



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



MARINA MOUZINHO CARVALHO

**ARRANJOS DE SEMEADURA E AÇÃO DA TEMPERATURA NA RESPOSTA DE
PLANTAS DE SOJA AO ATAQUE DE *Euschistus heros* (Fabricius) (HEMIPTERA:
PENTATOMIDAE) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Botucatu

2017

MARINA MOUZINHO CARVALHO

**ARRANJOS DE SEMEADURA E ACÇÃO DA TEMPERATURA NA RESPOSTA DE
PLANTAS DE SOJA AO ATAQUE DE *Euschistus heros* (Fabricius) (HEMIPTERA:
PENTATOMIDAE) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp
Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientadora: Profa. Dra. Regiane Cristina Oliveira de Freitas Buenos

Co-orientador: Prof. Dr. William Wyatt Hoback

Botucatu

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

C331a Carvalho, Marina Mouzinho, 1988-
 Arranjos de semeadura e ação da temperatura na resposta de plantas de soja ao ataque de *Euschistus heros* (Fabricius) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) / Marina Mouzinho Carvalho. - Botucatu : [s.n.], 2017
 92 p. : il. color ., grafs., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017

Orientador: Regiane Cristina Oliveira de Freitas Buenos

Coorientador: William Wyatt Hoback

Inclui bibliografia

1. Soja. 2. *Bacillus thuringiensis*. 3. Estresse oxidativo. 4. Fotossíntese. I. Buenos, Regiane Cristina Oliveira de Freitas. II. Hoback, William Wyatt. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "ARRANJOS DE SEMEADURA E AÇÃO DA TEMPERATURA NA RESPOSTA DE PLANTAS DE SOJA AO ATAQUE DE *Euschistus heros* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) E *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)"

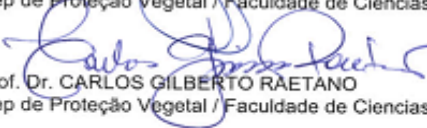
AUTORA: MARINA MOUZINHO CARVALHO

ORIENTADORA: REGIANE CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS BUENO


COORIENTADORA: WILLIAM WYATT HOBACK

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. REGIANE CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS BUENO
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Prof. Dr. CARLOS GILBERTO RAETANO
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Profa. Dra. GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA
Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. PEDRO TAKAO YAMAMOTO
Departamento de Entomologia e Acarologia / ESALQ - USP


Dr. CRISTIANE MÜLLER
Depto. Pesquisa e Desenvolvimento / Dow AgroScience

Botucatu, 09 de maio de 2017.

Aos meus pais José Ribamar e Rosimar, e ao irmão Eduardo pelo incentivo e paciência pela minha ausência.

Ao meu namorado Colton por todo amor, carinho e cumplicidade.

Aos meus tios Trajano e Rosilene, José Aparecido e Dejane, Dora Alice e Rosinalva por todo apoio e incentivo.

Aos meus primos Alice, Arthur, Davi e Gustavo por todos os momentos de alegria.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno pela orientação e a oportunidade de realização desse trabalho.

A todos os professores do Departamento de Proteção Vegetal pelos conhecimentos transmitidos.

À Prof.^a Dr.^a Giuseppina Pace Pereira Lima, pelos ensinamentos e por disponibilizar as instalações do Departamento de Química e Bioquímica para que parte deste trabalho fosse executado.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Proteção de Plantas, por todas as oportunidades e apoio.

Aos funcionários do Departamento de Proteção Vegetal e da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão, por toda ajuda, ensinamentos e momentos de descontração.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos amigos do Laboratório AGRIMIP, Ana Laura Favoreto, Bruna Favetti, Carlos Alexandre Alves, Diego Souza e João Paulo Pereira Paes, por toda a ajuda e conselhos, mas principalmente pela amizade.

Aos estagiários Felipe Fortuna, Fernando Martini, João Seber, Laís Luna por toda dedicação a esse trabalho e companherismo.

Aos amigos Camila Braga, Débora Latorre, Denise Basso, Felipe Sperotto, Leidiane Carvalho, Leysimar Pitzr, Milena Galhardo e Nádia Maebara Bueno, por todos os momentos compartilhados, por todo carinho e apoio.

Ao Prof. Dr. Wyatt Hoback pela co-orientação e por disponibilizar as instalações da Oklahoma State University para que parte deste trabalho pudesse ser executado.

Ao Prof. Dr. Francisco Ochoa Corona pelos ensinamentos, amizade, apoio e paciência.

Aos amigos de Oklahoma, Carolina Cardozo, Caren Mendonca, Claudia Ruiz-Diniz, Felipe Cervelhos, Fernanda Proaño, Gabriela Orquera, Liz Peña e Samolé Suarez, por toda ajuda e por terem me proporcionado momentos inesquecíveis.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

As plantas, por estarem constantemente expostas a diversos tipos de estresses, podem ser influenciadas pelo meio onde são cultivadas, resultando em alterações no desenvolvimento e metabolismo, e que, conseqüentemente, poderão influenciar em mudanças nas interações insetos-praga. Neste sentido, objetivou-se com esse estudo, avaliar as relações entre plantas de soja submetidas a estresses causados por arranjos de semeadura e aumento de temperatura, e as conseqüência desses fatores na interação insetos-praga que ocorrem na cultura. Para isso foram realizados dois experimentos. No primeiro experimento foram estudados, durante dois anos agrícolas consecutivos, os arranjos de semeadura: convencional 40 cm, reduzido 20 cm, fileira dupla 20 x 40 cm, e fileira dupla 20 x 60 cm; e diferentes populações de plantas: 320.000, 427.000 e 537.000 plantas ha⁻¹. Foram avaliados nesse experimento a ocorrência de percevejos-praga durante todo o ciclo da cultura, os danos causados por percevejos/grão, três enzimas oxidativas e a produtividade. No segundo ensaio foi avaliado, em plantas de soja *Bt* e não *Bt*, o efeito de diferentes temperaturas nos parâmetros fisiológicos, na expressão do gene da proteína catalase e nos danos causados por *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae). Em ambos experimentos foi verificado a influência do estresse nas plantas de soja por fatores bióticos e abióticos, com alteração nos parâmetros fisiológicos e na atividade das enzimas. No primeiro experimento durante o primeiro ano agrícola as plantas em arranjos de semeadura fileira dupla 20 x 40 e 20 x 60 tiveram a menor expressão das enzimas oxidativas inicialmente, pois estavam menos estressadas devido ao maior espaçamento entre linhas, porém, com o aumento dos percevejos nesses arranjos houve também o aumento da atividade das enzimas resultante do estresse ocasionado pelo ataque desses insetos. No segundo ano agrícola não houve diferença estatística na população de percevejos. Em relação a produtividade não houve diferença estatística no primeiro ano agrícola, e no segundo ano foram observados maiores médias nos tratamentos com arranjo de semeadura convencional e reduzido. No segundo experimento, mesmo em altas temperaturas as plantas *Bt*

mantiveram eficiência de controle de *C. includens*, pois foram menos danificadas que as plantas não *Bt*, como foi observado nas avaliações de desfolha, área foliar e peso seco. O gene da enzima catalase no tratamento controle foi mais ativo na soja não *Bt*, porém nos demais tratamentos, com maiores temperaturas, foram observados maior expressão do gene em plantas *Bt*.

Palavras-chave: *Glycine max*, fotossíntese, estresse oxidativo, *Bacillus thuringiensis*.

ABSTRACT

Plants, because they are constantly exposed to different types of stresses, can be influenced by the environment where they grow, resulting in changes in development and metabolism, and, consequently, may influence changes in insect-pest interactions. Thus, the purpose of this study was to evaluate the relationships between soybean plants submitted to stresses caused by planting arrangements and temperature increase, and the consequences of these factors on the insect-pest interaction that occur in the crop. For that two experiments were performed. In the first experiment, during two consecutive agricultural years were studied planting arrangements: conventional 40 cm, reduced 20 cm, double row 20 × 40 cm, and double row 20 × 60 cm; And different plant populations: 320,000, 427,000 and 537,000 ha⁻¹ plants. In this experiment was evaluated the occurrence stink bugs during the whole crop cycle, the damage caused by stink bugs/ grain, three oxidative enzymes and productivity. In the second experiment was evaluated, on *Bt* and non-*Bt* soybean plants, the effect of different temperatures on physiological parameters, protein catalase gene expression and damage caused by *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae). In both experiments, the influence of stress on soybean plants was verified by biotic and abiotic factors, with changes in physiological parameters and enzyme activity. In the first experiment during the first agricultural year the plants in 20 × 40 and 20 × 60 double rows seeding had the lowest expression of the oxidative enzymes initially, since they were less stressed due to the greater spacing between rows, but with the increase of the stink bugs in these arrangements there was also an increase in the activity of the enzymes resulting from the stress caused by the attack of these insects. In the second agricultural year there was no statistical difference in the stink bug population. About the productivity, there was no statistical difference in the first agricultural year, and in the second year were observed higher averages in the treatments with conventional and reduced planting arrangement. In the second experiment, even at high temperatures *Bt* plants kept the control efficiency of *C. includens*, as they were less damaged than non-*Bt* plants, as observed in the

evaluations of defoliation, leaf area and dry weight. The gene of the catalase enzyme in the control treatment was more active in non-*Bt* soybean, but in the other treatments, with higher temperatures, higher gene expression was observed in *Bt* plants.

Keywords: *Glycine max*, photosynthesis, oxidative stress, *Bacillus thuringiensis*.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
CAPITULO I – Produtividade e resposta bioquímica de plantas de soja a arranjos de semeadura e ao ataque de percevejos (Família: Pentatomidae)	18
Resumo.....	20
Introdução.....	21
Material e métodos.....	22
Resultados.....	27
Discussão	31
Agradecimentos.....	34
Referências	34
CAPITULO II - Influência da temperatura na resposta de plantas de soja convencional e geneticamente modificadas ao ataque de <i>Chrysodeixis includens</i> (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae)	54
Resumo.....	56
Materiais e métodos.....	59
Resultados.....	64
Discussão	67
Agradecimentos.....	70
Referências citadas	70
2 CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
3 REFERÊNCIAS	88

1 INTRODUÇÃO GERAL

A soja [*Glycine max* (L.) (Merrill)] pertencente à família Fabaceae é de origem chinesa, e é relatada como base alimentar do povo chinês há mais de 5.000 anos. Destaca-se como uma cultura de grande importância econômica em todo o mundo, principalmente pela qualidade dos grãos, que possuem composição média de 37 a 42% de proteína e 18 a 21% de óleo, além de representar uma excelente fonte de vitaminas do complexo B, potássio, zinco, dentre outros minerais. A soja possui uma ampla diversidade de utilizações na elaboração de produtos industriais ou "in natura", como por exemplo: nutrição animal em forma de silagem e farelo, adubação verde, fabricação de adesivos, tecidos, tintas, fibras, cosméticos e produção de energia renovável na forma de biodiesel (BONATO et al., 2000, ENDRES, 2001; PRADO, 2007).

Além da importância mundial a cultura da soja possui destaque no cenário econômico nacional por representar significativa parcela do agronegócio brasileiro. A soja é um dos mais importantes produtos de exportação do país, com produção de 95.434,6 milhões de toneladas de grãos na safra 2015/16, e estimativa de 103.778,3 milhões de toneladas para a safra 2016/17. A área plantada com soja no país possui uma contínua tendência de crescimento que pode ser constatado pelo aumento de 1,6 % da safra 2016/2017 com 33.787,2 mil hectares em relação a 33.251,9 mil hectares de área plantada na safra 2015/2016. A soja é cultivada em todas as regiões do Brasil, no entanto, concentra-se principalmente no Centro-Oeste, responsável por 44,8% da produção, e no Sul do país com 34,7% (CONAB, 2017).

Porém, a produtividade da soja é frequentemente reduzida devido ao ataque de inúmeros insetos-praga, que ocorre durante todo o ciclo de produção. Após a emergência, pragas habitantes do solo como a lagarta-rosca, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1766) (Lepidoptera: Noctuidae) e a broca-do-colo, *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae) podem atacar as plântulas. Na fase vegetativa há presença de lagartas desfolhadoras como a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae), a lagarta-falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker 1857) (Lepidoptera: Noctuidae), o complexo *Spodoptera* composto por três espécies conhecidas como lagarta-das-vagens, *S. frugiperda* (J. E. Smith, 1797), *S.*

eridania (Cramer, 1782) e *S. cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), que além de causar desfolha se alimentam das vagens da cultura, assim coma as lagartas da subfamília Heliiothinae como *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera: Noctuidae), *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (MOSCARDI et al, 2012; ÁVILA; VIVAN; TOMQUELSKI, 2013).

Entre os insetos desfolhadores da cultura da soja a espécie *C. includens*, que era considerada até a década de 90 como praga secundária, atualmente tem destaque devido aos sérios danos ocasionados pela alta capacidade de consumo de área foliar, podendo chegar a 200 cm², além de estar presente em altas densidades populacionais praticamente em todas as lavouras de sojas nas últimas safras (EMBRAPA, 2008; TOMQUELSKI et al., 2015).

Nos Estados Unidos da América - EUA, *C. includens* é considerada praga-chave da soja e devido aos expressivos danos as medidas de controle são exigidas em várias épocas durante todo o ciclo da cultura (KOGAN; TURNPSEED, 1987). Geralmente, o método de controle mais utilizado para lagarta-falsa-medideira é o uso de inseticidas, porém, quando comparadas a lagarta-da-soja, *C. includens* é mais tolerante às doses utilizadas, além de possuir o hábito de ficar na porção inferior do dossel das plantas, tornando-a mais protegida dos inseticidas, dificultando assim o controle principalmente quando a soja está na fase reprodutiva, pois as folhas do topo oferecem mais barreiras às gotas de pulverização (HERZOG, 1980; GALLO et al., 2002; DEGRANDE; VIVAN, 2010).

Com o início da fase reprodutiva há o aumento da população dos percevejos sugadores de vagens, *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758), *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) e *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae), dentre outras espécies, que causam danos desde a formação das vagens até o final do enchimento dos grãos (MOSCARDI et al., 2012). A ocorrência dessas espécies nas regiões brasileiras pode variar em consequência da temperatura e da cultivar semeada (CIVIDANES; PARRA, 1994; MAGRINI et al., 1996; SILVA et al., 2006). O ataque desses insetos durante a fase de formação de grão pode ocasionar o aborto de grãos ou de vagens. Durante o período de enchimento de grãos, pode ocorrer o enrugamento,

deformações, a redução de produtividade e da qualidade de sementes, retenção foliar ou a presença de caules verdes no momento da colheita. E a severidade dos danos ocasionados pelos percevejos está relacionada principalmente ao estágio fenológico das plantas (GAZZONI, 1998; BELORTE et al., 2003).

O controle de percevejos, assim como o das lagartas desfolhadoras, tem sido realizado principalmente com uso de inseticidas, que apesar de ser um método rápido de controle e com alta eficiência, por estar sendo na maioria das vezes utilizado irracionalmente, tem resultado na seleção de populações resistentes, contaminação da água da superfície e do subsolo, contaminação de pássaros, mamíferos (selvagens e domesticados) e impacto sobre polinizadores (KOGAN, 1998; QUINTELA et al., 2006).

Em função desse cenário é importante buscar tecnologias que auxiliem ao uso racional de inseticidas, resultando em menos efeitos adversos ao meio ambiente (SILVA et al., 2009). Diante disso, a adoção do Manejo Integrado de Pragas (MIP), definido como o “Sistema de decisão para uso de táticas de controle, isoladamente ou associadas harmoniosamente, numa estratégia de manejo baseada em análises de custo/benefício que levam em conta o interesse e/ou impacto nos produtores, sociedade e ambiente” (KOGAN, 1998) é recomendado. Entretanto, antes da adoção de qualquer tática de controle é importante levar em consideração o nível de dano econômico (NDE) definido por Stern et al. (1959) como “a mais baixa densidade populacional de uma praga que resulta em dano econômico”, e que é uma ferramenta para a determinação do nível de ação (NA), ou seja, “a densidade populacional da praga na quais medidas de controle deverão ser tomadas para que o crescimento populacional não atinja o NDE” (PEDIGO, 2001).

Diante da importância do controle de insetos-praga da cultura da soja e dos conceitos sobre MIP, o uso de diferentes arranjos de semeadura, como método de controle cultural, pode ser uma vantajosa estratégia de manejo. A utilização de arranjos de semeadura consiste no princípio de que a arquitetura do dossel pode influenciar diretamente a atividade fotossintética como consequência da alteração da interceptação de luz solar pelas folhas. Assim, arranjos de semeadura que resultam em melhor distribuição das plantas na área podem incrementar a penetração de luz no dossel da

cultura, aumentando conseqüentemente a produção de fotoassimilados e resultando em maior rendimento de grãos (RAMBO et al., 2003).

A manipulação da distribuição de plantas de soja que resultam em diferentes arranjos de semeadura é possível porque plantas de soja possuem a característica de adaptação às condições ambientais e de manejo por meio de modificações na morfologia da planta e nos componentes da produtividade agrícola, particularidade essa conhecido como plasticidade. Essas modificações estão relacionadas tanto com a população de plantas quanto com o espaçamento entrelinhas (HEIFFIG, 2002).

Porém, há relatos de interferência dos arranjos de semeadura no sistema de produção de soja, o que pode promover maior produtividade, no entanto, também pode favorecer fatores não desejáveis como, competição inter e intra-específica das plantas por recursos ambientais, especialmente água e nutrientes (ARGENTA et al., 2001). Todas essas características podem resultar em impacto na relação artrópode-planta, tanto pela modificação do microclima (umidade e temperatura), resultante das mudanças na intensidade dos raios solares que atingirão as folhas do terço inferior e médio das plantas (RODRIGUES et al., 2010), quanto pela qualidade fisiológica e morfológica das plantas em consequência das interferências causadas pelas diferentes populações de plantas e espaçamentos entrelinhas. Esse cenário destaca a necessidade do conhecimento de interações dos diferentes arranjos de semeadura com fatores bióticos e abióticos para estabelecer o conjunto de práticas mais favoráveis à produtividade desta cultura.

Outra valiosa alternativa para o controle de pragas na cultura da soja, e que vem crescendo no Brasil, é o uso plantas geneticamente modificadas com expressão da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner). A soja geneticamente modificada, RR2 PRO (MON 87701 x MON 89788), é a segunda geração da soja transgênica, uma evolução da soja RR1, e foi desenvolvida especialmente para o mercado brasileiro. A soja *Bt* expressa genes que codificam a proteína Cry1Ac de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* e da tolerância ao herbicida glifosato (CTNBio, 2010).

Essa tecnologia apresenta importantes características, com algumas vantagens que destacam essa estratégia em relação as demais, tais como: não acumula

resíduos nos alimentos, não interfere em outras práticas agrícolas como a colheita, não polui o ambiente, atua em qualquer nível de infestação da praga, é de fácil acesso ao agricultor, reduz as populações de insetos-praga a níveis que não causam danos econômicos, não afeta o equilíbrio do agroecossistema, apresenta facilidade na utilização e compatibilidade com os demais métodos de controle (VENDRAMIM, 1990; LARA, 1991; ROMEIS et al., 2006; YU et al., 2011).

Porém, há relatos da perda de eficiência da tecnologia *Bt* como consequência da redução de proteínas inseticidas (FINNEGAN; MCELORY, 1994; BENEDICT et al., 2014a). Isso ocorre como resultado da influência de alguns fatores como idade da planta e estágio reprodutivo e fatores ambientais (BENEDICT et al., 2014b; WU et al., 1997). Entre os fatores ambientais, há relatos que após altas temperaturas pode haver redução da expressão das proteínas inseticidas (WU et al., 2002; CHEN et al., 2005; FENG et al., 2011; CHEN et al., 2014).

Diante deste cenário há a hipótese que fatores abióticos como mudança de espaçamentos, aumento da população de plantas e aumento da temperatura podem interferir nos aspectos fisiológicos e na atividade enzimática de plantas de soja, que resultarão em mudanças na interação dessas plantas com os insetos-praga da cultura. Portanto, para analisar o efeito destes estresses em plantas de soja, este trabalho teve por objetivos específicos: a) avaliar o efeito de arranjos de semeadura no metabolismo de plantas de soja por meio de análises bioquímicas; b) verificar a flutuação populacional de percevejos em plantas de soja submetidas a diferentes arranjos de semeadura; c) analisar a resposta de plantas de soja *Bt* e convencional submetidas a altas temperaturas através de análise de parâmetros fisiológicos e enzima oxidativa catalase; d) analisar a eficiência das plantas *Bt* no controle de *C. includens* após submetidas a altas temperaturas .

Para atingir os objetivos a tese foi dividida em dois capítulos. O primeiro intitulado “Influência da densidade de plantas em arranjos de semeadura sobre o metabolismo da cultura da soja e a flutuação populacional de percevejos fitófagos (Família: Pentatomidae)” e o segundo intitulado “Influência da temperatura no metabolismo de plantas de soja geneticamente modificadas e no controle de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae)”.

**CAPITULO I – Produtividade e resposta bioquímica de plantas de soja a arranjos de
semeadura e ao ataque de percevejos (Família: Pentatomidae)**

Revista: Environmental Entomology

1 M. M Carvalho
2 UNESP – FCA
3 1780 José Barbosa de Barros St.
4 Botucatu, SP 18.610-307
5 Phone: +55 (63) 9218-1130
6 E-mail: mouzinho.marina@gmail.com
7

8
9
10 **Produtividade e resposta bioquímica de plantas de soja a arranjos de semeadura e**
11 **ao ataque de percevejos (Família: Pentatomidae)**

12
13 **Productivity and biochemical response of soybean plants to planting arrangements**
14 **and stink bug attack (Family: Pentatomidae)**

15 M. M. Carvalho¹, G. P. P. Lima², D. M. Souza¹, C. G. Raetano¹, R. O. de F. Bueno¹

16
17 ¹Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências
18 Agronômicas, Departamento de Proteção Vegetal, 1780 José Barbosa de Barros St,
19 Botucatu, SP 18.610-307

20 ²Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências,
21 Departamento de Química e Bioquímica, Prof. Dr. Antonio Celso Wagner Zanin St,
22 Botucatu, SP 18618-689

23
24
25
26

27 **Resumo**

28 Objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito de diferentes arranjos de semeadura e da
29 alimentação de percevejos na produtividade e na atividade de enzimas oxidativas em
30 plantas de soja. Para tanto, foram realizados dois experimentos, em duas safras agrícolas
31 (2014/2015 e 2015/2016) em esquema fatorial 4 x 3, quatro arranjos de semeadura
32 (convencional, reduzido, fileira dupla 20 x 40, fileira dupla 20 x 60) e três populações de
33 plantas (320.000, 427.000 e 537.000 plantas ha⁻¹). A flutuação populacional de
34 percevejos foi avaliada semanalmente por meio de monitoramento com pano-de-batida.
35 Quando atingido o nível de controle foi realizada aplicação de inseticida. Em diferentes
36 estádios fenológicos, na safra 2014/2015, foi realizada a quantificação da atividade
37 enzimática de peroxidase, polifenoloxidase e teor de fenóis totais. Após a colheita, em
38 ambas safras, avaliou-se os danos nos grãos causados por percevejos pelo teste de
39 tetrazólio e produtividade. A incidência de percevejos foi maior nos arranjos de
40 semeadura fileira dupla 20 x 40 e 20 x 60. Foi observado resposta das plantas à
41 alimentação dos percevejos pela atividade das enzimas oxidativas e fenóis totais, pois,
42 onde a incidência destes insetos foi maior houve maior atividade dos parâmetros
43 bioquímicos avaliados. Na safra 2014/2015 não foi observado influência dos arranjos na
44 produtividade. Na safra 2015/2016 a produtividade foi maior nos arranjos convencional e
45 reduzido.

46

47 **Palavras-chave:** *Glycine max* (L.) Merrill, Manejo integrado de pragas, controle cultural.

48

49

50 **Introdução**

51 A produtividade da cultura da soja pode ser influenciada por diversos fatores, entre
52 eles a ocorrência de insetos-pragas destaca-se de forma negativa, pois causa
53 significativas perdas e aumento dos custos de produção. Os percevejos sugadores de
54 vagens, *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758), *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) e
55 *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae), dentre outras espécies,
56 são muito importantes, pois estão presentes na soja desde a formação das vagens até o
57 final do enchimento dos grãos, prejudicando o produto final da cultura por meio de sérios
58 danos como redução do peso e da qualidade de grãos (Corrêa-Ferreira 2005 e Moscardi
59 et al. 2012)

60 Assim, é necessário o aperfeiçoamento de tecnologias utilizadas na condução da
61 cultura, principalmente, quando estas influenciam na incidência insetos-pragas e nas
62 características agronômicas. Os arranjos de semeadura vêm sendo muito estudados
63 nesse sentido, pois podem aumentar os ganhos em produtividade, como consequência
64 da variação da densidade de plantas nas linhas e do espaçamento da cultura, interferir
65 no índice de área filiar e na velocidade de fechamento das entrelinhas (Tourino et al. 2002
66 e Bianchi et al. 2010). Os arranjos de semeadura também podem influenciar a relação
67 artrópode-plantas como resultado da modificação no microclima causado pela maior
68 exposição aos raios solares que atingirão as folhas do terço inferior e médio, que é um
69 fator limitante para o desenvolvimento de uma população de insetos-praga (Rodrigues et
70 al. 2010).

71 Como consequência das alterações na morfologia das plantas de soja e das
72 flutuações populacionais de percevejos pode ocorrer o aumento da produção de espécies

73 reativas de oxigênio (EROs ou ROS) que é uma alteração metabólica importante para as
74 plantas em condições de estresse biótico e abiótico (Van Breusegem et al. 2001, Apel &
75 Hirt 2004, e Foyer & Noctor 2005). A eliminação das EROs e a proteção contra os danos
76 oxidativos em plantas são realizados pelos sistemas de defesa antioxidantes enzimáticos
77 e não-enzimáticos. O primeiro grupo, representado pelas enzimas superóxido dismutase
78 (SOD), catalases (CAT), peroxidases (POD), glutaciona peroxidase (GPX), ascorbato
79 peroxidase (APX), glutaciona redutase (GR) e glutaciona S-transferase (GSTs), e o
80 segundo por compostos não enzimáticos como vitamina C e, glutaciona (GSH), β -
81 caroteno, compostos fenólicos, tocoferóis e poliaminas (Hernández et al. 2001, Blokhina
82 et al. 2003, e Scandalios 2005).

83 Diante deste cenário, há a hipótese que as mudanças de espaçamento entre
84 linhas e o aumento da população de plantas decorrentes dos arranjos de semeadura, e
85 as flutuações populacionais de percevejos podem causar diferentes respostas
86 bioquímicas e de produtividade.

87 Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de diferentes arranjos de
88 semeadura e da flutuação populacional do complexo de percevejos da soja na respostas
89 bioquímicas das plantas por meio de análises das enzimas (atividade das enzimas
90 peroxidase, polifenoloxidase e teor de fenóis) e da produtividade.

91

92 **Material e métodos**

93 Instalação do experimento

94 Os experimentos foram conduzidos, durante as safras 2014/2015 e 2015/2016, na
95 área experimental das Fazendas de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da Faculdade

96 de Ciências Agrônômicas, da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” –
97 UNESP, Campus de Botucatu, localizada nas coordenadas geográficas de 22° 53’ 25” S
98 e 48° 27’ 19” W, a uma altitude de 810 metros (Figura 1).

99 As flutuações de temperatura (°C) e precipitação (mm) na safras agrícolas
100 2014/2015 e 2015/2016 foram verificadas junto a Estação Meteorológica – UNESP/FCA
101 (Figura 2 e 3).

102 O solo, considerado do tipo Latossolo Vermelho (Embrapa 2006) foi corrigido no
103 momento da semeadura utilizando 200 kg/ha da formulação comercial 0-20-20 (N-P-K)
104 para todos os tratamentos, de acordo com os resultados obtidos a partir da análise
105 química do solo a profundidade de 0-20 cm. A semeadura foi realizada com a semeadora-
106 adubadora da marca comercial Semeato® modelo SHM 15/17, utilizando a cultivar
107 5D634RR (hábito de crescimentos indeterminado). As sementes foram tratadas com
108 fungicida carboxina + tiram (300 ml/100 kg de sementes), inseticida tiametoxam (300
109 ml/100 kg de sementes), e posteriormente foi realizada a inoculação de suspensão de
110 *Bradyrhizobium* (60g/50 kg de sementes).

111 Os arranjos de semeadura em função do espaçamento entre linhas possuem
112 diferentes quantidades de metros de linha por hectare, o que resulta em diferentes
113 número de plantas por metro de linha, mesmo que numa mesma população de plantas,
114 ocorrendo o mesmo com a quantidade de adubo por metro de linha por hectare (Tabela
115 1).

116

117 Delineamento experimental

118 O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 4x3
119 (quatro arranjos de semeadura e três populações de plantas), totalizando doze
120 tratamentos (Tabela 1). O experimento foi composto por quatro repetições, com parcelas
121 dimensionadas em 07 x 07 m (comprimento x largura).

122 Foram avaliados os arranjos de semeadura: a) Convencional com espaçamento
123 de 0,40 m entre linhas; b) Fileira dupla 20 x 40 cm com duas linhas de soja espaçadas
124 entre si por 20 cm e com espaçamento externo de 40 cm entre linhas; c) Fileira dupla 20
125 x 60 cm com duas linhas de soja espaçadas entre si por 20 cm e com espaçamento
126 externo de 60 cm; d) Reduzido com espaçamento entre linhas de 20 cm. E as populações
127 de plantas utilizadas foram P1 = 320.000 plantas ha⁻¹, P2 = 427.000 plantas ha⁻¹ e P3 =
128 537.000 plantas ha⁻¹.

129

130 Monitoramento de percevejos e manejo fitossanitário

131 O monitoramento da flutuação populacional foi realizado desde o aparecimento
132 dos primeiros percevejos, com avaliações semanais, utilizando o método da batida-de-
133 pano em quatro pontos/parcela. As amostragens foram realizadas sempre nos mesmos
134 pontos dentro de cada parcela com o objetivo de eliminar o efeito de estresse nas plantas
135 em todas as parcelas e assim diminuir os fatores que podiam influenciar as análises de
136 enzimas e produtividade. Ao final do experimento foi realizado teste de tetrazólio com a
137 finalidade de avaliar os danos resultantes do ataque de percevejos; para isto, foram
138 retiradas aleatoriamente duas amostras com 50 grãos em cada parcela e avaliados
139 segundo a metodologia de França Neto et al. (1998).

140 As amostragens influenciaram a tomada de decisão para o controle de percevejos,
141 sendo realizado somente se o nível de controle recomendado para cada fase de
142 desenvolvimento da planta fosse atingido. O nível de controle utilizado foi o de dois
143 percevejos por metro (Hoffman-Campo et al. 2012). Na safra 2014/2015, foi realizado o
144 controle de percevejos com lambda-cialotrina ($28 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$) + tiametoxam ($21 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$)
145 apenas nos tratamentos que atingiram o nível de controle. Na safra 2015/2016 a
146 população de percevejos não atingiu o nível de controle, assim não foi necessário a
147 realização de aplicação.

148 Em ambas as safras agrícolas foi monitorada a população de lepidópteros
149 desfolhadores, durante todo o ciclo da cultura, porém devido à baixa população não foi
150 necessário o controle desse grupo de insetos.

151 A doença ferrugem asiática foi controlada, em ambas safras, de forma preventiva
152 com duas pulverizações nos estádios reprodutivos R1 e R3 na primeira safra, e três
153 aplicações nos estádios R1, R3 e R5.1 na segunda. Na safra 2014/2015 foi utilizado o
154 fungicida azoxistrobina ($60 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$) + ciproconazol ($24 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$) e na safra 2015/2016
155 o fungicida trifloxistrobina 150 g/L + protioconazol 175 g/L , acrescidos de adjuvante óleo
156 mineral a 0,5% do volume da calda de aplicação.

157 O controle de plantas daninhas foi realizado, nas safras 2014/2015 e 2015/2016,
158 na pré-semeadura com a operação de gradagem do solo e posteriormente com a
159 pulverização do herbicida glifosato ($1,5 \text{ kg ha}^{-1}$) no estágio vegetativo V3.

160 Em ambas as safras agrícolas, as pulverizações foram realizadas com um
161 pulverizador Advance Vortex 2000 com barras de 18,5 m de comprimento, equipado com

162 37 pontas de pulverização de jato plano 110 02 operando à pressão de 295 kPa para
163 aplicação de 200 L ha⁻¹ sem assistência de ar na barra.

164

165 Atividade enzimática

166 Para estudar a resposta das plantas de soja aos diferentes arranjos de semeadura
167 e ao ataque de percevejos foram realizadas análises para avaliar a atividade das enzimas
168 peroxidase, polifenoloxidase e teor de fenóis totais, na safra 2014/2015, nos estádios
169 fenológicos V3 e R1 (plantas estavam sob baixa pressão de percevejos) e R4, R5.2 e
170 R5.4 (plantas estavam sob alta pressão de percevejos - nível de controle). Para isso,
171 foram coletadas amostras do terço médio de cinco plantas, por serem esses totalmente
172 expandidas e conterem teores estáveis de fotoassimilados, de maneira aleatória, em
173 cada repetição, formando quatro amostras compostas de cada tratamento. As amostras
174 foram coletadas, congeladas em nitrogênio líquido, embaladas em saco plástico,
175 etiquetadas, colocadas em caixas com isolamento térmico, transportadas até o
176 Laboratório de Química e Bioquímica, do Instituto de Biociências da UNESP, Campus
177 Rubião Junior, Botucatu, SP, onde foram mantidas a temperatura -20°C para posterior
178 extração da fonte enzimática.

179 A extração da fonte enzimática foi realizada utilizando 300 mg do material vegetal,
180 homogeneizado em 5 mL de tampão acetato de sódio pH 5,0 (gelado), seguido de
181 centrifugação a 10.000 × g (Hettich- Micro 220R) durante 10 min a 4 °C. A atividade da
182 enzima peroxidase (POD) ($\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2$ decomposto. min^{-1} . g^{-1} . massa fresca) foi
183 determinada utilizando 1 mL do sobrenadante e seguindo o método descrito por Allain et
184 al. (1974) modificado por Lima et al. (1999). A leitura do extrato foi realizada em

185 espectrofotômetro, no comprimento de onda 505 nm. A atividade de polifenoloxidase
186 (PPO) ($\mu\text{mol catecol oxidado. min}^{-1}.\text{g}^{-1}$ massa fresca) foi determinada pelo método
187 descrito por Kar e Mishra (1976), modificado por Lima et al. (1999), utilizando 0,3 mL do
188 extrato e procedendo a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda 395 nm.

189 A determinação do teor de fenóis totais (FT) ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) foi realizada de acordo
190 com o método espectrofotométrico com o uso do reativo de Folin-Ciocalteu (Singleton e
191 Rossi Jr 1965). A extração foi realizada utilizando 500 mg do material vegetal,
192 homogeneizado com 5 mL de metanol 80%, seguido de banho ultrassônico por 20 min e
193 centrifugação a $5.000 \times \text{g}$ (Hettich- Micro 220R) durante 10 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Essa sequência
194 de procedimentos foi realizada duas vezes. A leitura do extrato foi feita no comprimento
195 de onda 7655 nm.

196

197 Análise estatística

198 Os dados foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as
199 pressuposições de normalidade dos resíduos, a homogeneidade de variância dos
200 tratamentos e a aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA.
201 Posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) utilizando
202 o programa Sisvar (Ferreira 2010).

203

204 Resultados

205 Nas safras 2014/2015 e 2015/2016 foi verificado que entre as espécies de
206 percevejos *E. heros* foi a de maior ocorrência, seguido por *P. guildinii* e *N. viridula*. Da
207 mesma forma, em ambas safras, apesar da infestação de percevejos ter iniciado no

208 período vegetativo da soja não foi constatada a presença significativa deste grupo de
209 insetos nesta fase da cultura.

210 Durante a safra 2014/2015 desde o primeiro estágio reprodutivo R1 foi verificada
211 maior presença de percevejos no arranjo de semeadura fileira dupla 20 x 40 na segunda
212 população de plantas (P2), diferindo dos demais tratamentos ($F = 5,438$; $df = 6$; $P =$
213 $0,0005$) (Tabela 2). Nas demais avaliações, R2 ($F = 1,264$; $df = 6$; $P = 0,2981$), R3 ($F =$
214 $3,417$; $df = 6$; $P = 0,0090$), R4 ($F = 1,480$; $df = 6$; $P = 0,2129$), R5.1 ($F = 1,601$; $df = 6$; $P =$
215 $0,1753$), R5.2 ($F = 0,472$; $df = 6$; $P = 0,1242$), R5.3 ($F = 5,438$; $df = 6$; $P = 0,0005$), R5.4
216 ($F = 1,057$; $df = 6$; $P = 0,3060$), R5.5 ($F = 1,553$; $df = 6$; $P = 0,1896$) e R6 ($F = 3,552$; $df =$
217 6 ; $P = 0,0073$), foi observado que os arranjos de semeadura fileira dupla 20 x 40 e 20 x
218 60 foram mais infestados por percevejos que os demais tratamentos.

219 O controle químico foi realizado três vezes de acordo com as amostragens. No
220 estágio reprodutivo R2 o arranjo de semeadura fileira dupla 20 x 60 na população P3
221 atingiu o nível de controle e foi necessário a primeira aplicação, que foi realizada apenas
222 neste tratamento. Em R5.2 o mesmo arranjo de semeadura nas populações de plantas
223 P2 e P3 ultrapassaram o nível de controle e uma nova aplicação foi realizada. A última
224 aplicação foi realizada no estágio reprodutivo R5.4 quando foi observado nível de controle
225 nos arranjos de semeadura fileira dupla 20 x 40 e 20 x 60 em todas as populações.

226 Na safra 2015/2016 no estágio reprodutivo R1 a ocorrência de percevejos no
227 arranjo de semeadura reduzido e fileira dupla 20 x 40 foi menor que no arranjo
228 convencional na população P1 ($F = 1,643$; $df = 6$; $P = 0,1638$), mas na população P2 ($F =$
229 $0,236$; $df = 2$; $P = 0,7908$) apenas houve diferença estatística entre os arranjos fileira
230 dupla 20 x 60 e reduzido, este último com menor incidência de percevejos ($F = 0,374$; df

231 = 3; $P = 0,7725$) (Tabela 3). Nos estádios reprodutivos R3 ($F = 0,905$; $df = 6$; $P = 0,5022$)
232 e R4 ($F = 0,902$; $df = 6$; $P = 0,5040$) apesar do aumento da população de percevejos não
233 houve diferença estatística entre as interações (Tabela 3).

234 Em R5.1 ($F = 2,905$; $df = 6$; $P = 0,0803$) nas populações P2 e P3 o arranjo de
235 semeadura fileira 20 x 60 foi mais infestado que o reduzido (Tabela 3). Nas demais
236 avaliações R5.2 ($F = 0,306$; $df = 6$; $P = 0,4299$), R5.3 ($F = 0,907$; $df = 6$; $P = 0,5006$), R5.4
237 ($F = 0,796$; $df = 6$; $P = 0,5791$), R5.5 ($F = 0,343$; $df = 6$; $P = 0,7090$) e R6 ($F = 1,028$; $df =$
238 6 ; $P = 0,4229$) não houve diferença estatística nos tratamentos estudados (Tabela 3).
239 Não foi realizado controle de percevejos durante a safra 2015/2016 uma vez que em
240 nenhum estágio de desenvolvimento da cultura foi atingido o nível de controle (Tabela 3).

241 Com relação a atividade da enzima peroxidase (Tabela 4), houve diferença
242 estatística entre os tratamentos. Em V3 ($F = 4,345$; $df = 6$; $P = 0,0021$) a atividade
243 enzimática no arranjo reduzido foi maior nas populações P1 e P2, e em P3 no arranjo
244 convencional. Em R1 ($F = 1,477$; $df = 6$; $P = 0,2136$) o arranjo convencional na população
245 P1 diferiu estatisticamente do fileira dupla 20 x 40, porém para a população P2 os arranjos
246 convencional e reduzido apresentaram maior atividade da peroxidase em relação ao
247 arranjo fileira dupla 20 x 40. Em R4 ($F = 5,397$; $df = 6$; $P = 0,0000$) e R5.2 ($F = 2,638$; df
248 $= 6$; $P = 0,0318$) e R5.4 ($F = 5,086$; $df = 6$; $P = 0,0002$) foi observado tendência dos
249 arranjos de semeadura fileira dupla 20 x 40 e 20 x 60 apresentarem maior atividade da
250 peroxidase, sendo esse efeito mais perceptível nas populações com maiores números
251 de plantas.

252 Para enzima polifenoloxidase (Tabela 5), não foi observada interação significativa
253 nas avaliações realizadas no estágio vegetativo V3 ($F = 0,880$; $df = 6$; $P = 0,5195$) e nos

254 reprodutivos R1 ($F = 3,455$; $df = 6$; $P = 0,0000$) e R4 ($F = 0,526$; $df = 6$; $P = 0,7846$). Em
255 R5.2 ($F = 4,364$; $df = 6$; $P = 0,0021$) e R5.4 ($F = 4,655$; $df = 6$; $P = 0,0000$) nos tratamentos
256 fileira dupla 20×40 e 20×60 a atividade da enzima polifenoloxidase foi maior em relação
257 aos tratamentos convencional e reduzido.

258 Quanto ao teor de fenóis totais (Tabela 6), também não foi observada interação
259 significativa nas avaliações realizadas no estágio vegetativo V3 ($F = 2,062$; $df = 6$; $P =$
260 $0,1347$) e nos reprodutivos R1 ($F = 0,512$; $df = 6$; $P = 0,7882$) e R4 ($F = 1,801$; $df = 6$; P
261 $= 0,1817$). Em R5.2, os arranjos de semeadura convencional e reduzido apresentaram
262 maiores teores de fenóis em relação aos demais arranjos em todas as populações ($F =$
263 $1,066$; $df = 6$; $P = 0,4335$). Em R5.4 também não houve diferença estatística entre os
264 tratamentos ($F = 2,055$; $df = 6$; $P = 0,1358$).

265 Não houve diferença no número médio de danos de percevejos por grão nas safras
266 2014/2015 ($F = 0,559$; $df = 6$; $P = 0,7600$) e 2015/2016 ($F = 0,596$; $df = 6$; $P = 0,7347$) em
267 nenhum dos tratamentos avaliados (Tabela 7). O peso de mil grãos (g) também não
268 sofreu influência dos arranjos de semeadura, tanto na safra 2014/2015 ($F = 1,556$; $df =$
269 6 ; $P = 0,1885$) quanto na safra 2015/2016 ($F = 0,422$; $df = 6$; $P = 0,8597$) (Tabela 8). Na
270 safra 2014/2015, a produtividade em peso líquido (kg ha^{-1}) ($F = 0,422$; $df = 6$; $P = 0,8597$)
271 e sacas ha^{-1} ($F = 0,422$; $df = 6$; $P = 0,8597$) também não foi verificada diferença estatística
272 entre os tratamentos (Tabela 9). Na safra 2015/2016 foi estatisticamente diferente em
273 relação ao peso líquido (kg ha^{-1}) ($F = 0,422$; $df = 6$; $P = 0,8597$) e sacas ha^{-1} ($F = 0,422$;
274 $df = 6$; $P = 0,8597$), onde os arranjos de semeadura convencional e reduzido destacaram-
275 se positivamente (Tabela 9).

276

277 **Discussão**

278 A espécie *E. heros* foi a mais abundante nos dois anos agrícolas de realização
279 deste estudo, assim como ocorre na maioria das regiões produtoras de soja do país
280 (Panizzi et al. 2012 e Vivan 2012), e esta significativa densidade populacional de *E. heros*
281 nas duas últimas décadas tem sido favorecida devido a capacidade de entrar em
282 oligopausa na entressafra e de pelo aumento das médias de temperaturas registradas no
283 continente sul-americano (Sosa-gómez et al. 2009 e Hoffmam-Campo et al. 2012)

284 Os primeiros percevejos foram observados no final do período vegetativo da
285 cultura, assim como ocorre em áreas produtoras de soja, mas em populações baixas e
286 gradativamente aumentaram com o desenvolvimento das vagens e enchimento de grãos.
287 Isso, provavelmente, está relacionado ao estado nutricional mais adequado ao
288 desenvolvimento desse complexo de insetos (Panizzi & Vivan 1997, Corrêa-Ferreira &
289 Panizzi 1999, Corrêa-Ferreira et al. 2009).

290 Nas duas safras, apesar das flutuações populacionais dos percevejos, foi
291 observado que os arranjos de semeadura fileira dupla 20 x 40 e 20 x 60 foram mais
292 atrativos para estes insetos, pois foram os mais infestados durante os dois anos agrícolas
293 do experimento. Na primeira safra o nível de controle foi ultrapassado em três estádios
294 fenológicos e apenas nos arranjos com semeadura em fileira dupla, sendo o controle
295 químico realizado apenas nesses tratamentos. Em estudos preliminares foi demonstrado
296 que o espaçamento entre fileiras de plantas tem um impacto na incidência de organismos
297 herbívoros (Cierpisz et al. 2016) e que os percevejos permanecem maior tempo se
298 alimentando no arranjo de semeadura fileira dupla (Carvalho 2014). Há ainda as

299 hipóteses, que percevejos tenham preferência por determinados arranjos ou seu controle
300 é mais eficiente em alguns deles (Souza 2016b).

301 Esses resultados evidenciam ainda a importância da amostragem dos insetos-
302 praga no contexto do Manejo Integrado de Pragas da soja (MIP - soja), pois foi possível
303 a identificação do momento correto para pulverização de inseticida e a distinção dos
304 tratamentos em que eram necessários a utilização do método de controle. Esse
305 procedimento resulta em redução de custos de controle fitossanitário e menor
306 interferência ao meio ambiente nos arranjos de semeadura em que a população de
307 percevejos não ultrapassaram o nível de controle.

308 Na safra 2015/2016, a população de percevejos não ultrapassou o nível de
309 controle devido as condições climáticas. Durante esse ano agrícola houve volume
310 pluviométrico acentuado e temperatura média baixa quando comparado a safra anterior
311 (Figura 2 e 3) nos meses de janeiro e fevereiro (Estação Meteorológica – UNESP/FCA,
312 2016), que coincidiram com o período reprodutivo da soja, a fase mais favorável ao
313 desenvolvimento desses insetos. Entre os fatores climáticos a temperatura influencia
314 diretamente os insetos em relação ao desenvolvimento e comportamento, e
315 indiretamente na alimentação (Silveira Neto et al. 1976). Nos meses de janeiro e fevereiro
316 as temperaturas médias foram 21,5 e 18,4°C (Figura 3) (Estação Meteorológica –
317 UNESP/FCA, 2016), respectivamente. No entanto, Cividanes & Parra (1994), Corrêa-
318 Ferreira & Panizzi (1999) e Hoffmann-Campo et al. (2000) relataram que a espécie de
319 percevejo *E. heros*, mais predominante no estudo, é mais adaptada às regiões onde
320 predominam temperaturas elevadas.

321 Em relação a atividade enzimática, as enzimas peroxidase e polifenoloxidase
322 foram mais ativas inicialmente nos arranjos de semeadura convencional e reduzido, pois
323 as plantas estavam submetidas a um espaçamento entre linhas menor comparado as
324 plantas nos arranjos em fileira dupla, o que constituía um meio de desenvolvimento mais
325 estressante para as plantas de soja, provocando assim o aumento das espécies reativas
326 H_2O_2 e conseqüentemente o aumento da atividade destas enzimas. Porém, com o
327 aumento da população de percevejos nos arranjos fileira dupla e simultaneamente o
328 estresse causado pela alimentação destes insetos nas plantas de soja houve a inversão
329 da atividade enzimática que passou a ser maior nestes tratamentos. Quanto ao teor de
330 fenóis totais foi observado atividade inversa comparado a atividade enzimática, assim
331 maior a atividade das enzimas menor foi o teor de fenóis totais.

332 Há diversos trabalhos que comprovam a relação das enzimas com o processo de
333 reação das plantas aos insetos sugadores (Lattanzio et al 2006, Frazen et al. 2007,
334 Gustche et al. 2009, Pierson et al. 2011, Marchi- Werle et al. 2014, Timbó et al. 2014, e
335 Cruz et al. 2016). Assim, de maneira geral, ocorreram alterações nos níveis das enzimas
336 oxidativas em resposta a flutuação populacional dos percevejos e a alimentação destes
337 insetos, pois maior a densidade populacional destes insetos nos arranjos de semeadura
338 fileira dupla maior foi a atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase e menor o
339 teor de fenóis totais.

340 Os danos de percevejos por grão e o peso de 1000 grãos não são influenciados
341 pelos arranjos de semeadura. Em relação a produtividade, apesar da alta ocorrência de
342 percevejos na safra 2014/2015 e da variação na flutuação populacional de acordo com o
343 arranjo de semeadura não foi verificado diferença estatística entre os tratamentos neste

344 ano agrícola, como ocorreu na safra 2015/2016 em que os arranjos de semeadura
345 convencional e reduzido destacaram-se com maiores produtividades. Muitos trabalhos
346 que compararam o arranjo de semeadura convencional na cultura da soja com outros
347 arranjos não observaram incremento da produtividade (Carvalho 2014, Procópio et al.
348 2014, Souza 2016b), e o aumento da densidade de semeadura não influenciou estes
349 resultados (Freitas et al. 2010). A correlação da inexistência de resposta quanto à
350 produtividade em relação aos diferentes arranjos de semeadura pode ser consequência
351 da alta plasticidade fenotípica existente em plantas de soja (Pires et al., 2000 e Rambo
352 et al., 2003).

353 Em todos os arranjos de semeadura estudados, foi observado respostas
354 bioquímicas e de produtividade das plantas aos diferentes arranjos de semeadura e a
355 população de percevejos sugadores, porém, estudos multidisciplinares ainda são
356 necessários para melhor entender a interação inseto-plantas nesses arranjos e aprimorar
357 essa técnica de manejo.

358

359 **Agradecimentos**

360 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela bolsa
361 de doutorado concedida ao primeiro autor.

362

363 **Referências**

364 **Allain, C. C., L. S. Poon, C. S. Chan, W. Richmond, e P. C. Fu. 1974.** Enzymatic
365 determination of total serum cholesterol. Clin. Chem. 120: 470-475.

- 366 **Apel, K., e H. Hirt. 2004.** Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and
367 signal transduction. *Ann. Rev. Plant Biol.* 55: 373-399.
- 368 **Bianchi, M. A., N. G. Fleck, F. P. Lamego, e D. Agostinetto. 2010.** Papéis do arranjo
369 de plantas e do cultivar de soja no resultado da interferência com plantas competidoras.
370 *Plant. Dan.* 28:979-991.
- 371 **Blokhina, O., E. Virolainen, e K. V. Fagerstedt. 2003.** Antioxidants, oxidative damage
372 and oxygen deprivation stress a review. *Ann. Bot.* 91:179-194.
- 373 **Carvalho, M. M. 2014.** Influência de sistemas de semeadura na população de pragas e
374 nas características morfofisiológicas em cultivares de soja. Dissertação de mestrado,
375 Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- 376 **Cierpisz, M., J. Twardowski, e M. Kozak, M. 2016.** The effect of plant arrangement in
377 soybean crop on presence of more important herbivores - preliminary results. *J. Research*
378 *Appl. Agric. Eng.* 61: 48-52.
- 379 **Cividanes, F. J., e J. R. P. Parra. 1994.** Biologia em diferentes temperaturas e exigências
380 térmicas de percevejos da soja. II. *Euschistus heros* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae).
381 *Pesq. Agropec. Bras.* 29: 1841-1846.
- 382 **Corrêa-Ferreira, B. S., e A. R. Panizzi. 1999.** Percevejos da soja e seu manejo. Embrapa
383 Soja, Londrina, BR.
- 384 **Corrêa-Ferreira, B. S. 2005.** Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao
385 desenvolvimento das vagens. *Pesq. Agropec. Bras.* 40: 1067-1072.
- 386 **Corrêa-Ferreira, B. S., F. C. Krzyzanowski, e C. A. Minami. 2009.** Percevejos e a
387 qualidade da semente de soja – Série Sementes. Embrapa Soja, Londrina, BR.

- 388 **Cruz, P. L., E. L. L. Baldin, L. R. P. Guimarães, L. E. R. Pannuti, G. P. P. Lima, T. M.**
389 **Heng-Moss, e T. E. Hunt. 2016.** Tolerance of KS-4202 soybean to the attack of *Bemisia*
390 *tabaci* Biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae). Florida Entomol. 99: 600-607.
- 391 **Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2006.** Sistema Brasileiro de
392 Classificação de Solos. 2nd ed. Rio de Janeiro, BR.
- 393 **Ferreira, D. F. 2010.** Sistema de análise de variância - SISVAR. Versão 5.3. Lavras, BR.
- 394 **Foyer, C. H., e Noctor, G. 2005.** Oxidant and antioxidant signalling in plants: a
395 reevaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. Plant Cell
396 Environ. 28: 1056-71.
- 397 **França Neto, J. B., F.C. Krzyzanowski, N. P. da Costa. 1998.** O teste de tetrazólio em
398 sementes de soja. EMBRAPA-CNPSo. 72p. (Embrapa-CNPSo. Documentos, 116).
- 399 **Franzen, L. D., A. R. Gutsche, T. M. Heng-Moss, L. G. Higley, G. Sarath, e J. D. Burd.**
400 **2007.** Physiological and biochemical responses of resistant and susceptible wheat to
401 injury by Russian Wheat Aphid. J. Econ. Entomol. 100:1692-1703.
- 402 **Freitas, M. C. M., O. T. Hamawaki, M. R. Bueno, e M. C. Marques. 2010.** Época de
403 semeadura e densidade populacional de linhagens de soja UFU de ciclo semitardio.
404 Biosc. J. 26: 698 708.
- 405 **Gutsche, A., T. Heng-Moss, G. Sarath, P. Twigg, Y. Xia, G. Lu, e D. Mornhinweg.**
406 **2009.** Gene expression profiling of tolerant barley in response to *Diuraphis noxia*
407 (Hemiptera: Aphididae) feeding. Bull. Entomol. Res. 99:163-173.
- 408 **Hernandez, J. A., M. A. Ferrer, A. Jimenez, A. R. Barcelo, e F. Sevilla. 2001.**
409 Antioxidant systems and O₂ / H₂O₂ production in the apoplast of pea leaves. Its relation
410 with salt-induced necrotic lesions in minor veins. Plant Phys. 127: 827-831.

- 411 **Hoffmann-Campo, C. B., B. S. Côrrea-Ferreira, e F. Moscardi. 2012.** Soja: manejo
412 integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa Soja, Londrina, BR.
- 413 **Kar, M., e D. Mishra. 1976.** Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during
414 rice leaf senescence. *Plant Physiol.* 57: 315-319.
- 415 **Lattanzio V., V. M. T. Lattanzio, e A. Cardinali. 2006.** Role of phenolics in the resistance
416 mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Adv.*
417 *Resear.* 2006: 23-67
- 418 **Lima, G. P. P., O. G. Brasil, e A. M. Oliveira. 1999.** Poliaminas e atividade da peroxidase
419 em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. *Sci. Agric.* 56: 21-25.
- 420 **Marchi-Werle, L., T. M. Heng-Moss, T. E. Hunt, E.L.L. Baldin, e L. M. Baird. 2014.**
421 Characterization of peroxidase changes in tolerant and susceptible soybeans challenged
422 by soybean Aphid (Hemiptera: Aphididae). *J. Econ. Entomol.* 107: 1985-1991.
- 423 **Moscardi, F., A. F. Bueno, D. R. Sosa-Gómez, S. Roggia, C. B. Hoffmann-Campo, A.**
424 **F. Pomari, I. C. Corso, e S. A. C. Yano. 2012.** Artrópodes que atacam as folhas de soja,
425 213-334. In: Hoffmann-campo, C. B., B. S. Côrrea-Ferreira, e F. Moscardi (eds.), Soja:
426 manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa Soja, Londrina, BR.
- 427 **Panizzi, A. R., e L. M. Vivan. 1997.** Seasonal abundance of the neotropical brown stink
428 bug, *Euschistus heros* in overwintering sites and the breaking of dormancy. *Entomol. Exp.*
429 *Appl.* 82: 213-217.
- 430 **Panizzi, A. R., A. F. Bueno, e F. A. C. Silva. 2012.** Insetos que atacam vagens e grãos,
431 p. 335-420. In: Hoffmann-Campo, C.B., B. S. Corrêa-Ferreira, e F. Moscardi (eds.), Soja:
432 manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa Soja, Londrina, BR.

- 433 **Pierson, L. M., T. M. Heng-Moss, T. E. Hunt, e J. Reese. 2011.** Physiological responses
434 of resistant and susceptible reproductive stage soybean to soybean aphid (*Aphis glycines*
435 Matsumura) feeding. *Arthropod-Plant Interact.* 5: 49-58.
- 436 **Pires, J. L. F., J. A. Costa, A. L. Thomas, e A. R. Maehler. 2000.** Efeitos de populações
437 e espaçamentos sobre o potencial de rendimento da soja durante a ontogenia. *Pesq.*
438 *Agropec. Bras.*35: 1541-1547.
- 439 **Procópio, S. O., A. A. Balbinot Junior, H. Debiasi, e F. Panison. 2014.** Semeadura em
440 fileira dupla e espaçamento reduzido na cultura da soja. *Rev. Agro@mbiente On-line*, 8:
441 212-221.
- 442 **Rambo, L.; J. A. Costa, J. L. F. Pires, G. Parcianello, e F. G. Ferreira. 2003.**
443 Rendimento de grãos da soja em função do arranjo de plantas. *Cienc. Rural.* 33: 405-
444 411.
- 445 **Rodrigues, S. M.; S. Pierre, e P. E. Degrande. 2010.** O sistema de cultivo adensado do
446 algodoeiro e os artrópodes pragas. p. 239-249. In: Belot, J. L., e P. A. Vilela (eds.), O
447 sistema de cultivo do algodoeiro adensado em Mato Grosso: Embasamento e Primeiros
448 Resultados. vol.1. Defanti Editora, Cuiabá, BR.
- 449 **Scandalios, J.G.1993.** Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Phys.*101: 7-
450 12.
- 451 **Silveira Neto, S., O. Nakano, D. Barbin, e N. A. Villa Nova. 1976.** Manual de ecologia
452 de insetos. Agronômica Ceres, São Paulo, BR.
- 453 **Singleton, V. L., e J. A. Rossi Jr. 1965.** Colorimetry of Total Phenolics with
454 Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16:144-158.

- 455 **Sosa-Gómez, D. R., A. R. Panizzi, C. Corso, D. I. Gazzoni, e B. Oliveira. 2000.** Pragas
456 da soja no Brasil e seu manejo integrado. Embrapa Soja, Londrina, BR.
- 457 **Sosa-Gómez, D. R., J. J. Silva, N. I. O. Lopes, I. C. Corso, A. M. R. Almeida, G. C. P.**
458 **Moraes, e M. E. Baur. 2009.** Insecticide susceptibility of *Euschistus heros* (Heteroptera:
459 Pentatomidae) in Brazil. J. Econ. Entomol. 102: 1209-1216.
- 460 **Souza, L. A. 2016a.** Dinâmica populacional, distribuição espacial e plano de amostragem
461 sequencial de *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Heteroptera: Pentatomidae) em
462 cultivares de soja. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- 463 **Souza, D. M. 2016b.** Arranjo de semeadura da soja sobre o rendimento da cultura e da
464 tecnologia de aplicação de produtos fitossanitários. Dissertação de mestrado,
465 Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- 466 **Timbó R.V., M. Hermes-Lima, L. P. Silva, A. Mehta, e M. C. B. Moraes. 2014.**
467 Biochemical aspects of the soybean response to herbivory injury by the brown stink bug
468 *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). PLoS ONE. 9: e109735.
- 469 **Tourino, M. C. C., P. M. Rezende, e N. Salvador. 2002.** Espaçamento, densidade e
470 uniformidade de semeadura na produtividade e características agrônômicas da soja.
471 Pesq. Agropec. Bras. 37:1071-1077.
- 472 **(Estação Meteorológica – UNESP/FCA) Universidade Estadual Paulista. 2016.**
473 Dados climáticos referentes a safra 2015/2016. Botucatu, BR.
- 474 **Van Breusegem, F., E. Vranová, J. F. Dat, e D. Inzé. 2001.** The role of active oxygen
475 species in plant signal transduction. Plant Sci. 161: 405-14.
- 476 **Vivan, L. 2012.** Insetos vorazes. Rev. Cultivar, 14:3-7

477 **Tabela 1.** Descrição e características dos tratamentos utilizados nas safras 2014/2015 e 2015/2016. Botucatu/SP.

Tratamento	Arranjo de semeadura	Espaçamento (cm)	População de plantas (plantas ha ⁻¹)	Metros de linhas ha ⁻¹	Número de plantas m ⁻¹	Gramas de adubo m ⁻¹
1	Convencional	40	320.000	25.000	13	8
2	Convencional	40	427.000	25.000	17	8
3	Convencional	40	537.000	25.000	21	8
4	Reduzido	20	320.000	50.000	7	4
5	Reduzido	20	427.000	50.000	9	4
6	Reduzido	20	537.000	50.000	11	4
7	Fileira dupla 20x40	20 x 40	320.000	33.333	10	6
8	Fileira dupla 20x40	20 x 40	427.000	33.333	12	6
9	Fileira dupla 20x40	20 x 40	537.000	33.333	16	6
10	Fileira dupla 20x60	20 x 60	320.000	25.000	13	8
11	Fileira dupla 20x60	20 x 60	427.000	25.000	17	8
12	Fileira dupla 20x60	20 x 60	537.000	25.000	21	8

478

479

480

481

482

483

484

485

486 **Tabela 2.** Número médio de percevejos em um metro de plantas de soja semeadas com diferentes arranjos de semeadura
 487 e avaliadas em diferentes períodos a campo. Botucatu-SP, Safra 2014/2015.

Tratamentos*	R1			R2		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.00 ± 0.00 aA	0.00 ± 0.00 bA	0.13 ± 0.07 aA	0.50 ± 0.00 abA	0.25 ± 0.00 bAB	0.19 ± 0.06 bB
Reduzido	0.00 ± 0.00 aA	0.00 ± 0.00 bA	0.00 ± 0.00 aA	0.19 ± 0.06 bA	0.21 ± 0.02 bA	0.25 ± 0.00 bA
Fileira dupla 20x40	0.00 ± 0.00 aA	0.42 ± 0.12 aB	0.13 ± 0.07 aA	0.38 ± 0.05 abAB	0.56 ± 0.14 abA	0.19 ± 0.06 bB
Fileira dupla 20x60	0.00 ± 0.00 aA	0.00 ± 0.00 bA	0.13 ± 0.07 aA	0.69 ± 0.28 aA	0.75 ± 0.18 aA	0.69 ± 0.16 aA
P (Arranjo)		0.0008			0.0000	
P (População)		0.0128			0.2751	
P (Interação)		0.0005			0.2981	
Tratamentos*	R3			R4		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.28 ± 0.11 bA	0.25 ± 0.14 bA	0.31 ± 0.06 abA	0.81 ± 0.12 bB	0.75 ± 0.00 bB	1.81 ± 0.41 aA
Reduzido	0.55 ± 0.07 aA	0.50 ± 0.10 aA	0.19 ± 0.06 bB	0.78 ± 0.17 bB	1.17 ± 0.06 abA	1.83 ± 0.12 aA
Fileira dupla 20x40	0.38 ± 0.05 abB	0.50 ± 0.14 aAB	0.63 ± 0.22 aA	1.31 ± 0.15 aA	1.25 ± 0.10 abA	1.89 ± 0.06 aA
Fileira dupla 20x60	0.63 ± 0.07 aA	0.63 ± 0.13 aA	0.63 ± 0.07 aA	1.63 ± 0.24 aA	1.94 ± 0.38 aA	2.13 ± 0.83 aA
P (Arranjo)		0.3914			0.2276	
P (População)		0.1220			0.0024	
P (Interação)		0.0090			0.2129	
Tratamentos*	R5.1			R5.2		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.58 ± 0.12 bB	1.00 ± 0.10 bAB	1.63 ± 0.41 aA	1.00 ± 0.18 bA	1.17 ± 0.21 bA	1.19 ± 0.12 bA
Reduzido	1.58 ± 0.33 aA	1.42 ± 0.17 abA	1.50 ± 0.18 aA	0.67 ± 0.16 bA	1.25 ± 0.20 abA	1.19 ± 0.25 bA
Fileira dupla 20x40	1.75 ± 0.10 aA	1.52 ± 0.29 aA	1.67 ± 0.21 aA	1.25 ± 0.20 abA	1.67 ± 0.06 aA	1.25 ± 0.12 abA
Fileira dupla 20x60	1.94 ± 0.60 aA	1.63 ± 0.26 aA	1.94 ± 0.26 aA	1.75 ± 0.37 aA	2.06 ± 0.41 aA	2.06 ± 0.28 aA
P (Arranjo)		0.0878			0.0001	
P (População)		0.2403			0.0949	
P (Interação)		0.1753			0.1242	

488

489 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos nos diferentes arranjos de semeadura e maiúsculas
 490 comparam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Diferenças estatísticas foram calculadas teste de Tukey a 5% de probabilidade (P
 491 ≥ 0.05). Todos os dados foram transformados RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

492 **Tabela 2 (Continuação).** Número médio de percevejos em um metro plantas de soja semeadas com diferentes arranjos
 493 de semeadura e avaliadas em diferentes períodos a campo. Botucatu-SP, Safra 2014/2015.

Tratamentos*	R5.3			R5.4		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	1.50 ± 0.18 aA	1.31 ± 0.54 aA	1.25 ± 0.10 abA	1.38 ± 0.16 bA	0.81 ± 0.24 bA	1.00 ± 0.18 bA
Reduzido	0.92 ± 0.21 bA	1.13 ± 0.07 aA	1.13 ± 0.22 bA	0.83 ± 0.06 bB	0.92 ± 0.16 bB	1.51 ± 0.37 bA
Fileira dupla 20x40	1.88 ± 0.26 aA	1.50 ± 0.18 aA	1.56 ± 0.33 aA	2.25 ± 0.00 aA	2.06 ± 0.55 aA	2.75 ± 0.23 aA
Fileira dupla 20x60	1.67 ± 0.31 aA	1.56 ± 0.41 aA	1.75 ± 0.10 aA	2.50 ± 0.37 aA	2.13 ± 0.16 aA	2.25 ± 0.10 aA
P (Arranjo)		0.1875			0.0000	
P (População)		0.1402			0.0469	
P (Interação)		0.3060			0.1896	
Tratamentos*	R5.5			R6		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	1.00 ± 0.39 abA	0.50 ± 0.10 bB	1.00 ± 0.10 abA	0.25 ± 0.00 bB	0.63 ± 0.13 abAB	0.92 ± 0.31 aA
Reduzido	0.50 ± 0.00 bAB	0.38 ± 0.16 bB	0.75 ± 0.20 bA	0.64 ± 0.12 aA	0.34 ± 0.27 bA	0.25 ± 0.10 bA
Fileira dupla 20x40	0.50 ± 0.00 bB	1.42 ± 0.07 aA	1.00 ± 0.21 abA	0.89 ± 0.22 aAB	0.65 ± 0.11 abB	1.25 ± 0.25 aA
Fileira dupla 20x60	1.38 ± 0.14 aA	1.31 ± 0.53 aA	1.50 ± 0.10 aA	0.75 ± 0.27 aA	1.06 ± 0.24 aA	1.00 ± 0.20 aA
P (Arranjo)		0.0093			0.0296	
P (População)		0.1547			0.1861	
P (Interação)		0.0073			0.0537	

494

495 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos nos diferentes arranjos de semeadura e maiúsculas
 496 comparam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Diferenças estatísticas foram calculadas teste de Tukey a 5% de probabilidade (P
 497 ≥ 0.05). Todos os dados foram transformados RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

498

499

500 **Tabela 3.** Número médio de percevejos em um metro plantas de soja semeadas com diferentes arranjos de semeadura e
 501 avaliadas em diferentes períodos a campo. Botucatu-SP, Safra 2015/2016.

Tratamentos*	R1			R2		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.69 ± 0.61 aA	0.31 ± 0.24 abA	0.13 ± 0.13 aA	0.13 ± 0.13 aA	0.19 ± 0.06 abA	0.06 ± 0.06 aA
Reduzido	0.00 ± 0.00 bB	0.00 ± 0.00 bB	0.63 ± 0.24 aA	0.06 ± 0.06 aA	0.00 ± 0.00 bA	0.31 ± 0.19 aA
Fileira dupla 20x40	0.00 ± 0.00 bB	0.38 ± 0.24 abA	0.38 ± 0.24 aA	0.13 ± 0.13 aA	0.50 ± 0.18 aA	0.31 ± 0.06 aA
Fileira dupla 20x60	0.25 ± 0.14 abA	0.63 ± 0.24 aA	0.25 ± 0.14 aA	0.19 ± 0.19 aA	0.13 ± 0.07 abA	0.25 ± 0.10 aA
P (Arranjo)		0.7725			0.1814	
P (População)		0.7908			0.4044	
P (Interação)		0.1638			0.2396	
Tratamentos*	R3			R4		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.69 ± 0.21 aA	1.00 ± 0.23 aA	1.14 ± 0.26 aA	0.75 ± 0.48 aA	0.75 ± 0.25 aA	1.30 ± 0.41 aA
Reduzido	0.88 ± 0.16 aA	1.00 ± 0.18 aA	1.06 ± 0.43 aA	0.75 ± 0.32 aA	1.00 ± 0.46 aA	0.83 ± 0.31 aA
Fileira dupla 20x40	0.58 ± 0.16 aA	1.13 ± 0.22 aA	0.86 ± 0.33 aA	1.00 ± 0.35 aA	0.75 ± 0.14 aA	0.70 ± 0.35 aA
Fileira dupla 20x60	0.60 ± 0.10 aA	1.00 ± 0.23 aA	1.06 ± 0.21 aA	0.88 ± 0.31 aA	0.75 ± 0.14 aA	1.00 ± 0.71 aA
P (Arranjo)		0.3116			0.6021	
P (População)		0.0270			0.4099	
P (Interação)		0.5022			0.5040	
Tratamentos*	R5.1			R5.2		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.56 ± 0.06 aB	0.38 ± 0.16 abB	1.00 ± 0.21 abA	0.69 ± 0.24 aA	1.06 ± 0.36 aA	1.00 ± 0.21 aA
Reduzido	0.75 ± 0.18 aAB	0.19 ± 0.06 bB	0.63 ± 0.55 bA	0.81 ± 0.12 aA	0.69 ± 0.26 aA	1.06 ± 0.55 aA
Fileira dupla 20x40	0.88 ± 0.39 aA	0.75 ± 0.10 aA	1.06 ± 0.16 abA	0.63 ± 0.13 aA	0.88 ± 0.24 aA	0.83 ± 0.16 aA
Fileira dupla 20x60	0.88 ± 0.07 aA	0.88 ± 0.16 aA	1.56 ± 0.23 aA	0.63 ± 0.22 aA	0.88 ± 0.39 aA	1.16 ± 0.23 aA
P (Arranjo)		0.6153			0.4153	
P (População)		0.0157			0.5752	
P (Interação)		0.0803			0.4299	

502

503 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos nos diferentes arranjos de semeadura e maiúsculas
 504 comparam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Diferenças estatísticas foram calculadas teste de Tukey a 5% de probabilidade (P
 505 ≥ 0.05). Todos os dados foram transformados RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

506

507 **Tabela 3 (Continuação).** Número médio de percevejos em um metro plantas de soja semeadas com diferentes arranjos
 508 de semeadura e avaliadas em diferentes períodos a campo. Botucatu-SP, Safra 2015/2016.

Tratamentos*	R5.3			R5.4		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.50 ± 0.10 aA	0.50 ± 0.14 aA	0.44 ± 0.06 aA	1.13 ± 0.16 aA	1.13 ± 0.24 aA	1.44 ± 0.16 aA
Reduzido	0.25 ± 0.14 aA	0.44 ± 0.16 aA	0.50 ± 0.10 aA	1.06 ± 0.33 aA	1.08 ± 0.24 aA	1.40 ± 0.60 aA
Fileira dupla 20x40	0.63 ± 0.24 aA	0.56 ± 0.12 aA	0.38 ± 0.07 aA	1.00 ± 0.31 aA	1.24 ± 0.12 aA	1.51 ± 0.49 aA
Fileira dupla 20x60	0.38 ± 0.07 aA	0.75 ± 0.27 aA	0.31 ± 0.19 aA	1.06 ± 0.30 aA	1.43 ± 0.30 aA	1.63 ± 0.39 aA
P (Arranjo)		0.7880			0.0802	
P (População)		0.3229			0.1980	
P (Interação)		0.5006			0.5791	
Tratamentos*	R5.5			R6		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	1.09 ± 0.12 aA	1.06 ± 0.30 aA	1.31 ± 0.71 aA	1.13 ± 0.13 aA	1.06 ± 0.21 aA	1.13 ± 0.13 aA
Reduzido	1.06 ± 0.67 aA	1.38 ± 0.47 aA	1.26 ± 0.82 aA	1.24 ± 0.33 aA	1.33 ± 0.07 aA	0.94 ± 0.30 aA
Fileira dupla 20x40	0.88 ± 0.39 aA	1.21 ± 0.21 aA	1.25 ± 0.27 aA	1.25 ± 0.31 aA	1.31 ± 0.34 aA	1.13 ± 0.26 aA
Fileira dupla 20x60	0.81 ± 0.37 aA	1.25 ± 0.44 aA	1.38 ± 0.43 aA	1.31 ± 0.21 aA	1.31 ± 0.28 aA	1.44 ± 0.42 aA
P (Arranjo)		0.6013			0.1557	
P (População)		0.7359			0.5108	
P (Interação)		0.7090			0.4229	

509
 510 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos nos diferentes arranjos de semeadura e maiúsculas
 511 comparam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Diferenças estatísticas foram calculadas teste de Tukey a 5% de probabilidade (P
 512 ≥ 0.05). Todos os dados foram transformados RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

513

514

515 **Tabela 4.** Atividade da enzima peroxidase (μmol de H_2O_2 decomposto. min^{-1} . g^{-1} . massa fresca) em plantas de soja
 516 semeadas com diferentes arranjos de semeadura e coletadas em diferentes períodos a campo. Botucatu-SP, Safra
 517 2014/2015.

Tratamentos*	V3			R1		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.473 ± 0.02 bB	0.545 ± 0.05 bcB	0.695 ± 0.05 aA	0.565 ± 0.04 aA	0.516 ± 0.02 aA	0.543 ± 0.02 aA
Reduzido	0.689 ± 0.04 aA	0.801 ± 0.03 aA	0.666 ± 0.01 abA	0.495 ± 0.04 abA	0.553 ± 0.00 aA	0.502 ± 0.02 aA
Fileira dupla 20x40	0.637 ± 0.04 abA	0.625 ± 0.06 bA	0.530 ± 0.05 abA	0.391 ± 0.00 bA	0.370 ± 0.03 bA	0.476 ± 0.05 aA
Fileira dupla 20x60	0.528 ± 0.06 bA	0.435 ± 0.02 cA	0.477 ± 0.02 bA	0.420 ± 0.03 bB	0.502 ± 0.02 aAB	0.547 ± 0.03 aA
P (Arranjo)	0.0000			0.0000		
P (População)	0.7613			0.0816		
P (Interação)	0.0021			0.2136		
Tratamentos*	R4			R5.2		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.203 ± 0.04 cA	0.256 ± 0.03 cA	0.199 ± 0.03 cA	0.504 ± 0.04 bA	0.665 ± 0.07 bcA	0.525 ± 0.02 cA
Reduzido	0.111 ± 0.03 cA	0.145 ± 0.02 cA	0.124 ± 0.11 cA	0.435 ± 0.08 bB	0.517 ± 0.08 cA	0.535 ± 0.03 cA
Fileira dupla 20x40	0.448 ± 0.05 bB	0.587 ± 0.10 bB	0.818 ± 0.03 bA	0.673 ± 0.06 aA	0.790 ± 0.00 bA	0.713 ± 0.04 bA
Fileira dupla 20x60	0.853 ± 0.11 aB	0.856 ± 0.08 aB	1.074 ± 0.03 aA	0.736 ± 0.06 aB	1.275 ± 0.09 aA	1.264 ± 0.10 aA
P (Arranjo)	0.0000			0.0033		
P (População)	0.0016			0.1090		
P (Interação)	0.0000			0.0318		
Tratamentos*	R5.4					
	P1	P2	P3			
Convencional	0.171 ± 0.01 bB	0.529 ± 0.10 cA	0.527 ± 0.02 cA			
Reduzido	0.101 ± 0.15 bB	0.567 ± 0.17 cA	0.538 ± 0.00 cA			
Fileira dupla 20x40	0.673 ± 0.00 aA	0.691 ± 0.00 bA	0.654 ± 0.04 bA			
Fileira dupla 20x60	0.677 ± 0.08 aC	0.873 ± 0.03 aB	1.575 ± 0.26 aA			
P (Arranjo)	0.0002					
P (População)	0.0099					
P (Interação)	0.0002					

518
 519 *Médias (\pm EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos nos diferentes arranjos de semeadura e maiúsculas
 520 comparam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Diferenças estatísticas foram calculadas teste de Tukey a 5% de probabilidade (P
 521 ≥ 0.05). Todos os dados foram transformados RAIZ ($X+1$). EP = Erro Padrão

522 **Tabela 5.** Atividade da enzima polifenoloxidase ($\mu\text{mol catecol oxidado} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ massa fresca) em plantas de soja
 523 semeadas com diferentes arranjos de semeadura e coletadas em diferentes períodos a campo. Botucatu-SP, Safra
 524 2014/2015.

Tratamentos*	V3			R1		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.599 ± 0.03 aA	0.564 ± 0.01 aA	0.598 ± 0.00 aA	0.894 ± 0.03 aA	0.825 ± 0.01 aA	0.874 ± 0.02 aA
Reduzido	0.579 ± 0.03 aA	0.610 ± 0.02 aA	0.690 ± 0.04 aA	0.821 ± 0.01 aA	0.827 ± 0.00 aA	0.832 ± 0.02 aA
Fileira dupla 20x40	0.628 ± 0.04 aA	0.607 ± 0.04 aA	0.635 ± 0.02 aA	0.831 ± 0.05 aA	0.837 ± 0.01 aA	0.852 ± 0.03 aA
Fileira dupla 20x60	0.603 ± 0.05 aA	0.661 ± 0.03 aA	0.670 ± 0.02 aA	0.859 ± 0.01 aA	0.857 ± 0.00 aA	0.848 ± 0.01 aA
P (Arranjo)	0.0272			0.0000		
P (População)	0.4807			0.0000		
P (Interação)	0.5195			0.0000		
Tratamentos*	R4			R5.2		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.422 ± 0.02 aA	0.402 ± 0.03 aA	0.346 ± 0.02 aA	0.362 ± 0.02 bA	0.332 ± 0.00 bA	0.328 ± 0.04 bA
Reduzido	0.450 ± 0.00 aA	0.386 ± 0.03 aA	0.380 ± 0.04 aA	0.315 ± 0.02 bA	0.300 ± 0.02 bA	0.308 ± 0.00 bA
Fileira dupla 20x40	0.521 ± 0.01 aA	0.423 ± 0.04 aA	0.414 ± 0.05 aA	0.470 ± 0.06 aA	0.463 ± 0.06 aA	0.424 ± 0.05 aA
Fileira dupla 20x60	0.489 ± 0.07 aA	0.421 ± 0.04 aA	0.384 ± 0.03 aA	0.518 ± 0.04 aA	0.559 ± 0.03 aA	0.448 ± 0.01 aA
P (Arranjo)	0.1103			0.0000		
P (População)	0.0047			0.0420		
P (Interação)	0.7846			0.0021		
Tratamentos*	R5.4					
	P1	P2	P3			
Convencional	0.239 ± 0.03 bA	0.292 ± 0.00 bA	0.284 ± 0.04 bA			
Reduzido	0.231 ± 0.01 bA	0.241 ± 0.04 bA	0.257 ± 0.02 bA			
Fileira dupla 20x40	0.512 ± 0.00 aA	0.432 ± 0.02 aA	0.435 ± 0.04 aA			
Fileira dupla 20x60	0.454 ± 0.03 aA	0.444 ± 0.00 aA	0.435 ± 0.02 aA			
P (Arranjo)	0.0001					
P (População)	0.0106					
P (Interação)	0.0001					

525

526 *Médias (\pm EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos nos diferentes arranjos de semeadura e maiúsculas
 527 comparam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Diferenças estatísticas foram calculadas teste de Tukey a 5% de probabilidade (P
 528 ≥ 0.05). Todos os dados foram transformados RAIZ ($X+1$). EP = Erro Padrão

529 **Tabela 6.** Teor de fenóis totais (mg 100 g⁻¹) em plantas de soja semeadas com diferentes arranjos de semeadura e
 530 coletados em diferentes períodos a campo. Botucatu-SP, Safra 2014/2015.

Tratamentos*	V3			R1		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.047 ± 0.002 aA	0.046 ± 0.001 aA	0.055 ± 0.003 aA	0.034 ± 0.001 aA	0.035 ± 0.006 aA	0.033 ± 0.001 aA
Reduzido	0.054 ± 0.003 aA	0.043 ± 0.011 aA	0.046 ± 0.006 aA	0.038 ± 0.003 aA	0.037 ± 0.006 aA	0.033 ± 0.000 aA
Fileira dupla 20x40	0.053 ± 0.007 aA	0.051 ± 0.000 aA	0.059 ± 0.001 aA	0.034 ± 0.001 aA	0.035 ± 0.002 aA	0.039 ± 0.002 aA
Fileira dupla 20x60	0.059 ± 0.001 aA	0.057 ± 0.006 aA	0.050 ± 0.005 aA	0.037 ± 0.002 aA	0.038 ± 0.003 aA	0.033 ± 0.005 aA
P (Arranjo)	0.0513			0.8475		
P (População)	0.2716			0.7737		
P (Interação)	0.1347			0.7882		
Tratamentos*	R4			R5.2		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	0.070 ± 0.004 aA	0.070 ± 0.002 aA	0.079 ± 0.007 aA	0.076 ± 0.001 aA	0.075 ± 0.003 aA	0.075 ± 0.000 aA
Reduzido	0.084 ± 0.002 aA	0.069 ± 0.002 aA	0.075 ± 0.010 aA	0.075 ± 0.001 aA	0.074 ± 0.001 aA	0.074 ± 0.006 aA
Fileira dupla 20x40	0.077 ± 0.004 aA	0.079 ± 0.002 aA	0.083 ± 0.004 aA	0.061 ± 0.003 bA	0.059 ± 0.000 bA	0.060 ± 0.002 bA
Fileira dupla 20x60	0.088 ± 0.005 aA	0.082 ± 0.002 aA	0.077 ± 0.001 aA	0.055 ± 0.005 bA	0.051 ± 0.001 bA	0.050 ± 0.001 bA
P (Arranjo)	0.1136			0.0000		
P (População)	0.2662			0.0803		
P (Interação)	0.1817			0.4335		
Tratamentos*	R5.4					
	P1	P2	P3			
Convencional	0.059 ± 0.001 aA	0.046 ± 0.001 aA	0.055 ± 0.003 aA			
Reduzido	0.054 ± 0.003 aA	0.043 ± 0.011 aA	0.046 ± 0.006 aA			
Fileira dupla 20x40	0.053 ± 0.007 aA	0.051 ± 0.000 aA	0.059 ± 0.001 aA			
Fileira dupla 20x60	0.044 ± 0.002 aA	0.057 ± 0.006 aA	0.050 ± 0.005 aA			
P (Arranjo)	0.0513					
P (População)	0.2726					
P (Interação)	0.1358					

531

532 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos nos diferentes arranjos de semeadura e maiúsculas
 533 comparam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Diferenças estatísticas foram calculadas teste de Tukey a 5% de probabilidade (P
 534 ≥ 0.05). Todos os dados foram transformados RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

535

536 **Tabela 7.** Número médio de danos de percevejo por grão em plantas de soja semeadas com diferentes arranjos de
 537 semeadura. Botucatu-SP, Safras 2014/2015 e 2015/2016.

Tratamentos	Safrá 2014/2015			Safrá 2015/2016		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	1.46 ± 0.08 aA	1.04 ± 0.26 aA	1.41 ± 0.27 aA	0.32 ± 0.13 aA	0.22 ± 0.06 aA	0.28 ± 0.04 aA
Reduzido	1.34 ± 0.48 aA	1.17 ± 0.16 aA	1.25 ± 0.56 aA	0.24 ± 0.01 aA	0.22 ± 0.05 aA	0.31 ± 0.02 aA
Fileira dupla 20x40	1.27 ± 0.24 aA	1.01 ± 0.21 aA	1.39 ± 0.40 aA	0.36 ± 0.01 aA	0.32 ± 0.03 aA	0.29 ± 0.03 aA
Fileira dupla 20x60	1.59 ± 0.03 aA	1.40 ± 0.29 aA	1.33 ± 0.34 aA	0.39 ± 0.06 aA	0.33 ± 0.09 aA	0.28 ± 0.04 aA
P (Arranjo)		0.3441			0.3906	
P (População)		0.4186			0.4447	
P (Interação)		0.7600			0.7347	

538

539 **Tabela 8.** Peso de 1000 grãos (g) de plantas de soja semeadas com diferentes arranjos de semeadura. Botucatu-SP,
 540 Safras 2014/2015 e 2015/2016.

Tratamentos*	Safrá 2014/2015			Safrá 2015/2016		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	17.42 ± 0.17 aA	18.02 ± 0.49aA	17.98 ± 0.23aA	21.65 ± 0.21 aA	20.43 ± 0.63 aA	20.94 ± 0.60 aA
Reduzido	18.22 ± 0.39aA	18.66 ± 0.17aA	18.06 ± 0.25aA	21.10 ± 0.15 aA	21.39 ± 0.07 aA	20.80 ± 0.19 aA
Fileira dupla 20x40	18.58 ± 0.50aA	17.40 ± 0.42aA	17.23 ± 0.45aA	20.88 ± 0.00 aA	20.96 ± 0.30 aA	20.37 ± 0.31 aA
Fileira dupla 20x60	18.28 ± 0.47aA	18.77 ± 0.77aA	18.68 ± 0.36aA	20.45 ± 0.61 aA	21.32 ± 0.54 aA	21.00 ± 0.13 aA
P (Arranjo)		0.6958			0.4706	
P (População)		0.5847			0.2954	
P (Interação)		0.1885			0.8597	

541

542 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos nos diferentes arranjos de semeadura e maiúsculas
 543 comparam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Diferenças estatísticas foram calculadas teste de Tukey a 5% de probabilidade (P
 544 ≥ 0.05). Todos os dados foram transformados RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

545

546

547

548 **Tabela 9.** Produtividade, em peso líquido (kg ha⁻¹) e sacas ha⁻¹, de plantas de soja semeadas com diferentes arranjos de
 549 semeadura. Botucatu-SP, Safras 2014/2015 e 2015/2016.

Safr 2014/2015						
Tratamentos*	Peso líquido (Kg ha ⁻¹)			Sacas ha ⁻¹		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	3663.69 ± 109.76 aA	3586.71 ± 485.23 aA	3056.55 ± 115.39 aA	61.06 ± 1.83 aA	59.78 ± 8.09 aA	50.94 ± 1.92 aA
Reduzido	3380.90 ± 200.76 aA	3048.05 ± 396.87 aA	3272.67 ± 187.04 aA	56.35 ± 3.35 aA	50.80 ± 6.61 aA	54.54 ± 3.12 aA
Fileira dupla 20x40	3437.03 ± 337.01 aA	3310.72 ± 463.26 aA	3359.61 ± 74.98 aA	57.28 ± 5.62 aA	55.18 ± 7.72 aA	55.99 ± 1.25 aA
Fileira dupla 20x60	3631.23 ± 360.95 aA	3224.64 ± 372.83 aA	3522.32 ± 666.45 aA	60.52 ± 6.02 aA	53.74 ± 6.21 aA	58.71 ± 11.11 aA
P (Arranjo)		0.0084			0.0084	
P (População)		0.3345			0.3345	
P (Interação)		0.0035			0.0035	
Safr 2015/2016						
Tratamentos*	Peso líquido (Kg ha ⁻¹)			Sacas ha ⁻¹		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Convencional	2527.00 ± 279.90 aA	2865.08 ± 477.25 aA	2873.08 ± 283.44 aA	42.12 ± 4.67 aA	47.75 ± 7.95 aA	47.88 ± 3.34 aA
Reduzido	2435.53 ± 330.30 aA	2646.26 ± 240.91 aA	2603.56 ± 153.62 aB	40.59 ± 5.51 aA	44.10 ± 4.02 aA	43.39 ± 2.56 aA
Fileira dupla 20x40	1563.87 ± 104.74 bA	1748.08 ± 161.52 bA	1930.20 ± 122.96 bA	26.06 ± 0.00 bA	29.13 ± 2.69 bA	32.17 ± 2.05 bA
Fileira dupla 20x60	1967.64 ± 123.72 bA	1975.08 ± 102.95 bA	1802.16 ± 200.35 bA	32.79 ± 2.06 bA	32.91 ± 1.72 bA	30.03 ± 4.72 bA
P (Arranjo)		0.4706			0.4706	
P (População)		0.2953			0.2953	
P (Interação)		0.8597			0.8597	

550
 551 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos nos diferentes arranjos de semeadura e maiúsculas
 552 comparam os diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Diferenças estatísticas foram calculadas teste de Tukey a 5% de probabilidade (P
 553 ≥ 0.05). Todos os dados foram transformados RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

554

555

556

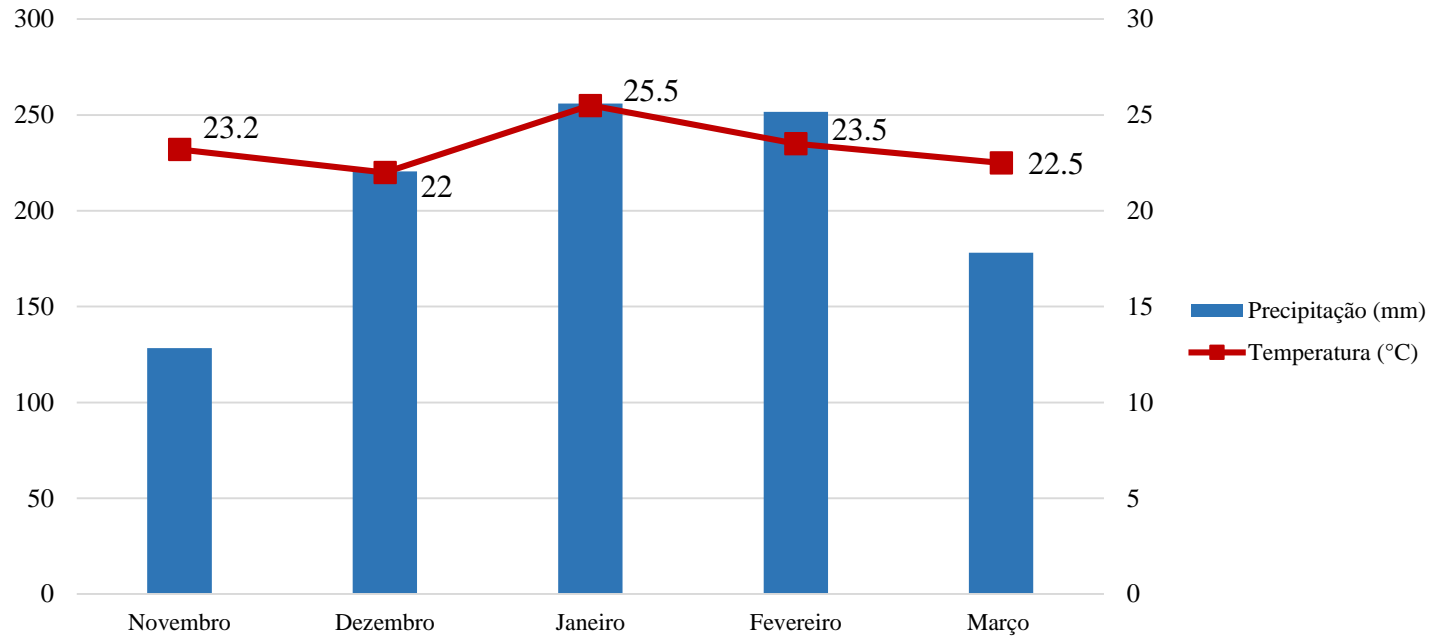
557



558

559 **Figura 1.** Localização da área experimental em relação à sede da FEPE. Botucatu-SP, 2017.

560



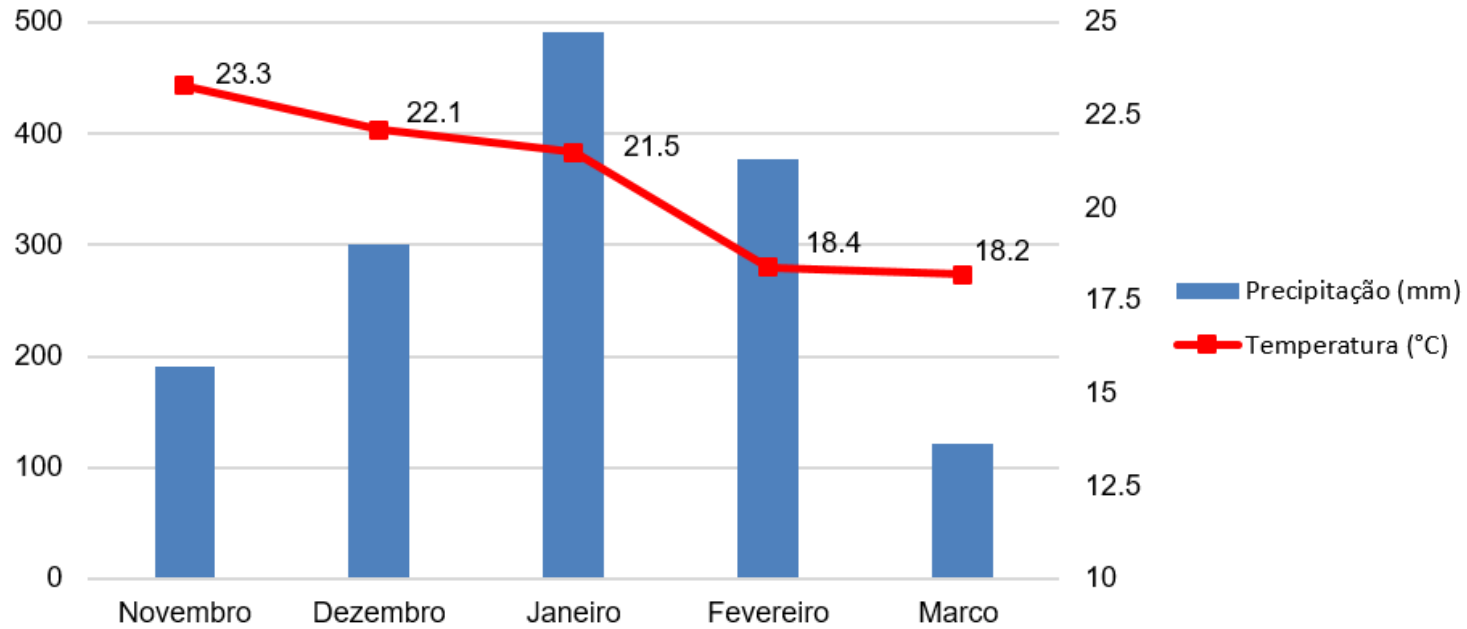
561

562 **Figura 2.** Climograma de Botucatu/SP durante o período de novembro/2014 a março/2015 contendo os dados médios de
563 precipitação (mm) e temperatura (°C) (Estação Meteorológica – UNESP/FCA, 2016).

564

565

566



567

568 **Figura 3.** Climograma de Botucatu/SP durante o período de novembro/2015 a março/2016 (Estação Meteorológica –
569 UNESP/FCA, 2016).

570

CAPITULO II – Influência da temperatura na resposta de plantas de soja convencional e geneticamente modificadas ao ataque de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae)

Revista: Florida Entomologist

1 Runing head:

2 Carvalho et al.

3

4 Membership status:

5 Non-member

6

7 Billing contact:

8 Marina Mouzinho Carvalho

9 512, 11 Street

10 Miranorte, 77660-000, Brasil

11 Phone: +1 (405) 612-4889

12 E-mail: mouzinho.marina@gmail.com

13

14 **Influência da temperatura na resposta de plantas de soja convencional e**
15 **geneticamente modificadas ao ataque de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858])**
16 **(Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae)**

17

18 Marina M. **Carvalho**^{1, *}, Regiane. O. de F. **Bueno**¹, William W. **Hoback**² e Francisco M.
19 **Ochoa Corona**²

20

21 ¹Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências
22 Agronômicas, Departamento de Proteção de Plantas, 18.610-307, Brasil; E-mail:
23 mouzinho.marina@gmail.com (M. M. C.), regiane@fca.unesp.br (R. O. F. B.)

24

25 ²Oklahoma State University, Department of Entomology and Plant Pathology,
26 74078, USA; E-mail: whoback@okstate.edu (W. W. H.), ochoaco@okstate.edu (F. M. O.
27 C.)

28

29 *Autor correspondente; E-mail: mouzinho.marina@gmail.com

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41 **Resumo**

42

43 A soja MON 87701 MON 89788 que expressa genes que codificam a proteína Cry1Ac
44 foi liberada para subsidiar o Programa de Manejo Integrado de Insetos-praga da soja
45 (MIP-soja), porém altas temperaturas pode influenciar negativamente a eficiência dessa
46 tecnologia. Neste sentido, objetivou-se com esse estudo, avaliar a resposta fisiológica e
47 bioquímica de plantas de soja *Bt* e não *Bt* submetidas a diferentes temperaturas e ao
48 ataque da lagartas *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae:
49 Plusiinae). Inicialmente as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação com
50 condições controladas até alcançarem os estádios fenológicos V5 e R1, quando foram
51 transferidas para três diferentes câmaras de crescimento configuradas com
52 temperaturas 25, 30 e 40 °C, onde permaneceram por 72 horas, então a temperatura de
53 todas as câmaras foram novamente configuradas para 25 °C e cada planta infestada
54 com três lagartas de terceiro ínstar de *C. includens*, que permaneceram na soja por
55 outras 72 horas, sendo retiradas das plantas após esse período. Cada tratamento foi
56 composto por 7 repetições e cada uma representada por uma planta. Em todas as
57 repetições foram avaliados percentual de desfolha, área foliar, peso seco e parâmetros
58 fisiológicos. E 50 mg de cada tratamentos coletados para análise da expressão do gene
59 da enzima catalase. Mesmo nos tratamentos com maiores temperaturas foi observado
60 que a eficiência das plantas de soja *Bt* manteve-se, pois foi observado menor danos
61 durante as avaliações de percentual de desfolha, área foliar e peso seco. Em relação as
62 respostas fisiológicas e da enzima catalase foi observado que as plantas *Bt* tem uma
63 melhor resposta que plantas não *Bt*.

64 Palavras-chave: Manejo Integrado de Pragas, *Bacillus thuringiensis*, fotossíntese,
65 catalase.

66

67 *Chrysodeixis includens* (Walker 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), também

68 conhecida como lagarta-falsa-medideira, é um inseto polífago e importante

69 economicamente em várias culturas, pois pode ocasionar intenso dano econômico

70 decorrente de drástica redução da área foliar, especialmente se a desfolha ocorrer no

71 período reprodutivo (Andrade et al. 2016).

72 Entre os métodos disponíveis para o manejo da lagarta-falsa-medideira, o uso de

73 plantas geneticamente modificadas como a soja RR2 PRO (MON 87701 x MON 89788),

74 também conhecida como soja *Bt*, tem destaque. Cultivares de soja *Bt*, que expressam

75 genes que codificam a proteína entomotóxica Cry1Ac, derivada da bactéria *Bacillus*

76 *thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner 1915), tem efeito sobre as principais espécies de

77 lagartas desta cultura (Salvadori & Suzana 2015) incluindo a espécie *C. includens*.

78 Porém, há relatos da perda de eficiência da tecnologia *Bt* como consequência da

79 redução de proteínas inseticidas (Finnegan e Mcelory 1994; Benedict et al. 1996). Isso

80 ocorre como resultado da influência de alguns fatores como idade da planta e estágio

81 reprodutivo e fatores ambientais (Benedict et al. 1993; Wu et al. 1997). Entre os fatores

82 ambientais, o CO₂ e a temperatura elevados estão alterando as interações entre plantas

83 e insetos com importantes implicações para a segurança alimentar e os ecossistemas

84 naturais (DeLucia et al. 2012). Exemplo disto, é constatação da redução da expressão

85 das proteínas inseticidas após altas temperaturas (Wu et al. 2002; Chen et al. 2005;

86 Feng et al. 2011; Chen et al. 2014).

87 Em condições de estresse biótico e abiótico o aumento da produção de espécies
88 reativas de oxigênio (EROs ou ROS) que é uma alteração metabólica importante para as
89 plantas (Van Breusegem et al. 2001, Apel & Hirt 2004, e Foyer & Noctor 2005). A
90 eliminação das EROs e a proteção contra os danos oxidativos em plantas são realizados
91 pelos sistemas de defesa antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos. O primeiro grupo,
92 representado pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalases (CAT), peroxidases
93 (POD), glutathione peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX), glutathione reductase
94 (GR) e glutathione S-transferase (GSTs), e o segundo por compostos não enzimáticos
95 como vitamina C e, glutathione (GSH), β -caroteno, compostos fenólicos, tocoferóis e
96 poliaminas (Hernández et al. 2001, Blokhina et al. 2003, e Scandalios 2005).

97 A catalase é uma enzima que elimina H_2O_2 transformando-o em O_2 e H_2O ,
98 porém, em condições de baixa concentração de H_2O_2 podem usar outros doadores de
99 elétrons como metanol, etanol, formaldeído, ácido fórmico, ascorbato e fenóis. Assim, a
100 enzima catalase desempenha papel específico, protegendo as células dos efeitos
101 tóxicos do excesso de H_2O_2 (Patel et al 2011).

102 Diante de um cenário caracterizado pelo grande impacto decorrente da
103 ocorrência de *C. includens* na cultura da soja aliada a mudanças climáticas que podem
104 afetar uma recente e importante tática de controle, o objetivou-se com este trabalho
105 estudar a ação da temperatura na resposta de plantas de soja convencional e
106 geneticamente modificadas ao ataque de *C. includens* por meio de avaliações
107 fisiológicas, da atividade enzimática da catalase e dos danos da lagarta-falsa-
108 medeadeira.

109

110 **Material e métodos**

111

112 INSTALAÇÃO DO EXPERIMENTO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

113

114 O experimento foi conduzido no ano de 2016, a primeira parte foi desenvolvida
115 em casa-de-vegetação e câmaras de crescimento no Departamento de Fitopatologia e
116 Entomologia e a segunda no laboratório do Instituto Nacional de Microbiologia Forense
117 & Alimentação e Biossegurança Agrícola, ambos pertencentes a Oklahoma State
118 University. Foram utilizadas sementes de duas cultivares, uma *Bt* e outra não *Bt*, ambas
119 fornecidas pela empresa Monsanto (Tabela 1).

120 O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 2
121 x 2 x 3 (duas cultivares de soja, dois estádios fenológicos e três temperaturas),
122 totalizando doze tratamentos infestados com três lagartas de terceiro instar de *C.*
123 *inclusens* por repetição e acrescidos de quatro tratamentos controle, sem efeito de
124 estresse por temperatura e pela lagarta *C. inclusens* (T1, T2, T9 e T10). Todos os
125 tratamentos estão descritos na Tabela 2. As lagartas de *C. inclusens* de terceiro instar
126 foram fornecidas pela empresa Benzon Research. Cada tratamento foi composto de
127 sete repetições, e cada repetição representada por um vaso com uma planta.

128 As cultivares de soja foram cultivadas em vasos de 3 e 5 L utilizados
129 respectivamente para os tratamentos nos estágios V5 e R1 (Fehr & Caviness 1977). Os
130 vasos foram preenchidos com substrato e adubados conforme recomendação para a
131 cultura. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, em bandejas contendo água

132 para garantir que não houvesse estresse hídrico, livre da infestação de insetos e com
133 temperatura controlada (temperatura média = 25 °C).

134

135 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

136

137 Uma vez as plantas nos estádios de desenvolvimento previamente estabelecidos
138 nos tratamentos (V5 e R1), os vasos foram transferidos para câmaras de crescimento
139 configuradas com as temperaturas 25, 35 e 40 °C, umidade relativa média de 75% e
140 fotoperíodo de 12 horas. As plantas foram mantidas nessas condições por 72 horas e
141 após este período a temperatura foi configurada novamente para 25 °C em todas as
142 câmaras de crescimento e cada planta infestada com três lagartas de terceiro instar de
143 *C. includens* por mais 72 horas, com exceção dos tratamentos controle que
144 permaneceram sem insetos. Após o período de estresse por temperatura e pelos
145 insetos foram avaliados os parâmetros fisiológicos, danos causados por *C. includens* e
146 expressão do gene da enzima catalase.

147

148 AVALIAÇÃO DOS DANOS POR *C. includens*

149

150 Os danos ocasionados por *C. includens* em plantas Bt e não Bt foram avaliados,
151 após estresse térmico, nas sete repetições por meio de uma escala visual de desfolha
152 proposta por Willson 2009 (Fig. 1), medição de área foliar utilizando um medidor de
153 área foliar portátil LI-COR Li-3000C e peso seco em balança analítica Marte AY 220
154 (0,0001g).

155

156 ANÁLISE DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DAS PLANTAS

157

158 Os parâmetros fisiológicos analisados foram taxa de assimilação de CO₂ (μmol
159 CO₂ m⁻² s⁻¹), concentração interna de CO₂ (μmol CO₂ mol⁻¹), condutância estomática
160 (mol H₂O m⁻² s⁻¹) e taxa de transpiração (mmol H₂O m⁻² s⁻¹). Todos os parâmetros
161 foram mensurados no período da manhã (8 à 10h), em uma área de seis cm² do folíolo
162 mediano do terceiro trifólio, completamente expandido, com *Portable Photosynthesis*
163 *System* (LICOR 6400/XT, Li-COR, Lincoln, EUA) configurado com fluxo de fótons
164 fotossinteticamente ativos 1500 μmol m⁻² s⁻¹. Todos os parâmetros fisiológicos foram
165 avaliados nas sete repetições, antes e após as plantas serem submetidas ao estresse.

166

167 EXPRESSÃO DO GENE DA ENZIMA CATALASE

168

169 Primeiramente foi desenhado o *primer* CAT, com base na sequência do genoma
170 da enzima catalase disponível no banco de dados do NCBI ([http://](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)
171 www.ncbi.nlm.nih.gov), usando Primer3 (Rozen & Skaletsky 2000), BLASTn (Altschul,
172 1990) e mFold (Zuker 2003). O *primer* CAT encontra-se descrito na Tabela 3.

173

174 Após o estresse das plantas e antes das demais avaliações foi coletado de cada
175 tratamento 50 mg do tecido vegetal fresco, armazenado imediatamente a -20 °C para
176 posterior extração da fonte enzimática. Para extração da fonte da enzima catalase, foi
177 realizado a extração do RNA utilizando-se TRIzol® Reagent (Invitrogen) de acordo com
o protocolo do fabricante. A transcrição reversa (síntese de cDNA) foi realizada

178 utilizando quatro microlitros do RNA extraído, random hexamer *primers* (5 μ M) e
179 Moloney murine leucemia vírus reverse transcriptase (Promega, Madison, WI) seguindo
180 as instruções do fabricante e executada a 37 °C por 90 min.

181 Com a finalidade de testar o *primer* CAT e confirmar a presença da enzima nos
182 tratamentos foi realizada uma reação de 20 μ L (10 μ L GoTaq Green Master Mix, 1 μ L de
183 cada *primer* CAT, 2 μ L do cDNA e 6 μ L de água livre de nuclease) via Reação de
184 Polimerase em Cadeia (PCR). O ciclo no termociclador (Biometra, Goettingen,
185 Germany) consistiu em 4 min à 94 °C para desnaturação inicial seguido de 40 ciclos de
186 94 °C de desnaturação por 20 s, 58 °C de anelamento por 15 s e 72 °C de extensão por
187 15 s. Ao final, o programa foi configurado para 3 min de extensão à 72 °C e
188 resfriamento do termociclador por 1 min à 20 °C. O produto do PCR foi utilizado para
189 eletroforese em gel agarose a 2% em tampão 1X TAE. Utilizou-se o marcador 1kb
190 Ladder Invitrogen.

191 O isolado amplificado com o *primer* CAT foi purificado utilizando colunas de Spin
192 Squeeze Spray Prep Freeze¹ e enviado para Oklahoma State University Recombinant
193 DNA/Protein Core Facility para sequenciamento. As amostras sequenciadas foram
194 analisadas pelo programa 'NCBI BLAST' (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

195 Uma vez confirmada a presença da enzima catalase pelos resultados do
196 sequenciamento e a eficiência do *primer* CAT, o mesmo produto do PCR purificado foi
197 utilizado para clonagem do gene da enzima catalase para obtenção de um controle
198 positivo artificial. A clonagem foi realizada utilizando um Kit de Clonagem TOPO-TA
199 (Invitrogen). O DNA do plasmídeo contendo a sequência do *primer* CAT foi isolada

200 utilizando o kit PureLink™ Quick Plasmid Miniprep (Invitrogen), e a concentração de
201 DNA plasmídico determinada utilizando um NanoDrop.

202 A quantificação da expressão do gene da enzima catalase foi realizada por PCR
203 quantitation em tempo real (RT - qPCR). As reações de RT - qPCR foram realizadas
204 com volume final de 20 µL (GoTaq® Hot Start Polymerase (5 µL), LC Green dye (2 µL),
205 0.4 µL de cada *primer* CAT, 2 µL do cDNA dos tratamentos, 0.2 µl de água livre de
206 nuclease e 10 µL de óleo mineral), executadas no Rotor-Gene 6000 termociclador, e os
207 dados analisados usando Rotor-Gene 6000 software 1.7 (Corbett Research, Sydney,
208 Australia). O protocolo de RT - qPCR incluiu um ciclo de 50 °C por 2 min e 94°C por 4
209 min, 45 ciclos de 94°C por 20s, 58°C por 15s e 70°C por 15s, e um último ciclo de 72°C
210 por 3 min e 60°C por 1 min. A curva padrão consistiu de diluições do plasmídeo em
211 concentrações de 1 ng/ µL a 1fg/µL.

212

213 ANÁLISE ESTATÍSTICA

214

215 Os dados obtidos a partir da análise do percentual de desfolha, área foliar e peso
216 seco decorrentes do ataque de *C. includens* e os parâmetros fisiológicos foram
217 submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade
218 dos resíduos, a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo
219 para permitir a aplicação da ANOVA. Posteriormente, as médias serão comparadas
220 pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

221

222 **Resultados**

223

224 No percentual de desfolha (%) foi verificado diferença entre os tratamentos
225 (Tabela 4). A desfolha foi maior no estágio vegetativo V5 comparada ao estágio
226 reprodutivo R1. No estágio fenológico V5 a cultivar não *Bt* foi significativamente mais
227 atacada quando comparada a cultivar *Bt*, resultando em elevado percentual de
228 desfolha, porém não houve correlação com o aumento da temperatura, uma vez que o
229 aumento desta não resultou em aumento do percentual de desfolha. No estágio
230 fenológico R1 não houve diferença entre as cultivares *Bt* e não *Bt*. O tratamento
231 controle (sem a presença de lagarta e temperatura constante de 25 °C) apenas diferiu
232 estatisticamente dos demais tratamentos no estágio vegetativo V5 na cultivar não *Bt*,
233 pois enquanto o a desfolha no controle foi zero. Já nas plantas sob estresse térmico
234 nas diferentes temperaturas testadas a média foi de 30% de desfolha.

235 A área foliar (dm²) e peso seco (g) (Tabela 5) diferiram estatisticamente entre as
236 cultivares. Observou-se maiores médias desses parâmetros em plantas no estágio
237 reprodutivo R1 do que em plantas em V5. As cultivares *Bt* e não *Bt* quando
238 comparadas no tratamento controle não foram estatisticamente diferentes no estágio
239 reprodutivo V5, mas em R1 constatou-se maior média de área foliar e
240 conseqüentemente peso seco na cultivar não *Bt*. Comparando a mesma cultivar em
241 relação as diferentes temperaturas somente houve diferença na cultivar não *Bt* em V5,
242 onde o controle foi estatisticamente superior a todas as temperaturas avaliadas.

243 Em relação aos parâmetros fisiológicos (Tabelas 6 e 7), antes do estresse a taxa
244 de assimilação de CO₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e

245 taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) não variaram em relação a temperatura e
246 cultivar no mesmo estágio, porém verificou-se maiores médias desses parâmetros em
247 plantas no estágio vegetativo V5. Não houve variação na concentração interna de CO_2
248 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$) antes do estresse.

249 Após o estresse, a assimilação de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Tabela 6) manteve-se
250 diferente entre as plantas nos estádios V5 e R1, obtendo-se na fase vegetativa maiores
251 médias desse parâmetro. No estágio V5 houve diferença estatística do tratamento
252 controle, com valores médios superiores comparados aqueles em diferentes
253 temperaturas avaliadas, isto tanto nas plantas *Bt* como nas não *Bt*. Em R1 nas plantas
254 *Bt* observou-se maiores médias da assimilação de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no
255 tratamento controle e à temperatura 25 °C em comparação à 40 °C. Nas plantas não *Bt*
256 apenas foi verificado diferença estatística entre a temperatura 40 °C e os demais
257 tratamentos. Em relação a concentração interna de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$) (Tabela 6),
258 observou-se maiores médias em plantas no estágio reprodutivo R1 do que no
259 vegetativo V5. Porém, apenas foi verificado diferenças em relação as temperaturas em
260 plantas não *Bt* em V5, onde o tratamento controle diferiu estatisticamente da
261 temperatura 40 °C.

262 A condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}$
263 s^{-1}) (Tabela 7) foram mais altas em plantas no estágio vegetativo V5 comparadas as
264 plantas em R1. Porém não foi verificado diferença da condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O}$
265 $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em relação as temperaturas e a cultivar. Em relação a taxa de transpiração
266 ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), nas plantas *Bt* e não *Bt*, verificou-se menores valores médios em
267 médias de todas as temperaturas testadas quando comparados ao tratamento controle.

268 A partir da curva padrão gerada pela qPCR em tempo real utilizando o cDNA dos
269 tratamentos e o DNA plasmídico contendo o fragmento do gene alvo diluído pode-se
270 concluir que a reação para detecção do gene da enzima catalase foi eficiente ($R^2 =$
271 0.98 , $M = 4.3096$, Rx eficiência = 0.86) (Fig. 2). Os valores do limiar do ciclo (Ct) indicam
272 a sensibilidade de detecção do cDNA, mostrando variações mínimas na reação, com
273 valores de Ct variando menos de um ciclo dentro de cada amostra, em duplicata.

274 Na curva de amplificação dos plasmídios (Fig. 3) observou-se uma diferença dos
275 Ct de 6 ciclos entre as quatro primeiras diluições ($1\text{ ng}/\mu\text{L}$, $100\text{ pg}/\mu\text{L}$, $10\text{ pg}/\mu\text{L}$, $1\text{ pg}/\mu\text{L}$),
276 entre a quarta e a quinta ($100\text{ fg}/\mu\text{L}$) diluição apenas um ciclo, entre a quinta e a sexta
277 ($10\text{ fg}/\mu\text{L}$) 6 ciclos, e entre a sexta e a última diluição ($1\text{ fg}/\mu\text{L}$) 6 ciclos. Não foi verificado
278 valores de Ct para o controle negativo (água), demonstrando que não houve
279 contaminação da reação.

280 Em relação as curvas de amplificações dos cDNA dos tratamentos (Fig. 4 e Fig.
281 5), nos estádios fenológicos V5 e R1, nos tratamentos controle as cultivares Não *Bt*
282 foram mais sensíveis que a *Bt*, sendo nessa as curvas de amplificações e os valores de
283 Ct abaixo dos referentes a diluição de $1\text{ fg}/\mu\text{L}$, o que significa que não houve expressão
284 do gene da enzima catalase. Porém nas curvas em que foram avaliadas as diferentes
285 temperaturas (25 , 35 e 40°C) (Fig. 4 e Fig. 5) verificou-se que os valores de Ct foram
286 menores nos tratamentos com cultivares *Bt*, expressando maior sensibilidade desses
287 tratamentos em relação aos compostos por plantas não *Bt*.

288

289 **Discussão**

290 As plantas de soja *Bt*, mesmo com o aumento da temperatura, foram eficientes
291 no controle da lagarta-falsa-medideira, mostrando-se como uma importante tática de
292 controle para esta cultura. Enquanto que na soja não *Bt* no estágio fenológico V5 todas
293 as plantas foram desfolhadas em torno de 30%, resultados estes que quando
294 comparados ao nível de controle proposto para cultura da soja, que é de 30% de
295 desfolha (Hoffman-Campo et al 2012) demonstra a necessidade do controle dos insetos
296 com a pulverização de um inseticida recomendado o que aumentaria o custo de
297 produção quando comparado à soja *Bt*, onde não seria necessário nenhum tipo de
298 controle adicional.

299 Em estudos sobre a desfolha em plantas de soja não *Bt* observaram-se perdas
300 de 10,7 sacos.ha⁻¹ para desfolha sequencial, nos estádios vegetativo (33%) e
301 reprodutivo (17%) (Reichert & Costa 2003). Ainda no estágio vegetativo, com uma
302 desfolha de em 26% verificou-se redução de 11 sacos.ha-1 (Schuster & Rohde 2011).
303 Esses resultados comprovam a importância de um bom manejo da cultura, porque
304 mesmo que seja realizado o controle de *C. includens* no momento correto indicado pelo
305 Manejo Integrado de Pragas (MIP) haverá uma perda de produtividade decorrente da
306 desfolha. Na fase reprodutiva provavelmente não houve diferença entre as plantas *Bt* e
307 não *Bt*, pois as plantas nesse estágio estão mais rígidas que na fase vegetativa, o que
308 pode ter dificultado a alimentação dos insetos.

309 O maior índice de desfolha nos tratamento com plantas *Bt* na fase vegetativa
310 refletiu menores valores de área foliar e peso seco nestes mesmos tratamentos, pois
311 maior material vegetal das plantas foram consumidos pelas lagartas *C. includens*.

312 Porém, de maneira geral as maiores médias de área foliar e peso seco foram
313 observados nas plantas no estágio reprodutivo R1, o que era esperado uma vez que os
314 maiores índices de área foliar da soja e conseqüentemente peso seco são encontrados
315 na fase de florescimento e enchimento de grãos (Simeão 2015).

316 As alterações dos processos fisiológicos (fotossíntese, respiração, condutância
317 estomática e transpiração) das plantas em resposta à alimentação dos artrópodes é um
318 passo importante na compreensão da interação planta-artrópodes (Peterson & Higley
319 1993). A partir dos resultados dos estudos fisiológicos foi observado que após o
320 estresse a taxa de assimilação de CO₂ e a concentração interna de CO₂ diminuíram com
321 o aumento da temperatura, na condutância estomática não houve diferença entre os
322 tratamentos mas este parâmetro foi menor quando comparada as plantas antes do
323 estresse, e a taxa de transpiração em todos os tratamentos foram menores comparadas
324 ao tratamento controle. Esses resultados caracterizam o fechamento estomático
325 simultaneamente a ocorrência de estresse na plantas avaliadas, pois com os estômatos
326 fechados ocorre redução da absorção de dióxido de carbono (CO₂) pela planta (Larcher
327 2006), diminuindo assim a taxa de assimilação de CO₂ e a concentração interna de CO₂,
328 além da redução da transpiração, bem como foi observado nos resultados obtidos
329 nesse estudo. Assim, a principal resposta fisiológica da planta ao estresse sofrido pelos
330 tratamentos, tanto em relação a temperatura quanto a alimentação de *C. inludens*, foi o
331 fechamento dos estômatos, bem como foi observado na cultura do tomate e feijão-fava
332 quando atacada por *Liriomyza* spp. (Johnson et al. 1983, Martens & Trumble 1987) e na
333 cultura da soja em resposta ao ataque de *Tetranychus urticae* (Bueno et al. 2009).

334 As plantas quando em interações com fatores bióticos também podem emitir
335 sinais moleculares ativando assim genes nucleares envolvidos nas respostas de defesa
336 das plantas, resultando no aumento da atividade de enzimas associadas, direta ou
337 indiretamente, ao estresse vegetal (Bezerra 2016). Neste estudo, os resultados
338 demonstraram que plantas *Bt* sobre estresse têm maior expressão do gene da enzima
339 catalase que plantas não *Bt*. Pressupõe-se que este estresse seja resultado da
340 interação inseto-planta, uma vez que no tratamento controle a expressão deste gene foi
341 maior nos tratamentos com soja não *Bt*, e nos tratamentos com soja *Bt* a 25°C, porém
342 com a presença de *C. includens*, a expressão do gene da catalase foi semelhante aos
343 tratamentos com as temperaturas 35°C e 40°C. Isso comprova que na interação inseto-
344 planta, a planta não se estabelece como unidade passiva, mas como um organismo
345 ativo, o que vem sendo demonstrado, por meio de um processo evolutivo, em que é
346 observado que as plantas vêm desenvolvendo certos mecanismos de proteção que
347 interferem na utilização pelos insetos (Lara 1991; Vendramim & Guzzo 2009).

348 As plantas *Bt* nesse estudo, com maior expressão do gene catalase, sofreram
349 menos danos quando submetidas a alimentação *C. includens*, mostrando-se eficientes
350 quanto ao sistema de defesa enzimático. Quando em baixa concentração, H₂O₂ age
351 como um sinal molecular, envolvendo sinalização e ativação de genes de defesa contra
352 estresses bióticos e abióticos (Bhattacharjee, 2012), o que provavelmente ocorreu nas
353 plantas *Bt*. Possivelmente, a ação da enzima catalase colaborou para o melhor
354 desempenho da soja *Bt*, porém para trabalhos futuros, sugere-se que outras enzimas
355 oxidativas também sejam investigadas, com análises após um maior período de

356 infestação, com objetivo de observar o comportamento enzimático em período
357 prolongado.

358

359 **Agradecimentos**

360

361 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela bolsa
362 de doutorado concedida ao primeiro autor.

363

364 **Referências citadas**

365

366 Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment
367 search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403–410.

368 Andrade K, Bueno AF, Silva DM, Stecca CS, Pasini A, Oliveira MCN. 2016.

369 Bioecological characteristics of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae)
370 fed on different hosts. *Austral Entomology* 55: 449-454.

371 Apel K, Hirt H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal
372 transduction. *Ann. Rev. Plant Biol.* 55: 373-399.

373 Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. 2003. Antioxidants, oxidative damage and
374 oxygen deprivation stress a review. *Ann. Bot.* 91:179-194.

375 Benedict JH, Sachs ES, Altman DW, Ring DR, Stone TB, Sims SR. 1993. Impact of δ -
376 endotoxin-producing transgenic cotton on insect-plant interactions with *Heliothis*
377 *virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental*
378 *Entomology* 22:1-9.

- 379 Benedict JH, Sachs ES, Altman DW, Deaton WR, Kohel RJ, Ring DR, Berberich SA.
380 1996. Field performance of cottons expressing transgenic CryIA insecticidal
381 proteins for resistance to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera:
382 Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 89:230-238.
- 383 Bezerra EA. 2016. Respostas bioquímicas comparativas de genótipos suscetíveis e
384 resistentes de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] desafiados com o
385 vírus do mosaico severo do caupi (CPSMV). Dissertação de mestrado,
386 Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- 387 Bhattacharjee S. 2012. The language of reactive oxygen species signaling in plants.
388 *Journal of Botany* 12:1-22.
- 389 Bueno AF, Bueno RCO, Nabity PD, Higley LG, Fernandes OA. 2009. Photosynthetic
390 response of Soybean to Twospotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae) injury.
391 *Brazilian Archives Biology and Technology* 52: 825-834.
- 392 Chen D, Ye G, Yang C, Chen Y, Wu Y. 2005. The effect of high temperature on the
393 insecticidal properties of Bt Cotton. *Environmental and Experimental Botany* 53:
394 333-342.
- 395 Chen Y, Han Y, Wang J, Hua MM, Gu C, Li GS, Zhang X, Chen DH. 2014. Effects of
396 high temperature on Bt proteins expression and nitrogen metabolic physiology in
397 square of Bt cotton at the peak squaring stage. *Yingyong Shengtai Xuebao* 25:
398 2623-2628.
- 399 DeLucia EH, Nabity PD, Zavala JA, Berenbaum MR. 2012. Climate change: resetting
400 plant-insect interactions. *Plant Physiology* 160:1677-1685.

- 401 Fehr WR, Caviness CE. 1977. Stages of soybean development. Iowa State University
402 Cooperative Extension Service Special Rep. 80. Iowa State University, Ames,
403 Iowa.
- 404 Feng Y, Ling L, Fan H, Liu Y, Tn F, Shu Y, Wang J. 2011. Effects of temperature, water
405 content and pH on degradation of Cry1Ab protein released from Bt corn straw in
406 soil. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 1600-1606.
- 407 Finnegan EJ, Mcelory D. 1994. Transgenic inactivation: plants for crop improvement.
408 *Science* 244: 883-888.
- 409 Foyer CH, Noctor G. 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a reevaluation of
410 the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environ.* 28:
411 1056-71.
- 412 Hernandez JA, Ferrer MA, Jimenez A, Barcelo AR, Sevilla F. 2001. Antioxidant systems
413 and O₂ / H₂O₂ production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-
414 induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Phys.* 127: 827-831.
- 415 Hoffmann-Campo CB, Côrrea-Ferreira BS, Moscardi F [eds.].2012. Soja: manejo
416 integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa Soja, Londrina, Brasil.
- 417 Johnson MW, Welter SC, Toscano NC, Ting IP, Trumble JT. 1983. Reduction of tomato
418 leaflet photosynthetic rates by mining activity of *Liriomyza sativae* (Diptera:
419 Agromyzidae). *Journal of Economic Entomology* 76:1061-1063.
- 420 Lara FM [eds.]. 1991. Princípios de resistência de plantas a insetos. Ícone, São Paulo,
421 Brasil.
- 422 Larcher W. 2006. *Ecofisiologia vegetal*. Rima, São Carlos, Brasil.

- 423 Lourenção AL, Reco PC, Braga NR, Valle GE, Pinheiro JB. 2010. Produtividade de
424 genótipos de soja sob infestação da lagarta-da-soja e de percevejos. *Neotropical*
425 *Entomology* 39: 275-281.
- 426 Martens B, Trumble JT. 1987. Structural and photosynthetic compensation for leafminer
427 (Diptera: Agromyzidae) injury in lima beans. *Environmental Entomology* 16:374-
428 378.
- 429 Patel PK, Hemantaranjan A, Sarma BK, SINGH R. 2011. Growth and antioxidant system
430 under drought stress in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as sustained by salicylic
431 acid. *Journal of Physiology and Biochemistry* 7: 130-144.
- 432 Peterson RKD, Higley LG. 1993. Arthropod injury and plant gas exchange: Current
433 understanding and approaches for synthesis. *Entomology (Trends in Agricultural*
434 *Science)* 1:93-100.
- 435 Reichert JL, Costa EC. 2003. Desfolhamentos contínuos e seqüenciais simulando
436 danos de pragas sobre a cultivar de soja BRS 137. *Ciência Rural* 33: 1-6.
- 437 Rozen S, Skaletsky H. J. 2000. Primer3 on the www for general users and for biologist
438 programmers, pp. 365–386 *In* Krawetz S, Misener S [eds.], *Bioinformatics*
439 *methods and protocols: Methods in molecular biology*. Humana Press, Totowa,
440 New Jersey.
- 441 Salvadori JR, Suzana CS. 2015. Conhecendo e manejando a lagarta *Helicoverpa*
442 *armigera* em soja. Disponível em:
443 [https://www.lavourasempragas.com.br/especialistas/jose-](https://www.lavourasempragas.com.br/especialistas/jose-robortosalvadori/conhecendo-e-manejando-a-lagarta-helicoverpa-armigera-em-soja.html)
444 [robortosalvadori/conhecendo-e-manejando-a-lagarta-helicoverpa-armigera-em-](https://www.lavourasempragas.com.br/especialistas/jose-robortosalvadori/conhecendo-e-manejando-a-lagarta-helicoverpa-armigera-em-soja.html)
445 [soja.html](https://www.lavourasempragas.com.br/especialistas/jose-robortosalvadori/conhecendo-e-manejando-a-lagarta-helicoverpa-armigera-em-soja.html) (Último acesso 06 Fev 2017).

- 446 Scandalios JG.1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Phys.*101: 7-12.
- 447 Schuster MZ, Rohde C. 2011. Escolha adequada. *Cultivar Grandes Culturas* 144:30-32.
- 448 Simeão M. 2015. Crescimento e produtividade de grãos de soja sob déficit hídrico no
449 solo. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Piauí. Bom Jesus.
- 450 Vendramim JD, Guzzo EC. 2009. Resistência de plantas e a bioecologia e nutrição dos
451 insetos, pp. 1055-1105 *In* Panizzi AR, Parra JRP [eds.], *Bioecologia e nutrição*
452 *dos insetos: bases para o manejo integrado de pragas*. Embrapa Informação
453 Tecnológica, Brasília, Brasil.
- 454 Willson HR. 2009. Soybean insect defoliation assessment. The Ohio State University
455 Extension, OPMS, Circular FC-22. Disponível em: [http://www.ag.ohio-](http://www.ag.ohio-state.edu/~ohioline/icm_fact/fc-22.html)
456 [state.edu/~ohioline/icm_fact/fc-22.html](http://www.ag.ohio-state.edu/~ohioline/icm_fact/fc-22.html) (Último acesso 20 Out 2016).
- 457 Wu C, Fan Y, Zhang C, Oliva N, Datta SK. 1997. Transgenic fertile japonica rice plants
458 expressing a modified cryIA(b) gene resistance to yellow stem borer. *Plant Cell*
459 *Reports* 17:129-132.
- 460 Wu KG, Cui H, Ye G, Xia Y, Sardana R, Cheng X, Li Y, Altosaar I, Shu Q. 2002.
461 Inheritance and expression of the cry1AB gene in *Bt* (*Bacillus thuringiensis*)
462 transgenic rice. *Theoretical and Applied Genetics* 104: 727-734.
- 463 Zuker M. 2003. mFold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction.
464 *Nucleic Acids Research* 31: 3406–3415.
- 465
- 466
- 467
- 468

469

470 **Tabela 1.** Relação das cultivares de soja estudadas e suas respectivas

471 genealogias/origens.

Cultivar	Genealogia/Origem	Evento	Resistência
<i>Bt</i>	CN3914P2-B0YBN	MON87701 MON89788	<i>Anticarsia gemmatalis</i> , <i>Chrysodeixis includens</i> , <i>Crociosema aporema</i> e <i>Heliothis virescens</i>
Não <i>Bt</i>	AG7934	Nenhum	Nenhuma

472

473 **Tabela 2.** Descrição dos tratamentos utilizados no experimento para avaliar o efeito da
 474 temperatura em plantas de soja *Bt* e não *Bt* e ao ataque de *C. includens*.

Tratamento	Cultivar	Estágio fenológico	Temperatura (°C)	Nº <i>C.includens</i> /planta
1	<i>Bt</i>	V5	25	0
2	Não <i>Bt</i>	V5	25	0
3	<i>Bt</i>	V5	25	3
4	Não <i>Bt</i>	V5	25	3
5	<i>Bt</i>	V5	35	3
6	Não <i>Bt</i>	V5	35	3
7	<i>Bt</i>	V5	40	3
8	Não <i>Bt</i>	V5	40	3
9	<i>Bt</i>	R1	25	0
10	Não <i>Bt</i>	R1	25	0
11	<i>Bt</i>	R1	25	3
12	Não <i>Bt</i>	R1	25	3
13	<i>Bt</i>	R1	35	3
14	Não <i>Bt</i>	R1	35	3
15	<i>Bt</i>	R1	40	3
16	Não <i>Bt</i>	R1	40	3

475

476

477

478

479

480

481

482

483

484

485

486

487 **Tabela 3.** Parâmetros termodinâmicos, estruturas secundárias e amplificação do *primer*
 488 CAT.

Primer	Primer Sequence (5'-3')	Amplificação (bp)	Tm	GC%	ΔG	Any	3' ^c
Forward	CCGTTTCTCCACTGTTATCCAC	191	60.77	50.00	0.2	3	0
Reverse	GGGACTTTGGGTGGGTTT		60.96	52.63	0.7	2	0

489

490 **Tabela 4.** Desfolha (%) em plantas de soja *Bt* e não *Bt*, nos estádios fenológicos V5 e R1, após estresse.

Tratamentos*	Desfolha (%)			
	Controle	25°C	30°C	40°C
<i>Bt</i> – V5	0.00 ± 0.00 aA	0.57 ± 0.20 bA	0.86 ± 0.26 bA	1.14 ± 0.14 bA
Não <i>Bt</i> – V5	0.00 ± 0.00 aB	31.43 ± 4.04 aA	30.00 ± 5.77 aA	30.00 ± 4.88 aA
<i>Bt</i> – R1	0.00 ± 0.00 aA	0.00 ± 0.00 bA	0.57 ± 0.20 bA	2.29 ± 0.81 bA
Não <i>Bt</i> – R1	0.00 ± 0.00 aA	6.43 ± 3.35 bA	7.14 ± 3.31 bA	8.29 ± 3.56 bA
CV (%)	23.77			

491

492 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos em cada coluna e maiúsculas comparam os diferentes
 493 níveis de estresse térmico, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade ($P \geq 0.05$). Todos os dados foram transformados
 494 RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

495

496

497

498

499

500

501

502

503 **Tabela 5.** Área foliar (dm²) e peso seco (g) em plantas de soja *Bt* e não *Bt*, nos estádios fenológicos V5 e R1, após
 504 estresse.

Tratamentos*	Área foliar (dm ²)			
	Controle	25°C	30°C	40°C
<i>Bt</i> – V5	308.28 ± 16.78 cA	306.53 ± 16.68 bA	305.82 ± 17.07 bA	304.88 ± 16.88 bA
Não <i>Bt</i> – V5	328.25 ± 41.25 cA	226.68 ± 31.88 bB	231.37 ± 37.76 bB	234.35 ± 39.22 bB
<i>Bt</i> – R1	693.82 ± 0.38 bA	692.96 ± 0.59 aA	689.01 ± 1.69 aA	677.13 ± 5.71 aA
Não <i>Bt</i> – R1	810.11 ± 0.20 aA	758.01 ± 27.0 aA	752.22 ± 26.75 aA	742.98 ± 28.88 aA
P (Cultivar)	0.0000			
P (Temperatura)	0.0320			
P (Interação)	0.4953			
Tratamentos*	Peso seco (g)			
	Controle	25°C	30°C	40°C
<i>Bt</i> – V5	1.34 ± 0.07 cA	1.33 ± 0.07 cA	1.33 ± 0.07 cA	1.02 ± 0.17 cA
Não <i>Bt</i> – V5	1.45 ± 0.18 cA	1.00 ± 0.14 cB	1.33 ± 0.07 cB	1.03 ± 0.17 cB
<i>Bt</i> – R1	2.32 ± 0.01 bA	2.32 ± 0.01 bA	2.31 ± 0.01 bA	2.27 ± 0.02 bA
Não <i>Bt</i> – R1	3.24 ± 0.02 aA	3.03 ± 0.11 aA	3.01 ± 0.11 aA	2.97 ± 0.12 aA
P (Cultivar)	0.0000			
P (Temperatura)	0.0403			
P (Interação)	0.4689			

505

506 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos em cada coluna e maiúsculas comparam os diferentes
 507 níveis de estresse térmico, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade ($P \geq 0,05$). Todos os dados foram transformados

508 RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

509 **Tabela 6.** Taxa de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e Concentração interna de CO₂ (Ci, $\mu\text{mol mol}^{-1}$) em plantas de
 510 soja *Bt* e não *Bt*, nos estádios fenológicos V5 e R1, antes e após estresse.

Taxa de assimilação de CO ₂ (A, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)									
Tratamentos*	Antes estresse				Tratamentos*	Após estresse			
	Controle	25°C	30°C	40°C		Controle	25°C	30°C	40°C
<i>Bt</i> – V5	9.60 ± 0.33 aA	9.31 ± 1.20 aA	9.16 ± 0.18 aA	9.55 ± 0.42 aA	<i>Bt</i> – V5	8.75 ± 0.60 aA	5.46 ± 0.71 aB	5.19 ± 0.67 aB	4.80 ± 0.57 aB
Não <i>Bt</i> – V5	9.02 ± 0.57 AA	9.17 ± 1.54 aA	9.06 ± 0.58 aA	9.70 ± 0.29 aA	Não <i>Bt</i> – V5	8.64 ± 0.27 aA	4.69 ± 0.44 aB	4.54 ± 0.42 aB	4.52 ± 0.77 aB
<i>Bt</i> – R1	3.25 ± 0.70 bA	3.74 ± 0.53 bA	3.16 ± 0.77 bA	3.53 ± 0.27 bA	<i>Bt</i> – R1	3.05 ± 0.18 bA	3.04 ± 0.66 bcA	2.05 ± 0.14 bAB	0.54 ± 0.10 bB
Não <i>Bt</i> – R1	3.44 ± 0.37 bA	3.11 ± 0.49 bA	3.03 ± 0.28 bA	3.13 ± 0.13 bA	Não <i>Bt</i> – R1	3.01 ± 0.38 bA	2.47 ± 0.03 cA	2.78 ± 0.17 bA	0.29 ± 0.07 bB
P (Cultivar)		0.0000			P (Cultivar)		0.0000		
P (Temperatura)		0.8059			P (Temperatura)		0.0000		
P (Interação)		0.9968			P (Interação)		0.0001		

Concentração interna de CO ₂ (Ci, $\mu\text{mol mol}^{-1}$)									
Tratamentos*	Antes estresse				Tratamentos*	Após estresse			
	Controle	25°C	30°C	40°C		Controle	25°C	30°C	40°C
<i>Bt</i> – V5	283.33 ± 2.34 aA	288.57 ± 10.77 aA	279.78 ± 6.24 abA	254.54 ± 6.92 bA	<i>Bt</i> – V5	267.90 ± 8.24 bA	259.74 ± 11.91 bA	238.32 ± 19.15 bA	220.24 ± 14.79 bA
Não <i>Bt</i> – V5	269.47 ± 9.05 aA	258.98 ± 6.61 aA	270.10 ± 9.69 bA	264.94 ± 9.21 abA	Não <i>Bt</i> – V5	251.82 ± 13.71 bA	234.58 ± 19.04 bAB	211.07 ± 12.19 bAB	187.64 ± 17.28 bB
<i>Bt</i> – R1	283.95 ± 5.73 aA	283.84 ± 11.56 aA	284.28 ± 9.73 abA	281.67 ± 8.79 abA	<i>Bt</i> – R1	295.98 ± 23.60 aA	293.54 ± 12.50 aA	293.65 ± 13.31 aA	249.66 ± 28.59 bB
Não <i>Bt</i> – R1	295.47 ± 7.55 aA	294.71 ± 7.74 aA	301.98 ± 10.77 aA	308.48 ± 6.21 aA	Não <i>Bt</i> – R1	287.82 ± 20.51 aA	296.59 ± 11.67 aA	286.22 ± 10.67 aA	296.41 ± 17.81 aA
P (Cultivar)		0.0000			P (Cultivar)		0.0000		
P (Temperatura)		0.4719			P (Temperatura)		0.2456		
P (Interação)		0.0184			P (Interação)		0.1006		

511
 512 *Médias (\pm EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos em cada coluna e maiúsculas comparam os diferentes
 513 níveis de estresse térmico, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade ($P \geq 0.05$). Todos os dados foram transformados
 514 RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

515 **Tabela 7.** Condutância estomática (gs, mol m⁻²s⁻¹) e Taxa de transpiração (E, mmol m⁻² s⁻¹) em plantas de soja *Bt* e não
 516 *Bt*, nos estádios fenológicos V5 e R1, antes e após estresse.

Condutância estomática (gs, mol m ⁻² s ⁻¹)									
Tratamentos*	Antes estresse				Tratamentos*	Após estresse			
	Controle	25°C	30°C	40°C		Controle	25°C	30°C	40°C
<i>Bt</i> – V5	0.17 ± 0.01 aA	0.17 ± 0.03 aA	0.14 ± 0.01 aA	0.13 ± 0.01 aA	<i>Bt</i> – V5	0.11 ± 0.02 aA	0.06 ± 0.01 aA	0.06 ± 0.01 aA	0.05 ± 0.01 aA
Não <i>Bt</i> – V5	0.14 ± 0.01 aA	0.14 ± 0.02 aA	0.14 ± 0.02 aA	0.15 ± 0.01 aA	Não <i>Bt</i> – V5	0.13 ± 0.01 aA	0.07 ± 0.02 aA	0.06 ± 0.01 aA	0.05 ± 0.01 aA
<i>Bt</i> – R1	0.06 ± 0.01 bA	0.07 ± 0.02 bA	0.06 ± 0.01 bA	0.06 ± 0.01 bA	<i>Bt</i> – R1	0.07 ± 0.01 bA	0.05 ± 0.00 aA	0.04 ± 0.00 aA	0.04 ± 0.02 aA
Não <i>Bt</i> – R1	0.07 ± 0.02 bA	0.06 ± 0.01 bA	0.06 ± 0.00 bA	0.06 ± 0.00 bA	Não <i>Bt</i> – R1	0.07 ± 0.00 bA	0.05 ± 0.01 aA	0.05 ± 0.00 aA	0.05 ± 0.00 aA
P (Cultivar)		0.0000			P (Cultivar)		0.0071		
P (Temperatura)		0.0274			P (Temperatura)		0.0000		
P (Interação)		0.0012			P (Interação)		0.2210		
Taxa de transpiração (E, mmol m ⁻² s ⁻¹)									
Tratamentos*	Antes estresse				Tratamentos*	Após estresse			
	Controle	25°C	30°C	40°C		Controle	25°C	30°C	40°C
<i>Bt</i> – V5	2.13 ± 0.12 aA	2.19 ± 0.21 aA	2.03 ± 0.12 aAB	1.95 ± 0.13 aB	<i>Bt</i> – V5	2.04 ± 0.12 aA	1.22 ± 0.26 aB	1.03 ± 0.18 aB	0.84 ± 0.15 aB
Não <i>Bt</i> – V5	2.03 ± 0.10 aA	2.05 ± 0.18 aA	2.03 ± 0.23 aA	2.11 ± 0.12 aA	Não <i>Bt</i> – V5	2.08 ± 0.19 aA	1.34 ± 0.17 aB	1.02 ± 0.34 aB	0.97 ± 0.08 aB
<i>Bt</i> – R1	1.40 ± 0.28 bA	1.29 ± 0.16 bA	1.11 ± 0.21 bA	1.06 ± 0.16 bA	<i>Bt</i> – R1	1.44 ± 0.15 bA	0.95 ± 0.44 aB	0.95 ± 0.00 aB	0.80 ± 0.17 aB
Não <i>Bt</i> – R1	1.34 ± 0.14 bA	1.26 ± 0.19 bA	1.12 ± 0.14 bA	1.05 ± 0.12 bA	Não <i>Bt</i> – R1	1.49 ± 0.14 bA	1.07 ± 0.00 aB	0.95 ± 0.15 aB	0.82 ± 0.13 aB
P (Cultivar)		0.0000			P (Cultivar)		0.0785		
P (Temperatura)		0.0188			P (Temperatura)		0.0000		
P (Interação)		0.0811			P (Interação)		0.6636		

517

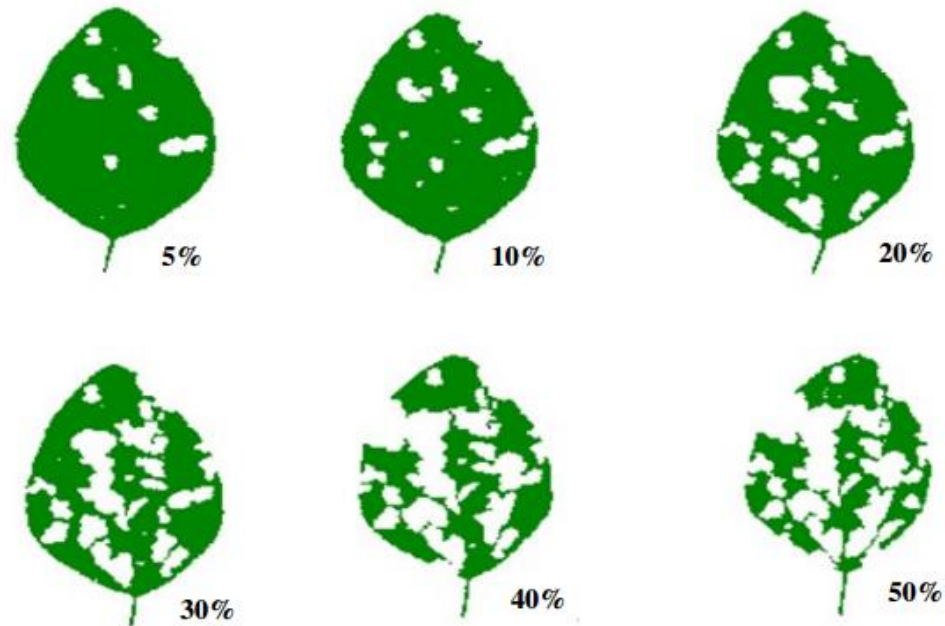
518 *Médias (± EP) seguidas por letras iguais: minúsculas na coluna comparam os tratamentos em cada coluna e maiúsculas comparam os diferentes

519 níveis de estresse térmico, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade ($P \geq 0.05$). Todos os dados foram transformados

520 RAIZ (X+1). EP = Erro Padrão

521

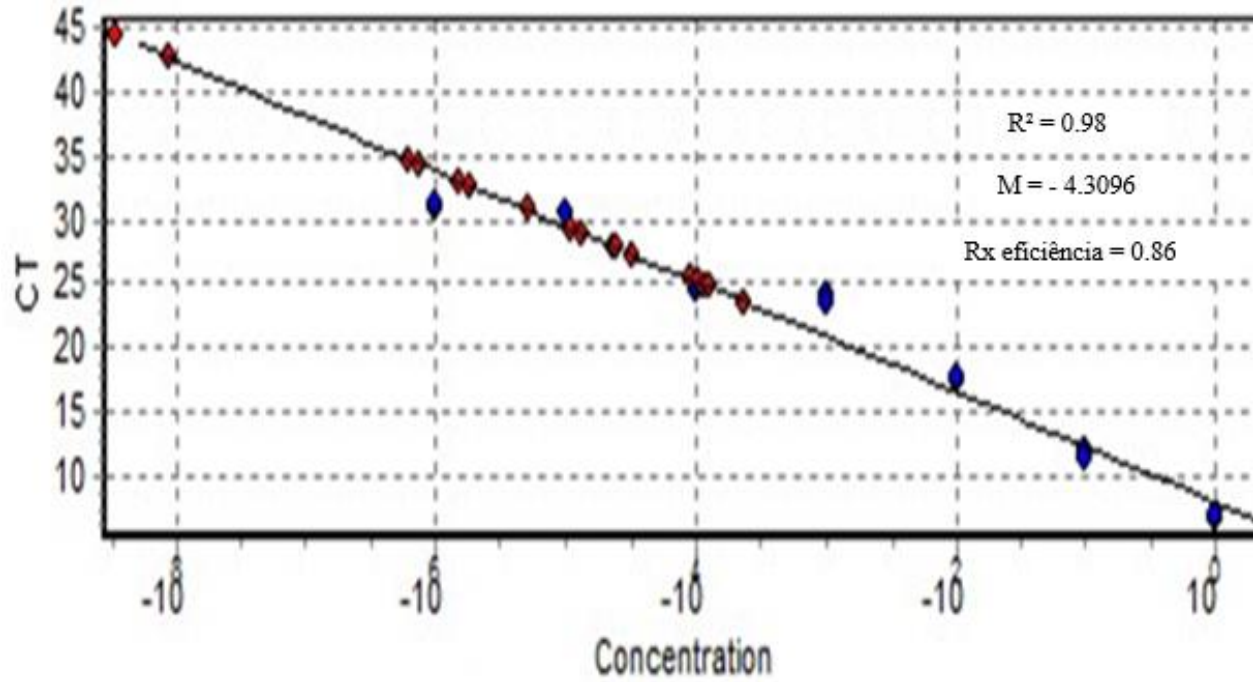
522



523

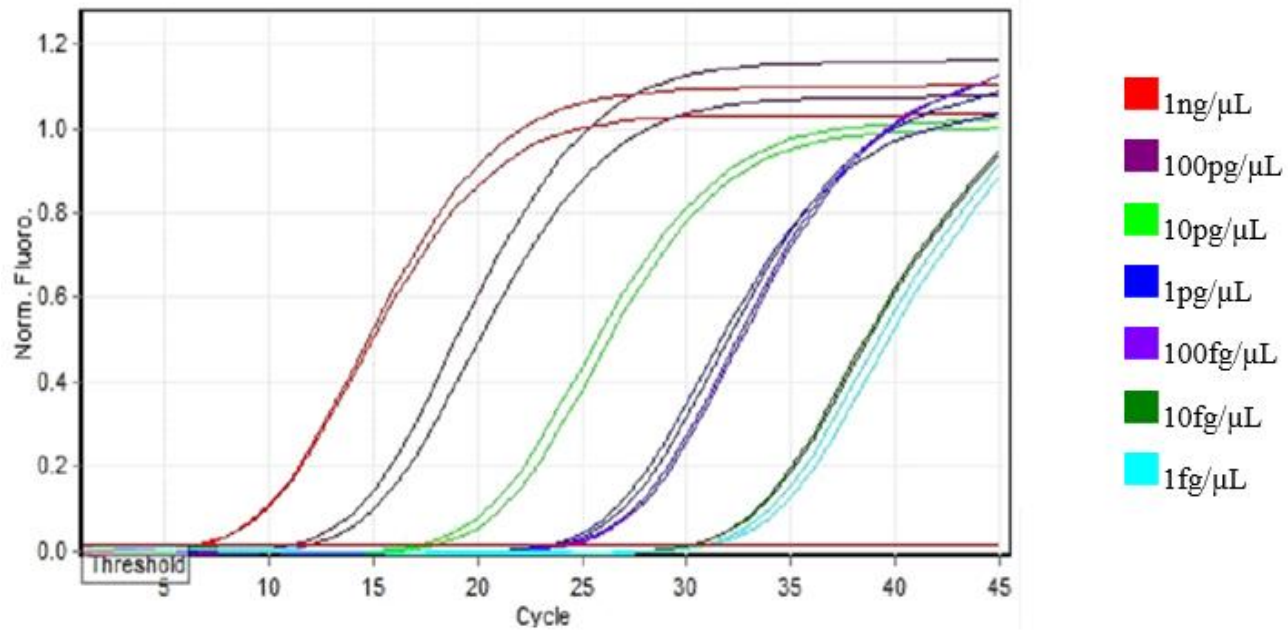
524 **Fig. 1.** Escala de notas usada para quantificar a desfolha causada por *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera:

525 Noctuidae) em soja (Willson 2009).



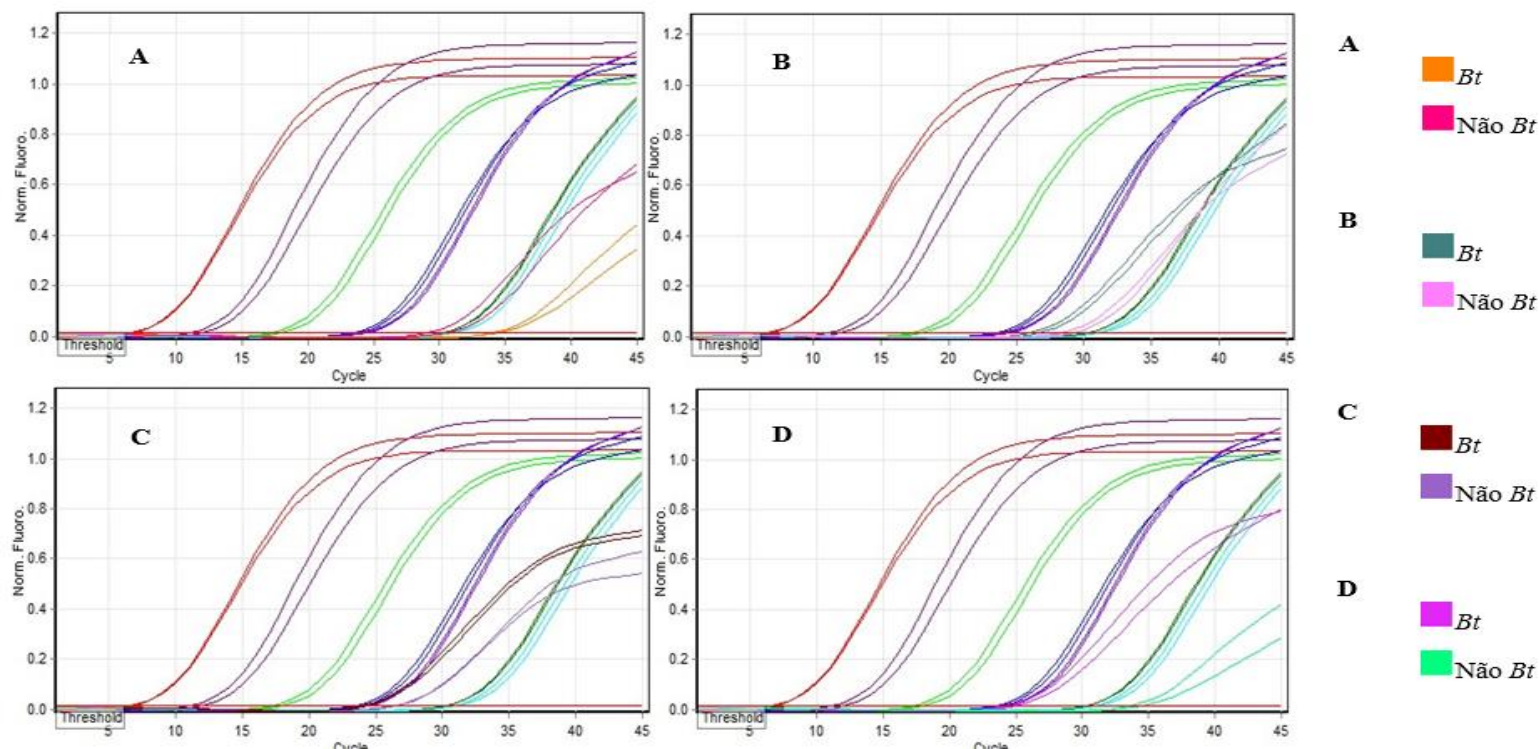
526

527 **Fig. 2.** Curva padrão resultante do qPCR em tempo real utilizando o cDNA dos tratamentos e o DNA plasmídico contendo
 528 o fragmento de gene alvo diluído e utilizado de 1 ng a 1 fg por reação. R2 é a correlação linear, M é o coeficiente angular
 529 e o Rx a eficiência da reação. Cada reação foi realizada em replicações. O eixo x indica a concentração do gene catalase
 530 e o eixo y é o limiar dos ciclos.



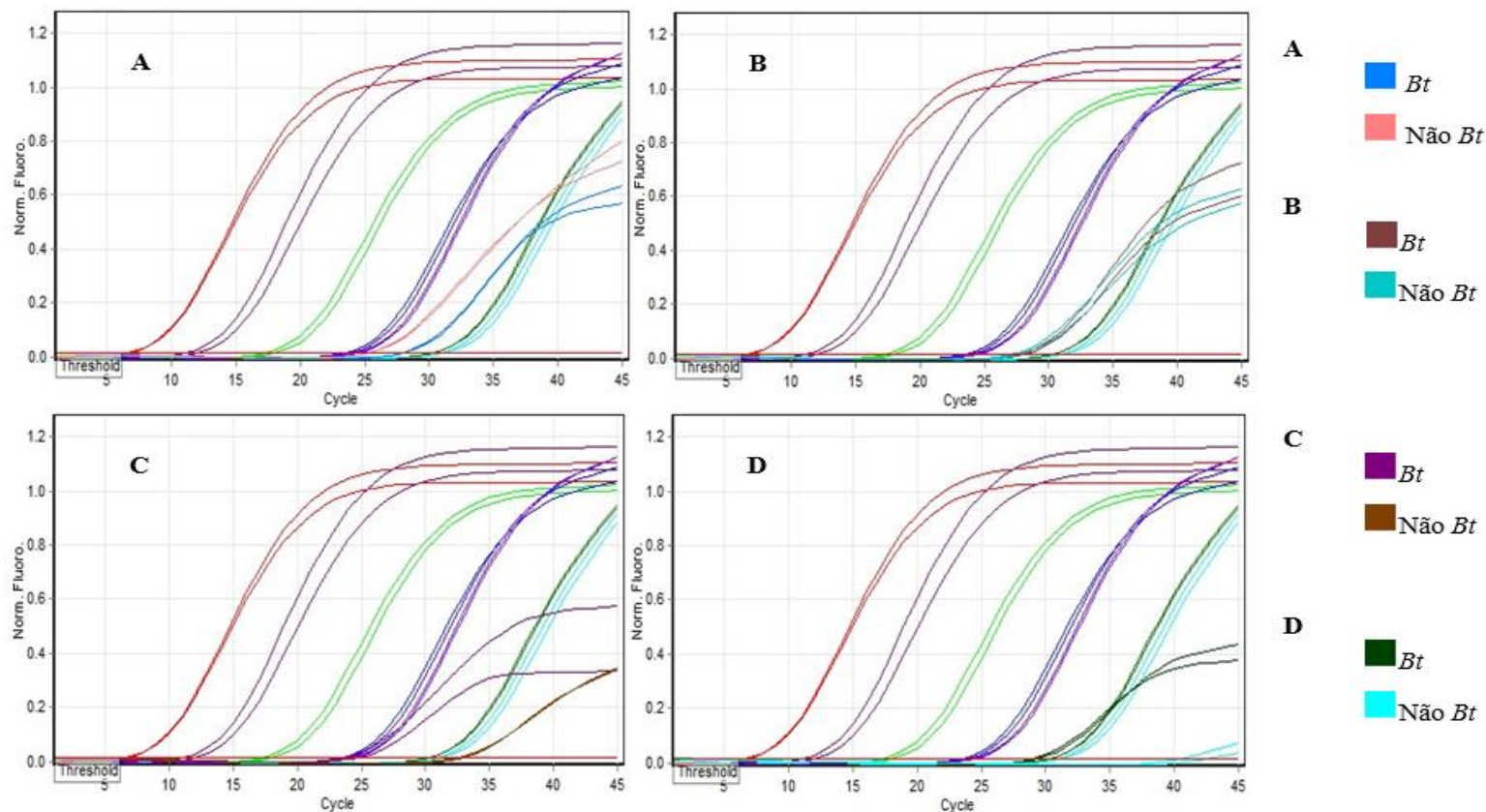
531

532 **Fig. 3.** Curva de amplificação da fluorescência normalizada de uma análise quantitativa em PCR em tempo real do
533 controle positivo artificial em diferentes concentrações.



534

535 **Fig. 4.** Curva de amplificação da fluorescência normalizada de uma análise quantitativa em PCR em tempo real
 536 comparando os controles positivos artificiais em diferentes concentrações e os tratamentos com plantas no estágio
 537 fenológico V5, em diferentes temperaturas (A – controle, B – 25°C, C - 30°C, D - 40°C).



538

539 **Figura 5.** Curva de amplificação da fluorescência normalizada de uma análise quantitativa em PCR em tempo real
 540 comparando os controles positivos artificiais em diferentes concentrações e os tratamentos com plantas no estágio
 541 fenológico R1, em diferentes temperaturas (A – controle, B – 25°C, C - 30°C, D - 40°C).

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de arranjos de semeadura e de plantas de soja *Bt* apresentam-se como importantes estratégias a serem utilizadas em programas de manejo de Insetos-pragas na cultura da soja, pois características particulares destas estratégias permitem que sejam adotadas em conjunto com outras medidas do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Porém, em estudos integrados que envolvem a análise dos arranjos de semeadura como estratégia Manejo Integrado de Pragas (MIP) e das respostas bioquímicas e de produtividade das plantas, pode-se concluir que os arranjos fileira dupla não sobressaem –se ao manejo convencional atualmente adotado pelos produtores. O arranjo de semeadura reduzido, apesar de ser semelhante ao convencional, o não incremento de produtividade não justifica o investimento em novos equipamentos para o plantio com redução do espaçamento. Com exceção da região sul do Brasil onde é muito expressiva a produção de cereais e o plantio é realizado no espaçamento de 20 cm, assim adaptar a semeadura de soja a esse arranjo otimizaria o sistema produtivo nessa importante região agrícola.

A soja *Bt*, mesmo em condições adversas, devido ao aumento da temperatura, expressou de forma eficaz a proteína de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), comprovando a eficiência dessa tecnologia. Embora existam etapas a serem concluídas, no sentido de melhor entender a relação entre o estresse causado por fatores bióticos e abióticos, o ataque de insetos-praga e as respostas das plantas, os resultados deste trabalho poderão auxiliar os programas de manejo de insetos praga da cultura soja, focando o MIP como um complexo maior que envolve a relação insetos-planta.

3 REFERÊNCIAS

ARGENTA, G. et al. Resposta de híbridos simples à redução do espaçamento entre linhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 1, p. 71-78, 2001.

ÁVILA, C. J.; VIVIAN, L. M.; TOMQUELSKI, G. V. **Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícola**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. 12p. (Circular Técnica, 1).

BELORTE, L. C. et al. Danos causados por percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) em cinco cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill, 1917) no município de Araçatuba, SP. **Arquivos Instituto Biológico**, v. 70, n. 2, p. 169-175, 2003.

BENEDICT, J. H. et al. Impact of δ -endotoxin-producing transgenic cotton on insect-plant interactions with *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Entomology**, v. 22, p. 1-9, 2014a.

BENEDICT, J. H. et al. Field performance of cottons expressing transgenic CryIA insecticidal proteins for resistance to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 89, p.230-238, 2014b.

BONATO, E. R. et al. Teor de óleo e de proteína em genótipos de soja desenvolvidos após 1990. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 12, p. 2391-2398, 2000.

CHEN, D. et al. The effect of high temperature on the insecticidal properties of *Bt* Cotton. **Environmental and Experimental Botany**, v. 53, p. 333-342, 2005.

CHEN, Y. et al. Effects of high temperature on Bt proteins expression and nitrogen metabolic physiology in square of Bt cotton at the peak squaring stage. **Yingyong Shengtai Xuebao**, v. 25, n. 9, p. 2623-2628, 2014.

CIVIDANES, F. J.; PARRA, J. R. P. Zoneamento ecológico de *Nezara viridula* (L.), *Piezodorus guildini* (West.) e *Euschistus heros* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae) em quatro estados produtores de soja do Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 219-226, 1994.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA-CTNBio. Extrato de parecer nº 2542/2010. Presidente Edilson Paiva. Brasília. Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/upd_blob/0001/1400.doc>. Acesso em: 19 jan. 2017.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO-CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, Safra 2016/2017**. Quarto Levantamento, v.4, n.4. Janeiro 2017. Brasília. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_01_11_11_30_39_boletim_graos_janeiro_2017.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2017.

DEGRANDE, P. E.; VIVAN, L. M. Pragas da soja. In. HIROMOTO, M.M.; CAJU, J.; CAMACHO, S. A. **Boletim de Pesquisa de Soja**. Rondonópolis: Fundação MT, 2010. V. 14, 418p.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja - região central do Brasil - 2009 e 2010**. Londrina-PR: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2008.

ENDRES, J. G. **Soy Protein Products**: Characteristics, nutritional aspects, and utilization. AOCS Press, Champaign, IL, 2001, 53p.

FENG, Y. et al. Effects of temperature, water content and pH on degradation of Cry1Ab protein released from Bt corn straw in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 7, p. 1600-1606, 2011.

FINNEGAN, E. J.; MCELORY, D. Transgenic inactivation: plants for crop improvement. **Science**, v. 244, p. 883-888, 1994.

GALLO, D. O.; et al. **Manual de Entomologia Agrícola**. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2002. v. 10, 649 p.

GAZZONI, D. L. Efeito de populações de percevejos na produtividade, qualidade da semente e características agronômicas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 8, p. 1229-1237, 1998.

HEIFFIG, L. S. **Plasticidade da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) em diferentes arranjos espaciais**. 2002. 85 f. Tese (Engenharia Agrônômica) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

HERZOG, D. C. Sampling soybean looper on soybean. In: KOGAN, M.; HERZOG, D. C. (Ed.). **Sampling methods in soybean entomology**. New York: Springer-Verlag, 1980.p. 140-168.

KOGAN, M.; TURNIPSEED, S. G. Ecology and management of soybean arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 32, p. 507-538, 1987.

KOGAN, M. Integrate pest management historical, perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 243-270, 1998.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone, 1991. V.2, 336p.

MAGRINI, E. A.; et al. Ocorrência de percevejos no município de Pirassununga-SP, associada com a fenologia da soja. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 71, n. 2, p. 187-193, 1996.

MOSCARDI, F. et al. Artrópodes que atacam as folhas de soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: EMBRAPA, 2012. p. 213-334.

PEDIGO, L. P. **Entomology and pest management**. 4. ed., New Jersey: Prentice Hall, 2001. 742 p.

PRADO, R. C. O. Soja é alimento e energia. **Boletim de Pesquisa de Soja**, Fundação MT, 2007. 11-14p.

QUINTELA, et al. Desafios do MIP em soja em grandes propriedades no Brasil Central. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 4., 2006, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2006. P. 127-133.

RAMBO, L.; et al. Rendimento de grãos da soja em função do arranjo de plantas. **Ciência Rural**, v. 33, n. 3, p. 405-411, 2003.

RODRIGUES, S. M.; SILVIE, P.; DEGRANDE, P. E. O sistema de cultivo adensado do algodoeiro e os artrópodes - pragas. In: BELOT, J. L.; VILELA, P. A. **O sistema de cultivo do algodoeiro adensado em Mato Grosso: Embasamento e Primeiros Resultados**. 1. 2010. Cuiabá: Defanti Editora, 2010. p. 239-249.

ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 63–71, 2006.

SILVA, M. T. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GOMÉZ, D. R. Erro e resistência. **Revista Cultivar**, v. 8, n. 82, p. 22-25, 2006.

SILVA, A. B.; BATISTA, J. L.; BRITO, C. H. Aspectos biológicos de *Euborellia annulipes* sobre ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Engenharia Ambiental**, v. 6, n. 3, p. 482-495, 2009.

STERN, V.M.; SMITH, R.F.; VAN DEN BOSCH, R.; HAGEN, K.S. The integrated control concept. **Hilgardia**, v. 28, p. 81-101, 1959.

TOMQUELSKI, G.V.; MARTINS, G. L. M.; DIAS, T. S. Características e manejo de pragas da cultura da soja. **Pesquisa, Tecnologia e Produtividade**, v. 2, n. 9, p. 61-82, 2015.

VENDRAMIM, J. D. A resistência de plantas e o manejo de pragas. In: CROCOMO, W. B. (Org.), **Manejo Integrado de Pragas**. Botucatu: UNESP/CETESB, 1990, p. 177-197.

WU, C. et al. Transgenic fertile japonica rice plants expressing a modified cryIA(b) gene resistance to yellow stem borer. **Plant Cell Reports**, v. 17, p. 129-132, 1997.

WU, K. et al. Inheritance and expression of the cry1AB gene in *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) transgenic rice. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, p. 727-734, 2002.

YU, H. L.; LI, Y. H.; WU, K. M. Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. **Journal of Integrative Plant Biology**, n. 53, p. 520-538, 2011.