1653/024.100.0423

Silva GV, Bueno AdF, Bortolotto OC, Santos AC, Pomari-Fernandes A (2016) Biological characteristics of black armyworm *Spodoptera cosmioides* on genetically modified soybean and corn crops that express insecticide Cry proteins. **Revista Brasileira de Entomologia** 60:255-259. doi:10.1016/j.rbe.2016.04.005

Silva JB, Silva-Torres CSA, Moraes MCB, Torres JB, Laumann RA, Borges M (2015) Interaction of *Anthonomus grandis* and cotton genotypes: biological and behavioral responses. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 156:238-253. doi:10.1111/eea.12326

Smith CM (2005) **Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches**. Dordrecht: Springer, 421 pp.

Specht A, Roque-Specht VF (2016) Immature stages of *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae): developmental parameters and host plants. **Zoologia** 33:e20160053. doi:10.1590/S1984-4689zool-20160053

Specht A, Roque-Specht VF (2019) Biotic potential and reproductive parameters of *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) in the laboratory. **Brazilian Journal of Biology** 79:488-494. doi:10.1590/1519-6984.184595

Stout MJ (2013) Reevaluating the conceptual framework for applied research on host-plant resistance. **Insect Science** 20:263-272. doi:10.1111/1744-7917.12011

Waldbauer GP (1968) The consumption and utilization of food by insects. In.: Beament JWL, Treherne JE, Wigglesworth VB (eds.) **Advances in Insect Physiology**. London: Academic Press, p. 229-288.

Wu G, Guo J-Y, Wan F-H, Xiao N-W (2010) Responses of three successive generations of beet armyworm, *Spodoptera exigua*, fed exclusively on different levels of gossypol in cotton leaves. **Journal of Insect Science** 10:Article 165. doi:10.1673/031.010.14125

Xu H, Turlings TCJ (2018) Plant volatiles as mate-finding cues for insects. **Trends in Plant Science** 23:100-111. doi:10.1016/j.tplants.2017.11.004

Yang C-Q, Wu X-M, Ruan J-X, Hu W-L, Mao Y-B, Chen X-Y, Wang L-J (2013) Isolation and characterization of terpene synthases in cotton (*Gossypium hirsutum*). **Phytochemistry** 96:46-56. doi:10.1016/j.phytochem.2013.09.009

#### **CAPÍTULO 4 - Os conteúdos de proteína bruta e taninos totais interferem na resistência constitutiva de cultivares de algodão a *Chloridea virescens* (Lepidoptera: Noctuidae)**

**RESUMO** - As plantas de algodão possuem diversas características de natureza física, morfológica e/ou química que as conferem resistência a diversos insetos, como *Chloridea virescens* (Fabricius). Assim, é de suma importância compreender e identificar tais características, bem como cultivares que as apresentam, para serem incorporadas em programas de manejo integrado de pragas. Neste trabalho foi avaliado a influência de cultivares de algodão sobre a alimentação e crescimento de lagartas de *C. virescens*, além de verificar possíveis causas da expressão de resistência através da avaliação de constituintes bromatológicos das plantas. Para tanto foram avaliados seis genótipos de algodão (DeltaOpal, FMT 701, FM 910, FM 993, BRS 336 e FMT 707) por meio de testes com e sem chance de escolha, em que foram determinados o índice de atratividade (IA) e a área foliar consumida (AFC) pelas lagartas. Além disso, foi determinada a taxa de crescimento relativo (RGR), taxa de consumo relativo (RCR) e eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) de lagartas alimentando das respectivas cultivares. As cultivares FMT 701 e FM 993 apresentaram deterrência tanto no teste com quanto no teste sem chance de escolha. No teste com chance, a cultivar FM 933 teve menor AFC em relação a DeltaOpal, enquanto no teste sem chance de FMT 701 e FM 993 tiveram menor AFC. As lagartas alimentadas em FMT 701, BRS 336 e FM 993 tiveram menor RGR, enquanto em FMT 707 as lagartas apresentaram menores RCR e ECI. Assim, foi possível diferenciar as cultivares em três grupos (G) em relação à resistência e aos mecanismos envolvidos: FMT 707, FM 993 e BRS 336 (G1); FMT 701 (G2); e, DeltaOpal e FM 910 (G3). As cultivares no G3 foram suscetíveis e em G1 e G2 apresentaram como resistentes, porém com mecanismos de resistência distintos. Em G1 a resistência está relacionada com maiores concentrações de taninos totais e menores de proteína bruta, enquanto em G2 está relacionado possivelmente a características de deterrência.

**Palavras-chave:** interação inseto-plantas, lagarta-das-maçãs-do-algodoeiro, mecanismos de resistência, resistência de plantas a insetos

**CHAPTER 4 - Content of crude protein and total tannin interfere with the constitutive resistance of cotton cultivars to *Chloridea virescens* (Lepidoptera: Noctuidae)**

**ABSTRACT** - Cotton plants have several physical, morphological and/or chemical characteristics that confer resistance to various herbivores, such as *Chloridea virescens* (Fabricius). Thus, it is of utmost importance to understand and identify such traits, as well as genotypes that present them, to be incorporated into integrated pest management programs. In this work, we evaluated the influence of cotton cultivars on feeding and growth of *C. virescens* larvae, besides verifying possible causes of resistance expression through the evaluation of plant bromatological constituents. Six cotton cultivars (DeltaOpal, FMT 701, FM 993, BRS 336 and FMT 707) were evaluated by free- and no-choice tests, in which the attractiveness index (AI) and leaf area consumed (LAC) by the larvae were determined. Also, the relative growth rate (RGR), relative consumption rate (RCR) and efficiency of conversion of ingested food (ECI) of larvae feeding on the respective cultivars were determined. The FMT 701 and FM 993 cultivars presented deterrence in both free- and no-choice tests. In free-choice test, FM 933 had lower LAC than DeltaOpal, while in no-choice test FMT 701 and FM 993 had the lowest LAC. Larvae fed on FMT 701, BRS 336 and FM 993 had lower RGR, while on FMT 707 the larvae presented lower RCR and ECI. Thus, it was possible to differentiate cultivars in three groups (G) concerning resistance and mechanisms involved: FMT 707, FM 993 and BRS 336 (G1); FMT 701 (G2); and DeltaOpal and FM 910 (G3). Cultivars in G3 were susceptible and in G1 and G2 they were resistant, but present distinct resistance mechanisms. Resistance in G1 is related to higher total tannin concentrations and lower crude protein, while in G2 it is possibly related to deterrence characteristics.

**Keywords:** insect-plant interaction, tobacco budworm, resistance mechanisms, host plant resistance

## 1. Introdução

A lagarta-das-maçãs-do-algodoeiro, *Chloridea virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma espécie polífaga, nativa de regiões tropicais e subtropicais, com ampla distribuição nas Américas (Fitt, 1989). Essa espécie pode ocasionar danos em plantas de diferentes famílias, como Fabaceae, Malvaceae, Asteraceae, Solanaceae e outras, incidindo sobre importantes plantas cultivadas, como o algodão, *Gossypium hirsutum* L. (Malvales: Malvaceae), em que é considerada uma das principais espécies-praga (Blanco et al., 2007; Cunningham e Zalucki, 2014; Papa e Celoto, 2014).

As lagartas-recém eclodidas alimentam-se de tecidos jovens das plantas de algodão, principalmente de folhas apicais. Porém, os principais danos ocasionados se devem ao fato das lagartas, quando maiores, incidirem sobre os botões florais e maçãs, ocasionando galerias, consumindo as fibras e sementes e causando suas quedas. As lagartas possuem grande potencial de ocasionar danos. Estima-se que uma a lagarta pode consumir até seis estruturas frutíferas do algodoeiro e resultar em até 25% das maçãs destruídas para cada 5% de infestação (Busoli et al., 2008; Papa e Celoto, 2014).

Dessa forma, é essencial a manutenção do nível populacional de *C. virescens* abaixo daquele que ocasiona danos econômicos à cultura. Para isso, o uso de inseticidas (Pereira et al., 2016; Little et al., 2017) e de plantas geneticamente modificadas com a inserção de genes que expressam toxinas de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) (Fleming et al., 2018; Nava-Camberos et al., 2018) são as principais táticas de controle. Entretanto, a intensa utilização desses métodos de controle pode levar à seleção de indivíduos resistentes, reduzindo a eficiência dos ingredientes ativos e das tecnologias *Bt*, e aumentando os custos de produção da cultura (Hamadain e Chambers, 2001; Roe et al., 2010; Pickett et al., 2017; Fleming et al., 2018). Além disso, o uso de inseticidas de amplo espectro pode afetar negativamente o comportamento e a ocorrência de inimigos naturais de *C. virescens* (Taylor et al., 2015; Hernández-Juárez et al., 2016).

A utilização de cultivares com características de resistência em programas de manejo integrado de pragas (MIP) representa uma medida efetiva para reduzir a

dependência tanto dos inseticidas quanto das tecnologias *Bt* (Trapero et al., 2016; Hanson e Koch, 2018). Isso porque as plantas resistentes podem ocasionar efeitos negativos no comportamento de alimentação e/ou de desenvolvimento dos insetos-praga. A resistência de plantas a insetos (RPI) é um método de controle com efeito persistente, de fácil associação com outros métodos de controle, com reduzidos impactos negativos ao meio ambiente e com capacidade de reduzir a densidade populacional abaixo do nível de dano econômico, compreendendo em um dos métodos de controle base para programas de MIP (Smith, 2005; Boiça Júnior et al., 2017).

As plantas de algodão podem apresentar características capazes de conferir resistência a diversos insetos-praga, intermediadas por mecanismos físicos, morfológicos e/ou químicos (Hagenbucher et al., 2013). Características relacionadas à coloração da planta, formato da folha, tipo de brácteas, densidade de tricomas e outros, são reconhecidas por influenciarem na expressão de resistência do algodoeiro a alguns dos principais insetos-praga da cultura, como o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boheman (1843) (Coleoptera: Curculionidae) (Silva et al., 2008) e *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) (Prado et al., 2016; Zhu et al., 2018).

Os mecanismos químicos são os mais relacionados com a expressão de resistência do algodoeiro, principalmente, por consequência da gama de compostos secundários sintetizados pelas plantas, muitos inclusive são exclusivos do gênero *Gossypium*. Dentre os quais, destacam-se os fenóis, especialmente os aldeídos terpenos como o gossipol, hemigossipolone e heliocidas, os quais exercem influência negativa sobre o desenvolvimento da lagarta-das-maçãs-do-algodoeiro (Lukefahr e Houghtaling, 1969; Scheffler et al., 2012).

Dessa forma, é essencial estudos que visem identificar genótipos com características de resistência a *C. virescens*, principalmente em materiais comerciais, pois esses já são utilizados pelos produtores. Assim, nesse trabalho foi avaliado a influência de diferentes genótipos comerciais de algodão sobre o comportamento de alimentação e crescimento de lagartas de *C. virescens* e analisado os constituintes bromatológicos das folhas desses genótipos, visando identificar materiais que expressam resistência constitutiva e as possíveis causas da resistência.

## 2. Material e métodos

Para os experimentos foram avaliados seis genótipos de algodão (Tabela 1) por meio de testes com e sem chance de escolha para avaliar o consumo foliar pelas lagartas e por teste sem chance de escolha para determinação dos índices nutricionais das lagartas. Estes experimentos foram realizados em laboratório sob condições controladas ( $26 \pm 2^\circ \text{C}$ ;  $70 \pm 10\%$  UR; fotoperíodo de 12 h L:12 h E). Para identificar os possíveis mecanismos envolvidos nas características de resistência foi realizada análise bromatológica das folhas das cultivares avaliados.

Tabela 1. Cultivares de algodão, procedência e histórico de resistência dos materiais avaliados quanto à resistência a *Chloridea virescens*.

Cultivares	Procedência	Ciclo (dias)	Histórico de resistência
DeltaOpal	D&PL Brasil Ltda	Médio (160)	Suscetível a <i>Alabama argillacea</i> (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) (Boiça Júnior et al., 2012) e <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1757) (Lepidoptera: Noctuidae) (Jesus et al., 2014) – Padrão de suscetibilidade
FMT 701	Fundação MT	Médio (160)	Antixenose e/ou antibiose a <i>A. argillacea</i> (Boiça Júnior et al., 2012) e <i>S. frugiperda</i> (Jesus et al., 2014) – Padrão de resistência
FM 910	Bayer S.A.	Tardio (160-190)	Antibiose a <i>A. argillacea</i> (Boiça Júnior et al., 2012)
FM 993	Bayer S.A.	Médio (150-180)	Suscetível a <i>Chrysodeixis includens</i> (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae)(Funichello et al., 2013)
BRS 336	Embrapa	Médio (170-190)	Não avaliado
FMT 707	Fundação MT	Médio (160)	Não avaliado

### 2.1. Insetos

Em laboratório, uma colônia de *C. virescens* foi iniciada com lagartas recém-eclodidas oriundas do Laboratório de Criação de Insetos da Bayer, Paulínia, SP, Brasil. Aproximadamente 200 lagartas recém-eclodidas foram mantidas em recipientes plásticos (diâmetro 12 cm; altura 9,5 cm) contendo dieta artificial (Greene et al., 1976), onde permaneciam por cinco dias. Posteriormente, as lagartas eram individualizadas em recipientes plásticos (diâmetro 4,5 cm; altura 5 cm) contendo dieta artificial. As lagartas permaneciam nos recipientes até a fase de pupa, quando eram removidas, identificadas quanto ao sexo e colocadas separadamente em caixa do tipo gerbox (comprimento 11 cm; largura 11 cm; altura 3,5 cm), de acordo com o sexo, até



a emergência dos adultos. Vinte casais de adultos recém emergidos eram colocados em gaiolas de oviposição (diâmetro 15 cm; altura 20 cm) cobertas com tecido “voile” e revestidas internamente com papel sulfite como substrato para oviposição. No fundo das gaiolas eram colocados pratos plásticos (diâmetro 16 cm) forrados com papel sulfite. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% (água/volume), a qual era embebida em algodão hidrofílico e colocado em recipientes plásticos (diâmetro 3,5 cm; altura 0,5 cm) colocados no interior da gaiola de oviposição. A cada dois dias os ovos eram retirados das gaiolas de oviposição e colocados em recipientes plásticos (diâmetro 12 cm; altura 9,5 cm) até a eclosão das lagartas, que eram transferidas para recipientes contendo dieta artificial, conforme descrito anteriormente.

Para os experimentos foram utilizadas lagartas de terceiro ínstar de *C. virescens*, oriundas das gerações F4 a F6 da criação de laboratório.

## **2.2. Plantas**

As cultivares de algodão foram semeados em vasos plásticos com capacidade de 12 L, contendo substrato composto por solo, esterco bovino curtido e areia, na proporção de 3:1:1 (v/v/v). Foram semeadas seis sementes por vaso, e com cinco dias após a emergência (DAE) foi realizado o desbaste, deixando três plantas por vaso. As plantas de algodão foram mantidas em casa de vegetação (com tela anti-afídeo de 50 mesh) e irrigadas quando necessário, até a fase de botão floral (B1) (Marur e Ruano, 2001), quando foram utilizadas nos experimentos.

## **2.3. Testes com e sem chance de escolha**

Na avaliação de não preferência para alimentação foram realizados testes com e sem chance de escolha. O teste com chance de escolha foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, enquanto o teste sem chance de escolha foi em delineamento inteiramente casualizado, ambos com 10 repetições cada. Para isso folhas apicais das plantas de algodão foram coletadas e levadas ao laboratório, onde foram cortados discos foliares (diâmetro 3 cm) com um vazador metálico. No teste

com chance de escolha foram utilizadas placas de Petri (diâmetro 14 cm; altura 1,5 cm) forradas com papel filtro umedecido e os discos foliares dos seis genótipos foram colocados de forma circular e equidistante do centro, onde foram liberadas uma lagarta de terceiro ínstar por genótipo, no total de seis lagartas por placa. No teste sem chance de escolha foram utilizadas placas de Petri (diâmetro 9 cm; altura 1,5 cm) forradas com papel filtro umedecido, um disco foliar de um genótipo foi colocado por placa e liberada uma lagarta de terceiro ínstar de *C. virescens*.

Em ambos os testes, foi avaliado o número de lagartas presentes em cada disco foliar aos 10, 20, 30, 60, 120, 360 e 720 minutos após a liberação das lagartas, por meio da contagem do número de lagartas presentes nos discos foliares de cada genótipo. Com a média do número de lagartas presente nos discos foliares durante os períodos de avaliação foi calculado o índice de atratividade (IA), adaptado de Kogan e Goeden (1970), através da seguinte fórmula:  $IA = 2C/(C + S)$ , onde C = número de lagartas encontradas na cultivar avaliado e S = número de lagartas encontradas na cultivar padrão suscetível, DeltaOpal (Boiça Júnior et al., 2012; Jesus et al., 2014). O valor de IA pode variar de zero a dois, em que:  $IA = 1$ ;  $< 1$ ; e,  $> 1$  indica que a cultivar avaliado é neutro (similar), deterrente e estimulante, respectivamente, comparado com a cultivar padrão de suscetibilidade.

Ao final do experimento, foi determinada a área foliar consumida (AFC, cm<sup>2</sup>) através da diferença entre a área foliar inicial e final, com auxílio do software ImageJ (Rasband, 1997).

## 2.4. Índices nutricionais

Para o experimento foram cortados discos foliares de 5 cm de diâmetro de folhas da parte apical de plantas em estágio B1 dos respectivas cultivares de algodão, os quais foram individualizados em placas de Petri (diâmetro 9 cm; altura 1,5 cm), forradas com papel filtro umedecido. Lagartas de terceiro ínstar foram privadas de alimentação por três horas, para limpeza do trato intestinal, pesadas em balança de precisão (Ohaus Corporation, modelo AR2140, Parsippany, NJ, USA; 0,0001 g) e posteriormente foi transferida uma lagarta com peso seco inicial médio de  $2,529 \pm 0,057$  mg ( $F_{5, 54} = 1,79$ ;  $P = 0,1313$ ) por placa. Cinco discos foliares de cada

genótipo e trinta lagartas de terceiro ínstar foram utilizadas como alíquotas. As lagartas permaneceram se alimentando dos discos foliares por três dias (72 h).

Após o término do experimento, as lagartas, a sobra dos discos foliares das respectivas cultivares e os discos foliares separados como alíquotas foram secos em estufa (Odontobrás, modelo EL 1.4, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) a 60 °C por 48 h e por fim pesados em balança analítica de precisão (0,0001 g). Os valores foram utilizados para determinar a taxa de consumo relativo ( $RCR = I/B_m$  por T; mg/mg/dia), taxa de crescimento relativo ( $RGR = B/B_m$  por T; mg/mg/dia) e eficiência de conversão do alimento ingerido ( $ECI = [B/I] \times 100$ ; %), onde T = período de alimentação, B = ganho de peso larval durante T,  $B_m$  = peso larval médio durante T, I = peso do alimento ingerido (mg) durante T, de acordo com Waldbauer (1968).

## **2.5. Análise bromatológica**

A primeira e a segunda folhas completamente expandidas do ápice foram coletadas de plantas em estágio B1, sendo que para cada genótipo foram realizadas três repetições, e cada repetição foi constituída por 15 plantas. Após as coletas, as folhas foram lavadas em água corrente e secas em temperatura ambiente, com auxílio de papel toalha, para posteriormente serem acondicionadas em envelopes de papel pardo (comprimento, 20 cm; altura, 30 cm) e secas em estufa a 35 °C, por sete dias.

As amostras foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP, de acordo com os métodos padronizados da Associação de Químicos Analíticos Oficiais (Horwitz e Latimer, 2011), para proteína total, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina. Para determinação de fenóis totais e taninos totais foi utilizada metodologia proposta por Makkar et al. (1993), enquanto para taninos condensados utilizou-se a metodologia de (Porter et al., 1985). Os dados de FDN e FDA foram utilizados para determinar os valores de hemicelulose e celulose, obtidos pela diferença entre FDN - FDA e FDA - lignina, respectivamente.

## 2.6. Análise dos dados

Os dados de área foliar consumida e os referente aos índices nutricionais foram submetidos ao teste de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias pelos testes de Kolmogorov-Smirnov (Kolmogorov, 1933; Smirnov, 1939) e Levene (Levene, 1960), respectivamente. Em seguida, foram submetidos à análise de variância ( $P < 0,05$ ) e em caso de significância as médias foram submetidas ao teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), utilizando o procedimento PROC GLM. Os dados de RGR, não atenderam às pressuposições de normalidade e homogeneidade das variâncias e foram analisados através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ) e pelo teste de Média de Dunn's ( $P < 0,05$ ). As análises foram realizadas utilizando o software SAS, versão 9.4 (Sas Institute, 2013).

Os parâmetros nutricionais também foram submetidos à análise multivariada através da análise de agrupamento hierárquico pelo método de Ward (Ward, 1963), utilizando a distância euclidiana como medida de dissimilaridade, e análise de componentes principais pelo software Statistica, versão 7.0 (Statsoft, 2004). A partir dos grupos estabelecidos pelas análises multivariadas os dados bromatológicos das cultivares foram agrupados e analisados conforme descrito anteriormente para a área foliar consumida e os índices nutricionais.

## 3. Resultados

### 3.1. Testes com e sem chance de escolha

No teste com chance de escolha, as cultivares FMT 701, FM 910 e FM 993 foram deterrentes às lagartas de *C. virescens*, enquanto FMT 707 e BRS 336 foram neutros e estimulantes, respectivamente, em relação a cultivar padrão, DeltaOpal (Figura 1A). No teste sem chance de escolha, as cultivares FMT 701, FM 993, BRS 336 e FMT 707 foram deterrentes, já a cultivar FM 910 foi estimulante às lagartas (Figura 1B).

Em teste com chance de escolha, a cultivar FM 993 teve menor área foliar consumida em relação a cultivar DeltaOpal ( $F_{5, 43} = 3,38$ ;  $P = 0,0115$ ), enquanto o

consumo pelas lagartas nos demais genótipos não diferiu significativamente (Figura 2). No teste sem chance de escolha, as cultivares FMT 701 e FMT 707 tiveram área foliar consumida significativamente inferior em comparação a cultivar DeltaOpal ( $F_{5, 54} = 4,21$ ;  $P = 0,0027$ ). O consumo foliar em FMT 701 também foi menor comparado ao que houve em FM 910, enquanto aos demais genótipos não se teve diferença significativa (Figura 2).

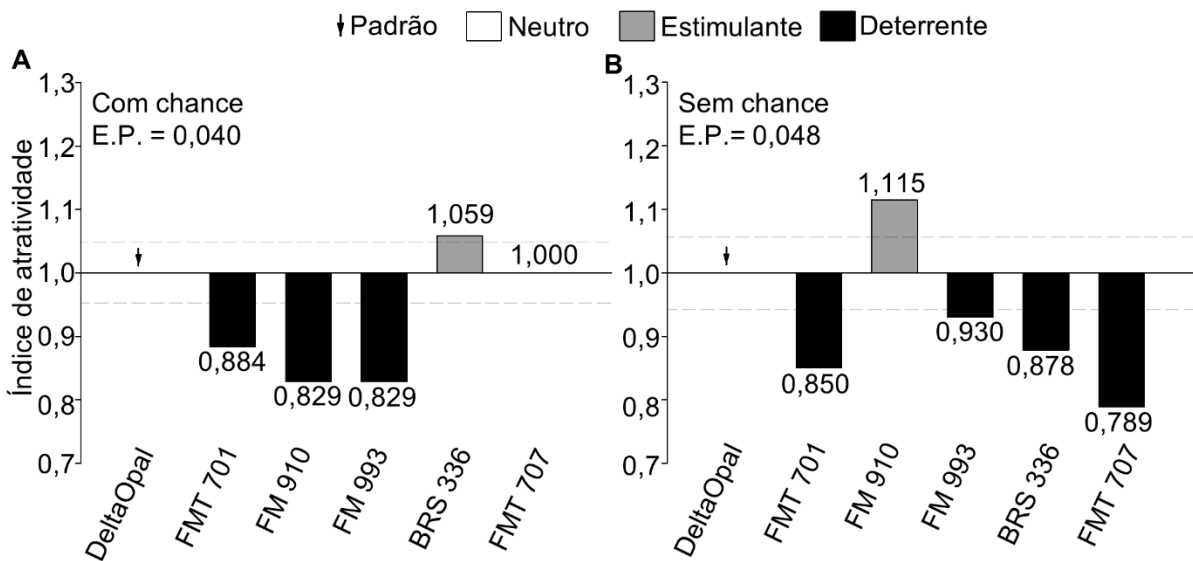


Figura 1. Índice de atratividade de cultivares de algodão a lagartas de *Chloridea virescens* em testes com (A) e sem (B) chance de escolha.

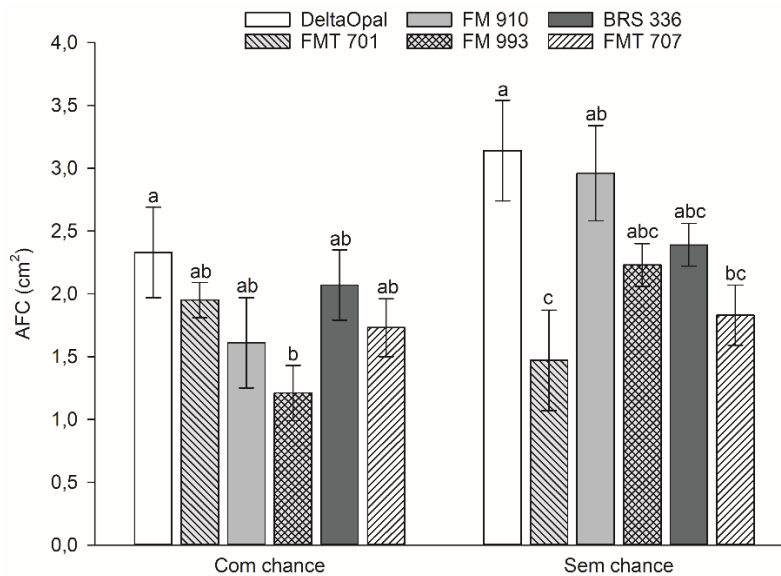


Figura 2. Área foliar consumida (AFC, cm<sup>2</sup>) por lagartas de *Chloridea virescens* em cultivares de algodão, em testes com e sem chance de escolha.

### 3.2. Índices nutricionais

No que se refere aos índices nutricionais, observou-se que as lagartas que se alimentaram nas cultivares FMT 701, FM 993, BRS 336 e FMT 707 tiveram menor taxa de crescimento relativo ( $F_{5, 52} = 5,30$ ;  $P = 0,0005$ ) comparativamente a DeltaOpal e não diferindo significativamente de FM 910 (Tabela 2). As lagartas que se alimentaram da cultivar FMT 707 tiveram menor RCR ( $H_5 = 12,13$ ;  $P = 0,0330$ ), diferindo daquelas que se alimentaram de DeltaOpal, e maior ECI ( $F_{5, 50} = 4,30$ ;  $P = 0,0025$ ), comparadas as que se alimentaram de FMT 701.

Tabela 2. Índices nutricionais ( $\pm$  E.P.) de lagartas de *Chloridea virescens* alimentadas em cultivares de algodão.

Genótipos	RGR (mg/mg/d) <sup>a</sup>	RCR (mg/mg/d) <sup>b</sup>	ECI (%) <sup>a</sup>
DeltaOpal	2,507 $\pm$ 0,301a	0,618 $\pm$ 0,042a	29,365 $\pm$ 3,587ab
FMT 701	1,274 $\pm$ 0,130b	0,518 $\pm$ 0,076ab	39,795 $\pm$ 3,027a
FM 910	2,118 $\pm$ 0,245ab	0,536 $\pm$ 0,082ab	26,915 $\pm$ 3,509ab
FM 993	1,423 $\pm$ 0,251b	0,443 $\pm$ 0,057ab	29,774 $\pm$ 2,685ab
BRS 336	1,422 $\pm$ 0,140b	0,399 $\pm$ 0,028ab	26,393 $\pm$ 1,984ab
FMT 707	1,543 $\pm$ 0,144b	0,394 $\pm$ 0,060b	22,081 $\pm$ 3,404b

<sup>a</sup>Médias seguidas por diferentes letras, na coluna, são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). <sup>b</sup>Médias seguidas por diferentes letras, na coluna, são significativamente diferentes pelo teste de Dunn's ( $P < 0,05$ ). RGR - taxa de crescimento relativo; RCR - taxa de consumo relativo; ECI - eficiência de conversão do alimento ingerido.

Através da análise de agrupamento hierárquico (Figura 3A) foi possível observar três grupos distintos: FMT 707, BRS 336 e FM 993 (G1); FMT 701 (G2); e, DeltaOpal e FM 910 (G3). Esse agrupamento também pôde ser verificado por meio da análise de componentes principais (Figura 3B), em que o primeiro componente principal (CP1) concentrou 53,98% da variabilidade total e os parâmetros de taxa de crescimento relativo (-0,5892), taxa de consumo relativo (-0,5101) e área foliar consumida em teste com (-0,3361) e sem (-0,5268) chance de escolha foram os que mais influenciaram esse componente, de acordo com a matriz de correlação de autovetores. O segundo componente principal concentrou 29,07% da variabilidade, influenciado principalmente pela eficiência de conversão do alimento ingerido (-0,7975). As cultivares pertencentes ao grupo G1 foram influenciados, principalmente, por reduzida taxa de consumo relativo e área foliar consumida em teste com chance de escolha. A cultivar FMT 701 (G2) embora tenha propiciado menores valores de

taxa de crescimento relativo e área foliar consumida em teste sem chance de escolha, resultou em maior eficiência do alimento ingerido por lagartas de *C. virescens*. Já em DeltaOpal e FM 910 houve maiores taxas de consumo e de crescimento relativo e maior área foliar consumida nos testes com e sem chance de escolha (Figura 3B).

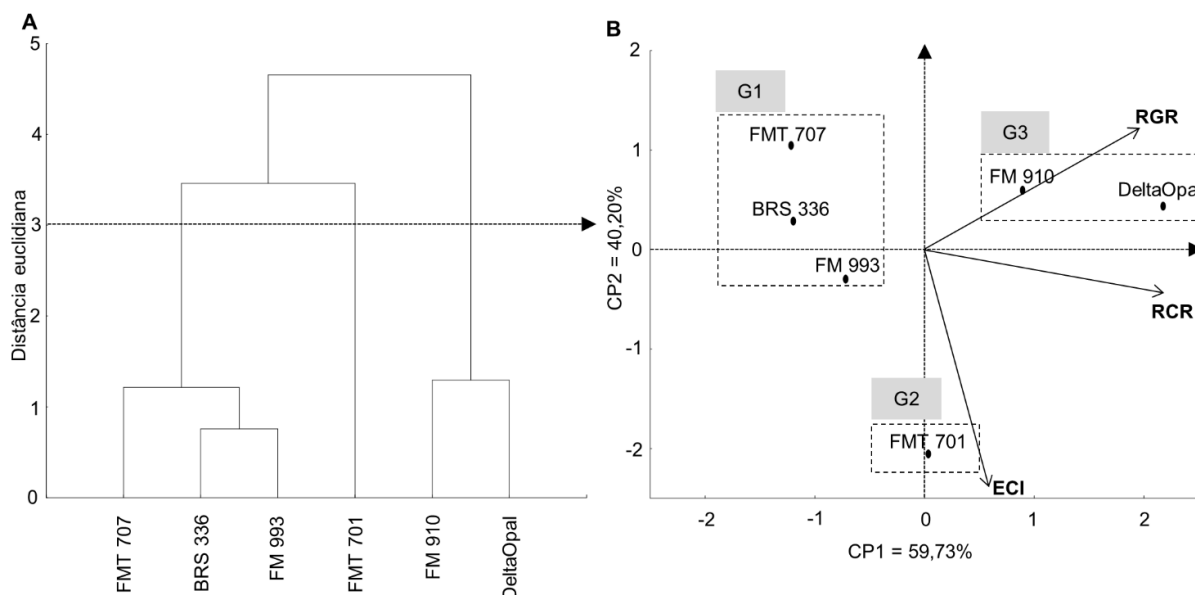


Figura 3. Agrupamento hierárquico pelo método Ward (A) e análise de componentes principais (B) dos índices nutricionais de lagartas de *Chloridea virescens* alimentadas em cultivares de algodão. RGR: taxa de crescimento relativo; RCR: taxa de consumo relativo; ECI: eficiência de conversão do alimento ingerido.

### 3.3. Análise bromatológica

Com relação aos componentes bromatológicos, os grupos de genótipos de algodão formados de acordo com índices nutricionais de *C. virescens* diferem entre si quanto à concentração de proteínas totais ( $F_{2,15} = 6,15$ ;  $P = 0,0112$ ; Figura 4A) e taninos totais ( $F_{2,15} = 5,10$ ;  $P = 0,0232$ ; Figura 4B). Porém, não foram observadas diferenças quanto aos teores de lignina ( $F_{2,15} = 0,01$ ;  $P = 0,9949$ ), fenóis totais ( $F_{2,15} = 1,40$ ;  $P = 0,2768$ ), taninos condensados ( $F_{2,13} = 0,87$ ;  $P = 0,4407$ ), hemicelulose ( $F_{2,15} = 0,36$ ;  $P = 0,7028$ ), e celulose ( $F_{2,15} = 0,66$ ;  $P = 0,5325$ ).

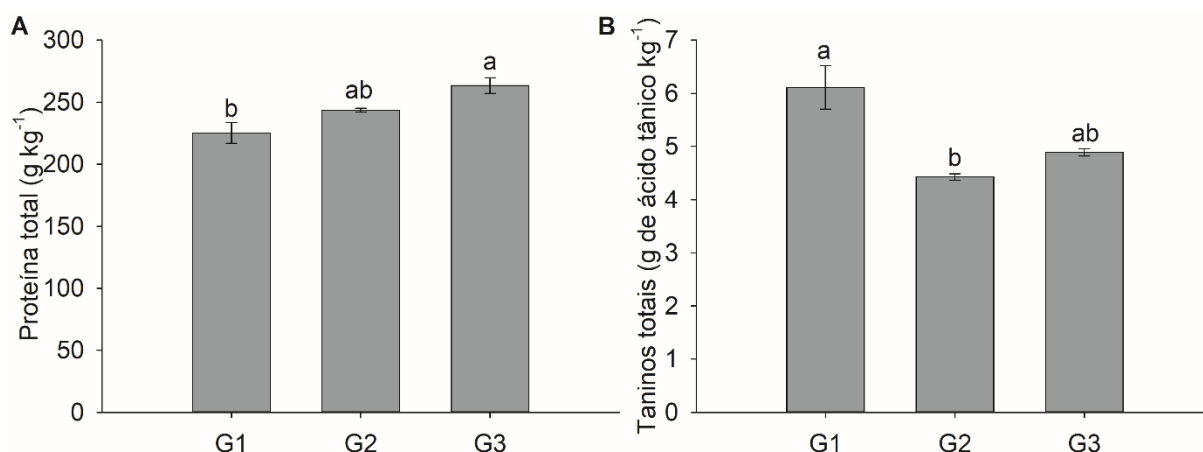


Figura 4. Concentração de proteína total (g kg<sup>-1</sup> de matéria seca) (A), e taninos totais (g de ácido tânico kg<sup>-1</sup> de matéria seca) (B) dos grupos de cultivares de algodão, de acordo com os índices nutricionais de *Chloridea virescens*. G1: FMT 707, BRS 336 e FM 993; G2: FMT 701; G3: DeltaOpal e FM 910. Barras seguidas por diferentes letras são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 4. Discussão

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que as cultivares de algodão influenciaram de forma distinta no comportamento de alimentação e nos parâmetros nutricionais, que refletem no desenvolvimento de lagartas de *C. virescens*. Isso se deve às características intrínsecas de cada genótipo e que em determinados níveis nas plantas de algodoeiro interferem negativamente sobre o comportamento e/ou desenvolvimento do inseto, de forma a reduzir os danos ocasionados (Smith, 2005; Hagenbucher et al., 2013).

A presença dessas características de resistência em cultivares comerciais possui grande relevância, uma vez que estas já estão disponíveis aos produtores. No entanto, observa-se que os níveis de resistência desses materiais ainda são baixos, muito por conta de ter sido priorizada a seleção de materiais com maior produtividade pelos programas de melhoramento, e nesse processo foram perdidos genes envolvidos na resistência a insetos-praga (Juturu et al., 2015). Mesmo assim, alguns desses genes podem ter sido inseridos involuntariamente em genótipos comerciais. Dessa forma, a identificação de possíveis características envolvidas na resistência nesses genótipos pode favorecer os programas de melhoramento de plantas, que podem utilizar técnicas de seleção de linhagens puras, seleção em massa e/ou



técnicas moleculares que visam aumentar a expressão dessas características de resistência nos materiais comerciais (Rao et al., 2017).

As lagartas de *C. virescens* alimentadas nas cultivares BRS 336 e FM 993 tiveram menores RGR e intermediárias RCR e ECI, e na cultivar FMT 707 menores RGR, RCR e ECI, sendo essas três cultivares pertencentes ao G1. Tais resultados se devem aos maiores níveis de taninos totais e menores de proteínas totais verificados (Figura 4B). Os taninos podem atuar como deterrentes alimentares (Schultz, 1989), enquanto as proteínas são essenciais para obtenção de aminoácidos pelos insetos e o valor nutricional delas depende da sua digestibilidade (Chapman, 2013). Assim, a menor concentração de proteínas totais e maior nível de taninos totais nesses genótipos propiciou redução na capacidade do inseto em transformar o alimento ingerido em biomassa (ECI), com consequências sobre o ganho de massa pelo inseto em relação ao seu peso (RGR) e a quantidade de alimento consumido em relação ao peso corpóreo do inseto (RCR) (Waldbauer, 1968; Parra, 2012). Diante disso, esses materiais foram deterrentes, especialmente no teste sem chance de escolha, refletindo no crescimento das lagartas de *C. virescens*. Assim, para as cultivares de algodão pertencentes ao G1, observa-se que o conteúdo de proteínas totais e de taninos totais exerceram importante papel na expressão da resistência a *C. virescens*.

A cultivar FMT 701 apresentou-se como deterrente (Figura 1), teve menor área foliar consumida em teste sem chance de escolha (Figura 2B) e redução da RGR das lagartas (Tabela 2; Figura 3B), sendo este último parâmetro relacionado ao desenvolvimento larval. Assim, esse material apresenta alguma característica capaz de lhe conferir resistência em comparação aos demais genótipos avaliados. Porém, as lagartas que se alimentaram desse genótipo apresentaram maior ECI, devido ao menor nível de taninos totais verificado nesse genótipo. Percebe-se, então que a característica responsável pela expressão de resistência desse genótipo está relacionada com a deterrência às lagartas em relação a esse genótipo, interferindo no comportamento alimentar das lagartas, com consequente reflexo sobre o crescimento larval.

A cultivar FMT 701 já possui histórico de resistência em relação a *S. frugiperda* e *A. argillacea* (Boiça Júnior et al., 2012; Jesus et al., 2014) e os resultados apresentados neste trabalho evidenciam que esse genótipo também apresenta

resistência a *C. virescens*. A seleção de genótipos que apresentam resistência múltipla, ou seja, resistência a mais de uma espécie de inseto-praga, possui grande relevância para o manejo integrado de pragas, pois a incidência de pragas no campo é variável de acordo com diversos fatores, podendo ocorrer concomitantemente diferentes espécies de insetos-praga (Lambert e Kilen, 1984; Pinheiro et al., 2017). Assim, a identificação dos mecanismos envolvidos na resistência desse material pode trazer inúmeras contribuições para programas de melhoramento genético que visam inserir caracteres de resistência a insetos em genótipos comerciais.

Embora pelas análises de agrupamento hierárquico e de componentes principais (Figura 3) as cultivares FMT 707, FM 993 e BRS 336 (G1) tenham se diferenciado de FMT 701 (G2), observa-se que todos esses materiais apresentam resistência moderada, porém, com mecanismos de resistência distintos. As cultivares DeltaOpal e FM 910 foram classificados como suscetíveis, pois foram mais consumidos, principalmente em teste sem chance de escolha, e propiciaram maiores RGR e RCR para as lagartas de *C. virescens*.

Os teores de lignina, celulose e hemicelulose, que são componentes estruturais das plantas, podem reduzir o consumo das lagartas à medida que suas concentrações aumentam, pois reduzem a digestibilidade do alimento (Peterson et al., 1988; Hagenbucher et al., 2013) e, conseqüentemente interferem na RCR, ECI e RGR das lagartas. No entanto, nos resultados obtidos neste trabalho essas características não se mostraram efetivas para resultarem em resistência das cultivares avaliadas a *C. virescens*. Tal resultado pode estar relacionado ao fato de terem sido utilizadas folhas apicais para realização dos bioensaios e esses constituintes apresentam-se em maiores concentrações em tecidos mais velhos da plantas (Coley et al., 1985).

A identificação e utilização em campo de genótipos que apresentam reduzidos teores de proteínas associado a maiores concentrações de taninos totais pode propiciar resultados positivos para o manejo de *C. virescens*, antes de ocasionarem injúrias nas estruturas reprodutivas do algodoeiro. Uma vez que essas características que conferem resistência estarão presentes nas folhas apicais, as quais em geral são o primeiro recurso alimentar utilizado pelas lagartas recém-eclodidas de *C. virescens* (Papa e Celoto, 2014). Além disso, estudos com objetivo de identificar compostos específicos responsáveis por conferir deterrência a *C. virescens* são promissores e

podem dar maior suporte aos programas de melhoramento genético que visam introduzir características de resistência do algodoeiro a esta praga. A avaliação da influência desses tipos de substâncias sobre o comportamento da praga pode inclusive viabilizar a aplicação extrínseca delas, visando reduzir a incidência do inseto na área.

## 5. Referências

- Blanco CA, Terán-Vargas AP, López JD, Kauffman JV, Wei X (2007) Densities of *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in three plant hosts. **The Florida Entomologist** 90:742-750.
- Boiça Júnior AL, Jesus FGd, Janini JC, Silva AGd, Alves GCS (2012) Resistance of cotton varieties to the leafworm *Alabama argillacea* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Ceres** 59:48-55. doi:10.1590/S0034-737X2012000100007
- Boiça Júnior AL, Freitas MM, Nogueira L, Di Bello MM, Freitas CA, Barcelos PHS, Faria SCQdS (2017) Resistência de plantas a insetos em culturas agrícolas. In.: Castilho RdC, Barilli DR, Truzi CC (eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola - X**. Jaboticabal, SP: Gráfica Multipress, p. 97-122.
- Busoli AC, Nais J, Araújo CR, Silva EA, Funichello M, Michelotto MD, Guerreiro JC (2008) Atualidades sobre táticas e estratégias em MIP - algodoeiro. In.: Araujo ES, Vacari AM, Carvalho JS, Goulart RM, Campos AP, Volpe HXL (eds.) **Tópicos especiais em Entomologia Agrícola**. Ribeirão Preto: Maxicolor Gráfica e Editora, p. 39-52.
- Chapman RF (2013) **The insects: structure and function**. New York: Cambridge University Press, pp.
- Coley PD, Bryant JP, Chapin FS (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science** 230:895-899. doi:10.1126/science.230.4728.895
- Cunningham JP, Zalucki MP (2014) Understanding Heliothine (Lepidoptera: Heliothinae) pests: what is a host plant? **Journal of Economic Entomology** 107:881-896. doi:10.1603/ec14036

- Fitt GP (1989) The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology** 34:17-52. doi:10.1146/annurev.en.34.010189.000313
- Fleming D, Musser F, Reisig D, Greene J, Taylor S, Parajulee M, Lorenz G, Catchot A, Gore J, Kerns D, Stewart S, Boykin D, Caprio M, Little N (2018) Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton on insecticide use, heliothine counts, plant damage, and cotton yield: A meta-analysis, 1996-2015. **PLOS ONE** 13:e0200131. doi:10.1371/journal.pone.0200131
- Funichello M, Grigolli JFJ, Souza BHSd, Boiça Junior AL, Busoli AC (2013) Effect of transgenic and non-transgenic cotton cultivars on the development and survival of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Agricultural Research** 8:5424-5428.
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean Caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology** 69:487-488. doi:10.1093/jee/69.4.487
- Hagenbucher S, Olson DM, Ruberson JR, Wäckers FL, Romeis J (2013) Resistance mechanisms against arthropod herbivores in cotton and their interactions with natural enemies. **Critical Reviews in Plant Sciences** 32:458-482. doi:10.1080/07352689.2013.809293
- Hamadain EI, Chambers HW (2001) Susceptibility and mechanisms underlying the relative tolerance to five organophosphorus insecticides in tobacco budworms and corn earworms. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 69:35-47. doi:10.1006/pest.2000.2515
- Hanson AA, Koch RL (2018) Interactions of host-plant resistance and foliar insecticides for soybean aphid management. **Crop Protection** 112:232-238. doi:10.1016/j.cropro.2018.06.008
- Hernández-Juárez A, Aguirre-Uribe LA, González-Ruíz A, Chacón-Hernández JC, Landeros-Flores J, Cerna-Chávez E, Flores-Dávila M, Harris MK (2016) Impact of endosulfan on the predatory efficiency of larval *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on the eggs of *Heliothis virescens* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **The Canadian Entomologist** 148:112-117. doi:10.4039/tce.2015.41

- Horwitz W, Latimer GW (2011) **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2590 pp.
- Jesus FGd, Boiça Junior AL, Alves GCS, Busoli AC, Zanuncio JC (2014) Resistance of cotton varieties to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Colombiana de Entomología** 40:158-163.
- Juturu VN, Mekala GK, Kirti PB (2015) Current status of tissue culture and genetic transformation research in cotton (*Gossypium* spp.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)** 120:813-839. doi:10.1007/s11240-014-0640-z
- Kogan M, Goeden RD (1970) The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Annals of the Entomological Society of America** 63:1175-1180. doi:10.1093/aesa/63.4.1175
- Kolmogorov A (1933) Sulla determinazione empirica di una legge di distribuzione. **Inst. Ital. Attuari** 4:83-91.
- Lambert L, Kilen TC (1984) Multiple insect resistance in several soybean genotypes. **Crop Science** 24:887-890. doi:10.2135/cropsci1984.0011183X002400050014x
- Levene H (1960) Robust tests for equality of variances. In.: Olkin I, Ghurye SG, Hoeffding W, Madow WG, Mann HB (eds.) **Contributions to Probability and Statistics**. Stanford: Stanford University Press, p. 278-292.
- Little NS, Catchot AL, Allen KC, Gore J, Musser FR, Cook DR, Luttrell RG (2017) Supplemental control with diamides for Heliothines in Bt cotton. **Southwestern Entomologist** 42:15-26. doi:10.3958/059.042.0102
- Lukefahr MJ, Houghtaling JE (1969) Resistance of cotton strains with high gossypol content to *Heliothis* Spp. **Journal of Economic Entomology** 62:588-591. doi:10.1093/jee/62.3.588
- Makkar HPS, Blümmel M, Borowy NK, Becker K (1993) Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 61:161-165. doi:10.1002/jsfa.2740610205

- Marur CJ, Ruano O (2001) A reference system for determination of developmental stages of upland cotton. **Revista de Oleaginosas e Fibrosas** 5:313-317.
- Nava-Camberos U, Ávila-Rodríguez V, Maltos-Buendía J, García-Hernández JL, Martínez-Carrillo JL (2018) Densidades y daños de insectos plaga en algodónero convencional y *Bt* en la Comarca Lagunera, México. **Southwestern Entomologist** 43. doi:10.3958/059.043.0415
- Papa G, Celoto FJ (2014) Manejo de pragas. In.: Borém A, Freire EC (eds.) **Algodão: do plantio à colheita**. Viçosa, MG, Brazil: Editora UFV, p. 217-249.
- Parra JRP (2012) The evolution of artificial diets and their interactions in science and technology. In.: Panissi AR, Parra JRP (eds.) **Insect bioecology and nutrition for integrated pest management**. Boca Ratón: CRC Press, p. 51-92.
- Pereira AC, Martins GLM, Tomquelski GV (2016) Caterpillars occurrence on function of the insecticides management and cotton cultivars use. **Revista de Agricultura Neotropical s** 3:62-67.
- Peterson SS, Scriber JM, Coors JG (1988) Silica, cellulose and their interactive effects on the feeding performance of the southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of the Kansas Entomological Society** 61:169-177.
- Pickett BR, Gulzar A, Ferré J, Wright DJ (2017) *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa toxin resistance in *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Applied and Environmental Microbiology** 83:e03506-03516. doi:10.1128/aem.03506-16
- Pinheiro JB, Vendramim JD, Lourenção AL (2017) Resistance to Insects. In.: Silva FL, Borém A, Sedyama T, Ludke WH (eds.) **Soybean Breeding**. Cham: Springer International Publishing, p. 351-357.
- Porter LJ, Hrstich LN, Chan BG (1985) The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. **Phytochemistry** 25:223-230. doi:10.1016/S0031-9422(00)94533-3
- Prado JC, Peñafior MFGV, Cia E, Vieira SS, Silva KI, Carlini-Garcia LA, Lourenção AL (2016) Resistance of cotton genotypes with different leaf colour and trichome

density to *Bemisia tabaci* biotype B. **Journal of Applied Entomology** 140:405-413. doi:10.1111/jen.12274

Rao DE, Divya K, Prathyusha IVSN, Krishna CR, Chaitanya KV (2017) Insect-Resistant Plants. In.: Dubey SK, Pandey A, Sangwan RS (eds.) **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**. Amsterdam: Elsevier, p. 47-74.

**Rasband W 1997**. ImageJ Software computer program, version 1.8.0. By Rasband W, Bethesda, MD.

Roe RM, Young HP, Iwasa T, Wyss CF, Stumpf CF, Sparks TC, Watson GB, Sheets JJ, Thompson GD (2010) Mechanism of resistance to spinosyn in the tobacco budworm, *Heliothis virescens*. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 96:8-13. doi:10.1016/j.pestbp.2009.08.009

**Sas Institute 2013**. Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures computer program, version 9.4. By Sas Institute, Cary, NC.

Scheffler JA, Romano GB, Blanco CA (2012) Evaluating host plant resistance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) with varying gland densities to tobacco budworm (*Heliothis virescens* F.) and bollworm (*Helicoverpa zea* Boddie) in the field and laboratory. **Agricultural Sciences** 3:14-23. doi:10.4236/as.2012.31004

Schultz JC (1989) Tannin-Insect Interactions. In.: Hemingway RW, Karchesy JJ, Branham SJ (eds.) **Chemistry and significance of condensed Tannins**. Boston, MA: Springer US, p. 417-433.

Silva FP, Bezerra APL, Silva AF (2008) Oviposição e alimentação do bicudo, *Anthonomus grandis* Boheman, em linhagens mutantes de algodoeiro herbáceo de cultura de soca. **Revista Ciência Agronômica** 39:85-89.

Smirnov NV (1939) On the estimation of the discrepancy between empirical curves of distribution for two independent samples. **Bull. Math. Univ. Moscou** 2:3-14.

Smith CM (2005) **Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches**. Dordrecht: Springer, 421 pp.

**StatSoft 2004.** Data analysis software system and user's manual computer program, version 7. By StatSoft, Tulsa, OK.

Taylor SV, Burrack HJ, Roe RM, Bacheler JS, Sorenson CE (2015) Systemic imidacloprid affects intraguild parasitoids differently. **PLOS ONE** 10:e0144598. doi:10.1371/journal.pone.0144598

Trapero C, Wilson IW, Stiller WN, Wilson LJ (2016) Enhancing integrated pest management in GM cotton systems using host plant resistance. **Frontiers in Plant Science** 7. doi:10.3389/fpls.2016.00500

Waldbauer GP (1968) The consumption and utilization of food by insects. In.: Beament JWL, Treherne JE, Wigglesworth VB (eds.) **Advances in Insect Physiology**. London: Academic Press, p. 229-288.

Ward JHJ (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. **Journal of the American statistical association** 58:236-244. doi:10.1080/01621459.1963.10500845

ZHU L, LI J, XU Z, MANGHWAR H, LIANG S, LI S, ALARIQI M, JIN S, ZHANG X (2018) Identification and selection of resistance to *Bemisia tabaci* among 550 cotton genotypes in the field and greenhouse experiments. **Frontiers of Agricultural Science and Engineering** 5:236-252. doi:10.15302/j-fase-2018223



## CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na cultura do algodoeiro incidem diversos insetos-pragas capazes de ocasionar desfolha e/ou injuriar as estruturas reprodutivas da planta, trazendo perdas significativas. Em programas de manejo integrado de pragas (MIP) diversas táticas de controle podem ser adotadas em conjunto ou isoladamente, levando em consideração o custo/benefício de sua aplicação e questões ambientais e sociais, com o intuito de reduzir o impacto da incidência da praga na área.

Dentre essas táticas tem-se a resistência de plantas a insetos, que embora seja um método de controle base para o MIP, requer critérios confiáveis para a seleção de cultivares resistentes. Dessa forma, o estabelecimento de um protocolo a ser seguido em “screening” de cultivares ou de materiais não comerciais deve levar em consideração, além do hábito alimentar do herbívoro, as condições que melhor discriminam os níveis de resistências dos materiais. Neste estudo, é proposto um protocolo que leva em consideração esses quesitos e que se seguido os estudos na área serão realizados de forma padronizada. Isso, representa um grande benefício para a área de resistência de plantas a insetos, uma vez que a expressão de resistência pode ser variável de acordo com as condições e metodologia adotada.

As plantas de algodão apresentam diversos mecanismos capazes de lhes conferir resistência a diversos insetos-praga, embora dificilmente sejam observados cultivares altamente resistentes e com alto potencial produtivo. Porém, mesmo cultivares com moderada resistência podem contribuir significativamente no manejo de praga no campo. Como por exemplo, através do uso das cultivares BRS 293, BRS 335, FMT 707 em áreas com problemas com *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e FMT 707, FM 993, BRS 336 e FMT 701 para *Chloridea virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae), que foram consideradas moderadamente resistentes. Além da resistência, esses materiais apresentam bom potencial produtivo e, assim, podem facilmente serem adotados pelos cotonicultores.

Outra questão que deve ser levada em consideração é em relação a tolerância desses materiais frente a incidência dessas pragas no campo. Pois, seria extremamente benéfico para o manejo de ambas as pragas se esses materiais, além de interferir no comportamento de alimentação e/ou no crescimento/desenvolvimento,

também suportassem maior incidência da praga sem perder em produtividade. Para isso, estudos futuros devem ser realizados, principalmente, em condições de campo.

Neste trabalho foi verificado que o balanço entre os conteúdos de proteínas total e taninos totais são características relacionadas a resistência de cultivares de algodão a *C. virescens*. Assim, em programas de melhoramento essa característica pode ser mais bem explorada, sem alterar as questões de produtividade e qualidade da fibra de algodão. Isso pode ser realizado identificando materiais com menor concentração de proteína total nas folhas e maior de taninos totais, identificando os genes responsáveis por esse fenótipo e verificar sua expressão em outros materiais, dentre outras possibilidades, porém sempre em parcerias com programas de melhoramento de plantas.

A cultivar DeltaOpal foi adotada como padrão de suscetibilidade, porém, para *S. cosmioides* verificou-se como o material que mais interferiu negativamente no crescimento/desenvolvimento dos insetos. Porém, por conta de impropriedades nutricionais dessa cultivar aos insetos de *S. cosmioides* há um grande consumo foliar pelas lagartas, e isso pode refletir em danos mais acentuados na produtividade da cultura, quando comparado aos materiais em que se teve menor consumo pelas lagartas.

Dessa forma, este estudo contribui de forma efetiva no manejo de ambas as pragas, fornecendo ferramentas essenciais para seleção de cultivares ou genótipos não comerciais, contribuindo para programas de melhoramento de plantas que visam identificar materiais com características de resistência a *S. cosmioides* e *C. virescens*. Bem como, disponibilizando aos produtores o conhecimento de cultivares que apresentam resistência moderada e produtivos, e que estão aptos a serem utilizados no campo.