

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

**FATORES INTRÍNSECOS ÀS PLANTAS DE SOJA NA
EXPRESSÃO DA RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA E
INDUZIDA A *Spodoptera cosmioides* (WALKER, 1858)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Marcelo Mueller de Freitas
Engenheiro Agrônomo

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

**FATORES INTRÍNSECOS ÀS PLANTAS DE SOJA NA
EXPRESSÃO DA RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA E
INDUZIDA A *Spodoptera cosmioides* (WALKER, 1858)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Marcelo Mueller de Freitas

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior

Coorientador: Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza

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

2016

F866f Freitas, Marcelo Mueller de
Fatores intrínsecos às plantas de soja na expressão da resistência constitutiva e induzida a *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae / Marcelo Mueller de Freitas. -- Jaboticabal, 2016
xi, 88 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Arlindo Leal Boiça Júnior
Coorientador: Bruno Henrique Sardinha de Souza
Banca examinadora: Raphael de Campos Castilho, Flávio Gonçalves de Jesus
Bibliografia

1. Antibiose. 2. Interação inseto-planta. 3. Lagarta das vagens. 4. Metodologia de pesquisa. 5. Antixenose. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.78:632.9

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: FATORES INTRÍNSECOS ÀS PLANTAS DE SOJA NA EXPRESSÃO DA RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA E INDUZIDA A *Spodoptera cosmioides* (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

AUTOR: MARCELO MUELLER DE FREITAS

ORIENTADOR: ARLINDO LEAL BOIÇA JUNIOR

CO-ORIENTADOR: BRUNO HENRIQUE SARDINHA DE SOUZA

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

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

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

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

Jaboticabal, 26 de julho de 2016

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MARCELO MUELLER DE FREITAS – Natural de Araguari, MG, nascido em 26 de julho de 1991, filho Luiz Donizete de Freitas e Celina de Fátima Mueller de Freitas. Engenheiro Agrônomo graduado pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Câmpus Urutaí, GO, no ano de 2014. De 2011 a 2012, durante o curso de graduação desenvolveu atividades de pesquisa na área de concentração em Entomologia Agrícola, subárea Resistência de Plantas a Insetos, sendo bolsista de iniciação científica (PIVIC/IF Goiano), sob a orientação do Prof. Dr. Flávio Gonçalves de Jesus. De 2012 a 2013 cursou graduação sanduíche pelo Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa – Portugal com o auxílio do programa Ciência sem Fronteiras, e durante um ano estagiou no Laboratório de Entomologia sob a orientação do Prof. Dr. José Carlos Franco. De 2013 a 2014 foi bolsista de iniciação científica (ITI – IC/CNPq) desenvolvendo trabalhos na área de Entomologia Agrícola. Em março de 2015, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Entomologia Agrícola, pela Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, SP, atuando com pesquisas em Resistência de Plantas a Insetos, sendo bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, sob a orientação do Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior. Aprovado no processo de seleção para o curso de Doutorado na mesma instituição, sob a orientação do mesmo docente, com início em agosto de 2016.

*“Que os vossos esforços desafiem as
impossibilidades, lembrai-vos que as
grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia
impossível”.*

Charles Chaplin.

DEDICO...

*Ao meu pai **Luiz Donizete de Freitas** e
minha mãe **Celina Mueller de Freitas**,
pela educação exemplar que recebi,
pelo amor incondicional, e por todo
o incentivo para chegar até aqui.*

OFEREÇO...

*À minha namorada **Paulini Vieira Mundim Luciano**,
por todo amor, carinho, mensagens de incentivo,
e apoio em todas as minhas decisões*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre guiar meus passos, iluminar meus pensamentos, e me dar forças para superar toda e qualquer dificuldade.

Ao Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior, pela confiança a mim depositada, pela excelente orientação, ensinamentos transmitidos, apoio durante todo o mestrado, e pela amizade.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – UNESP/FCAV, pela grande oportunidade de realização do curso de Pós-graduação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Entomologia Agrícola pela oportunidade de crescimento pessoal, profissional e realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Entomologia Agrícola pelos conhecimentos transmitidos.

Aos Professores Dr. Raphael de Campos Castilho e Dr. Sérgio Antônio de Bortoli pela participação e colaboração em meu Exame Geral de Qualificação.

Ao Técnico do Laboratório e amigo Zulene Antonio Ribeiro pela amizade, e auxílio nos momentos solicitados.

A equipe de trabalho, Bruno Henrique Sardinha de Souza, Luciano Nogueira e Mirella Marconato Di Bello, pelo auxílio, companheirismo, e apoio durante a execução dos experimentos.

Aos colegas do Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos - UNESP/FCAV: Bruno Henrique Sardinha de Souza, Carlos Alessandro de Freitas, Eduardo Neves Costa, Luciano Nogueira, Mirella Marconato Di Bello, Renato Franco de Oliveira Moraes, Stéfane Carolina Quista da Silva Faria, Wellington Ivo Eduardo e Zulene Antonio Ribeiro pela amizade, discussões sobre assuntos relacionados à Entomologia e Resistência de Plantas.

Ao meu orientador de graduação Prof. Dr. Flávio Gonçalves de Jesus, pela amizade, pelo incentivo ao iniciar os trabalhos de pesquisa na área de Entomologia e Resistência de Plantas, e pelos ensinamentos valiosos.

À minha namorada Paulini Vieira Mundim Luciano, por todo o amor, compreensão, incentivo, paciência, companheirismo, apesar de todos os momentos difíceis e a distância, sempre esteve presente apoiando todas as minhas decisões.

Aos amigos Cirano Cruz Melville, Carlos Alessandro de Freitas e Luciano Nogueira, pelo companheirismo, pelas diversas discussões e conhecimentos compartilhados sobre Entomologia, pelo apoio em momentos de dificuldade, e pela amizade verdadeira.

Aos colegas e amigos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UNESP/FCAV, pela convivência e participação junto às disciplinas e cursos realizados.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade em especial: Roseli Pessoa, Lígia Dias Tostes Fiorezzi e José Altamiro de Souza, pela amizade e atenção sempre dispensada.

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

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	x
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. Introdução.....	1
2. Revisão de literatura	3
2.1.A cultura da Soja	3
2.2. <i>Spodoptera cosmioides</i>	5
2.3.Resistência de plantas a artrópodes-praga	7
2.3.1. Fatores que influenciam a expressão de resistência nas plantas	10
3. Referências.....	12
CAPÍTULO 2 – FATORES INTRÍNSECOS ÀS PLANTAS DE SOJA QUE INFLUENCIAM A EXPRESSÃO DE RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA A <i>Spodoptera cosmioides</i> (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	21
RESUMO.....	21
ABSTRACT	22
1. Introdução.....	23
2. Material e Métodos	25
2.1. Influência de fatores intrínsecos às plantas de soja na expressão de antixenose às lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i>	26
2.1.1. Experimento 1: Preferência alimentar entre folíolo inteiro versus disco foliar de genótipos de soja	27
2.1.2. Experimento 2: Preferência alimentar entre folhas da parte superior versus folhas da parte inferior de genótipos de soja	27
2.1.3. Experimento 3: Preferência alimentar entre folha versus vagens novas versus vagens velhas	28

2.2.Experimento 4: Influência de fatores intrínsecos às plantas de soja na expressão da antibiose em lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i>	28
2.3.Análise estatística.....	29
3. Resultados.....	29
3.1.Experimento 1: Preferência alimentar entre folíolo inteiro versus disco foliar de genótipos de soja.....	29
3.2.Experimento 2: Preferência alimentar entre folhas da parte superior versus folhas da parte inferior de genótipos de soja	33
3.3.Experimento 3: Preferência alimentar entre folha versus vagens novas versus vagens velhas.....	36
3.4.Experimento 4: Influência de fatores intrínsecos às plantas de soja na expressão da antibiose em lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i>	41
4. Discussão	43
5. Referências.....	48
CAPÍTULO 3 – A INDUÇÃO DE DEFESAS EM SOJA PELA HERBIVORIA DE <i>Spodoptera cosmioides</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) É DEPENDENTE DO GENÓTIPO E POSIÇÃO FOLIAR DAS PLANTAS	54
RESUMO.....	54
ABSTRACT	55
1. Introdução.....	56
2. Material e Métodos	58
2.1.Condições gerais do experimento	58
2.2.Lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i>	58
2.3.Genótipos de soja.....	59
2.4.Infestação artificial com lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i>	59
2.5.Avaliação de índices nutricionais em lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i>	61
2.6.Análise estatística.....	62
3. Resultados.....	63

3.1. Disco foliar	63
3.2. Folíolo inteiro	68
4. Discussão	73
5. Referências.....	80
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
Referências	88

FATORES INTRÍNSECOS ÀS PLANTAS DE SOJA NA EXPRESSÃO DA RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA E INDUZIDA A *Spodoptera cosmioides* (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO – Entre as pragas que causam prejuízos à soja, *Spodoptera cosmioides* assume importância devido a ineficiência dos métodos atuais para o seu controle, podendo causar reduções significativas na produção da cultura. Portanto, métodos alternativos dentro do manejo integrado de pragas como a resistência de plantas, tornam-se ferramentas fundamentais como táticas de controle a *S. cosmioides*. Variações em fatores intrínsecos às plantas podem afetar a expressão da resistência ao ataque de insetos e outros artrópodes. Desse modo, a determinação de metodologias específicas e mais precisas, em trabalhos visando à seleção de genótipos resistentes a um determinado inseto, são imprescindíveis para melhor demonstrar possíveis variações nos níveis de resistência entre genótipos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar alguns fatores relacionados às plantas de soja que podem influenciar a expressão da resistência constitutiva e induzida a *S. cosmioides*. Na primeira parte avaliou-se a influência dos seguintes fatores na expressão da resistência constitutiva de dois genótipos resistente e suscetível a *S. cosmioides* em testes de preferência alimentar com e sem chance de escolha: substrato alimentar (disco foliar versus folíolo inteiro), posição foliar/idade foliar (folha mais nova da parte superior versus folha mais velha da parte inferior), e estrutura vegetal (folha versus vagem). Além disso, avaliou-se os efeitos de antibiose para *S. cosmioides* pela alimentação individual ou mista com folhas e vagens em teste sem chance de escolha. A segunda parte teve como objetivo investigar se alguns fatores como o genótipo (resistente e suscetível) e posição foliar (folhas da parte superior e folhas da parte inferior) influenciam na expressão da resistência induzida por injúria prévia. Também foram testados dois métodos de avaliação dos parâmetros biológicos de *S. cosmioides*, oferecendo discos foliares ou folíolos inteiros aos insetos nos bioensaios. Na primeira parte deste estudo, observou-se que o folíolo inteiro retirado da parte inferior das plantas proporcionou a melhor diferenciação na expressão da antixenose em genótipos de soja. Além disso, o desenvolvimento larval de *S. cosmioides* foi afetado em lagartas alimentadas apenas com vagem e quando alimentadas com vagem até o quarto ínstar e folíolo a partir do quarto ínstar. Na segunda parte, verificou-se que o genótipo resistente expressou resistência induzida a *S. cosmioides* em plantas de soja previamente injuriadas, enquanto que o genótipo suscetível não apresentou indução de resistência. Além disso, a posição foliar influenciou a expressão da resistência induzida no genótipo resistente, que foi melhor observada com o disco foliar coletado da parte superior. Espera-se que os resultados obtidos neste estudo, possam contribuir para o entendimento dos mecanismos de defesa em soja, fornecendo metodologias específicas para trabalhos futuros com resistência constitutiva e induzida, que poderão colaborar para o manejo integrado de pragas na cultura da soja.

Palavras-chave: antibiose, interação inseto-plantas, lagarta das vagens, metodologia de pesquisa, antixenose

**FACTORS INHERENT TO SOYBEAN PLANTS INFLUENCING THE EXPRESSION
OF CONSTITUTIVE AND INDUCED RESISTANCE TO *Spodoptera cosmioides*
(WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

ABSTRACT – Among the pests that cause damage to soybeans, *Spodoptera cosmioides* takes importance due to inefficiency of current methods for their control and may cause significant decreases in crop production. Therefore, alternative methods within the Integrated Pest Management as the Host-Plant Resistance become fundamental tools as control tactics against *S. cosmioides*. Variations on factors inherent to plants may affect the expression of resistance to insects and other arthropods. Thus, the determination of specific methodologies and most accurate in studies aiming at the selection of genotypes resistant to a particular insect are essential to better demonstrate possible variations in resistance levels between genotypes. This study aimed to evaluate some factors related to soybean plants that can influence the expression of constitutive and induced resistance to *S. cosmioides*. In the first part we evaluated the influence of the following factors on expression of constitutive resistance of two resistant and susceptible genotypes to *S. cosmioides* on feeding preference on choice and no-choice tests: leaf discs versus entire leaflets; upper part versus lower part of the plant; leaf versus pod. In addition, we evaluated the effects on larval development to *S. cosmioides* by individually or mixed food with leaves and pods in no-choice test. The second part aimed to investigate if some factors such as genotype (resistant and susceptible) and leaf position (upper part versus lower part of the plant) influence the expression of resistance induced by previous herbivory. We also tested two methods of evaluation of biological parameters of *S. cosmioides* offering leaf disks or entire leaflets insects in bioassays. In the first experiment, the entire leaflet removed from the lower part of the plants showed the best differentiation in the expression of antixenosis in soybean genotypes. The larval development of *S. cosmioides* was affected in caterpillars fed only on pod and when fed on pod to the fourth instar and leaflets from the fourth instar. In the second experiment, the resistant genotype expressed induced resistance to *S. cosmioides* in previously injured soybean plants, while the susceptible genotype showed no resistance induction. Furthermore, the position influenced the expression of induced resistance in the resistant genotype, which was better seen with leaf disc collected from upper part of the plant. We expect the results of this study can contribute to the understanding of the defense mechanisms of soybeans, providing specific methodologies for future works with constitutive and induced resistance, contributing to the Integrated Pest Management of soybeans.

Keywords: antibiosis, plant-insect interaction, soybean pods armyworm, research methodology, feeding preference

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2 – FATORES INTRÍNSECOS ÀS PLANTAS DE SOJA QUE INFLUENCIAM A EXPRESSÃO DE RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA A <i>Spodoptera cosmioides</i> (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	21
--	----

Figura 1. Número médio (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* em discos foliares e folíolos de genótipos resistente e suscetível de soja em teste com chance de escolha. R Disco: disco foliar do genótipo resistente; R Folíolo: folíolo do genótipo resistente; S Disco: disco foliar do genótipo suscetível; S Folíolo: folíolo do genótipo suscetível. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre genótipos e diferentes letras maiúsculas entre substratos alimentares em cada tempo de avaliação. ^{ns} não significativo. 31

Figura 2. Número médio (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* em folíolos da parte superior e inferior de genótipos resistente e suscetível de soja em testes com chance (a) e sem chance (b) de escolha. R Superior: folíolo da parte superior do genótipo resistente; R Inferior: folíolo da parte inferior do genótipo resistente; S Superior: folíolo da parte superior do genótipo suscetível; S Inferior: folíolo da parte inferior do genótipo suscetível. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre genótipos e diferentes letras maiúsculas entre estruturas vegetais em cada tempo de avaliação. ^{ns} não significativo. 34

Figura 3. Número médio (\pm EP) de lagartas *Spodoptera cosmioides* em folíolos, vagens em desenvolvimento e vagens completamente desenvolvidas de genótipos resistente e suscetível de soja em testes com chance (a) e sem chance (b) de escolha. R Folíolo: folíolo da parte superior do genótipo resistente; R Vagem Nova: vagem em desenvolvimento do genótipo resistente; R Velha: vagem completamente desenvolvida do genótipo resistente; S Folíolo: folíolo da parte superior do genótipo suscetível; S Vagem Nova: vagem em desenvolvimento do genótipo suscetível; S Vagem velha: vagem completamente desenvolvida do genótipo suscetível; Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre genótipos e diferentes letras maiúsculas entre estruturas vegetais em cada tempo de avaliação. ^{ns} não significativo..... 39

CAPÍTULO 3 – A INDUÇÃO DE DEFESAS EM SOJA PELA HERBIVORIA DE *Spodoptera cosmioides* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) É DEPENDENTE DO GENÓTIPO E POSIÇÃO FOLIAR DAS PLANTAS 54

Figura 1. Representação ilustrativa de plantas de soja submetidas à herbivoria por lagartas de *Spodoptera cosmioides* em gaiolas de tecido voile no primeiro (a) e segundo trifólios (b) a partir da base das plantas..... 60

Figura 2. Taxa de consumo relativo (RCR) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas em discos foliares retirados de plantas resistentes e suscetíveis de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre plantas injuriadas e sem injúria em cada genótipo e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre genótipos para plantas injuriadas/sem injúria ($P < 0,05$). 65

Figura 3. Taxa de consumo relativo (RCR), taxa de crescimento relativo (RGR), e eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com discos foliares das posições

superior e inferior de plantas de genótipos resistente e suscetível de soja. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as partes superior e inferior em cada genótipo e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre genótipos para a mesma parte da planta ($P < 0,05$)..... 66

Figura 4. Taxa de consumo relativo (RCR), taxa de crescimento relativo (RGR), e eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com discos foliares das posições superior e inferior de plantas de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as partes superior e inferior de plantas injuriadas/sem injúria e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre plantas injuriadas/sem injúria para a mesma parte da planta ($P < 0,05$). 67

Figura 5. Taxa de crescimento relativo (RCR) de lagartas de *Sopodptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros de plantas de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre plantas injuriadas e sem injúria em cada genótipo e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre genótipos para plantas injuriadas/sem injúria ($P < 0,05$)..... 69

Figura 6. Taxa de consumo relativo (RCR) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros das posições superior e inferior de plantas de genótipos resistente e suscetível de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as partes superior e inferior em cada genótipo e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre genótipos para a mesma parte da planta ($P < 0,05$). 70

Figura 7. Taxa de consumo relativo (RCR) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros das posições superior e inferior de plantas de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as partes superior

e inferior de plantas injuriadas/sem injúria e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre plantas injuriadas/sem injúria para a mesma parte da planta ($P < 0,05$). 71

Figura 8. Taxa de crescimento relativo (RGR) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros de plantas de genótipos resistente e suscetível de soja. Barras com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os genótipos resistente e suscetível ($P < 0,05$). 71

Figura 9. Eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros dos genótipos resistente e suscetível de soja. Barras com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os genótipos resistente e suscetível ($P < 0,05$). 72

Figura 10. Eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros retirados das partes superior e inferior dos genótipos resistente e suscetível de soja. Barras com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os genótipos resistente e suscetível ($P < 0,05$). 73

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – FATORES INTRÍNSECOS ÀS PLANTAS DE SOJA QUE INFLUENCIAM A EXPRESSÃO DE RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA A <i>Spodoptera cosmioides</i> (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	21
Tabela 1. Resultados da ANOVA para os efeitos de genótipo (G) e substrato (S) na preferência alimentar de lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i> entre discos foliares e folíolos inteiros de plantas de soja em testes com e sem chance de escolha.	30
Tabela 2. Área foliar consumida (cm ² , ± EP) por lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i> em discos foliares e folíolos inteiros de genótipos de soja, em testes com e sem chance de escolha.....	32
Tabela 3. Resultados da ANOVA para os efeitos de genótipo (G) e substrato (S) na preferência alimentar de lagartas <i>Spodoptera cosmioides</i> alimentadas com folíolos inteiros da parte superior e parte inferior das plantas de soja em testes com e sem chance de escolha.....	33
Tabela 4. Área foliar consumida (cm ² , ± EP) em folíolos genótipos (G) de soja por <i>Spodoptera cosmioides</i> , utilizando-se folhas (F) da parte superior ou inferior da planta, em testes com e sem chance de escolha.	36
Tabela 5. Resultados da ANOVA para os efeitos de genótipo (G) e substrato (S) na preferência alimentar de lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i> entre folíolos inteiros, vagens novas e vagens velhas de plantas de soja em testes com e sem chance de escolha.	38
Tabela 6. Porcentagem de injúria (% , ±EP) por lagartas de <i>Spodoptera cosmioides</i> em folíolos, vagens novas e vagens velhas de genótipos resistente e suscetível de soja em testes com chance e sem chance de escolha.....	40

Tabela 7. Médias (\pm EP) de duração (dias) da fase larval de <i>Spodoptera cosmioides</i> alimentada com folíolos, vagens, folíolos + vagens, e folíolos até o 4 ^o ínstar larval seguidos de vagens até a pupação de genótipos resistente e suscetível de soja.....	41
Tabela 8. Médias (\pm EP) de peso (mg) larval de <i>Spodoptera cosmioides</i> alimentada com folíolos, vagens, folíolos + vagens, e folíolos até o 4 ^o ínstar larval seguidos de vagens até a pupação de genótipos resistente e suscetível de soja.....	42
Tabela 9. Médias (\pm EP) de sobrevivência (%) larval de <i>Spodoptera cosmioides</i> alimentada com folíolos, vagens, folíolos + vagens, e folíolos até o 4 ^o ínstar larval seguidos de vagens até a pupação de genótipos resistente e suscetível de soja.....	43
CAPÍTULO 3 – A INDUÇÃO DE DEFESAS EM SOJA PELA HERBIVORIA DE <i>Spodoptera cosmioides</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) É DEPENDENTE DO GENÓTIPO E POSIÇÃO FOLIAR DAS PLANTAS	54
Tabela 1. Resultados da ANOVA para os efeitos de genótipo, injúria, e posição foliar nos parâmetros biológicos/nutricionais de lagartas de terceiro ínstar de <i>Spodoptera cosmioides</i> alimentadas com discos foliares e folíolos inteiros.....	64

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

Entre os principais artrópodes herbívoros que causam danos à cultura da soja, estão os insetos da família Lepidoptera, os quais algumas espécies do gênero *Spodoptera* destacam-se como importantes desfolhadores (MOSCARDI et al., 2012). *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada praga em expansão na cultura da soja no Brasil, atacando as plantas durante todo o ciclo. Além das folhas, as lagartas também causam injúrias às vagens, assumindo assim importância significativa para a cultura (SOSA-GÓMEZ et al., 1993; GAZZONI; YORINORI, 1995; SANTOS et al., 2005; MOSCARDI et al., 2012). Com o reduzido número de inseticidas registrados para seu controle (MAPA 2016) e a ineficiência de cultivares transgênicas de soja (evento MON87701 X MON89788) (CTNBIO, 2010) que expressam a proteína Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* Berliner (SANTOS et al., 2009; BERNARDI et al., 2014), o uso de organofosforados, carbamatos e piretroides tem sido a principal estratégia de controle para espécies de *Spodoptera* em soja. No entanto, a baixa eficácia do controle químico para espécies do gênero *Spodoptera* é comum devido à alta resistência natural aos inseticidas (DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001; HUANG; HAN, 2007; CARVALHO et al., 2013; SU; SUN, 2014; SALEEM et al., 2016). Portanto, outros métodos de controle alternativos ao controle químico com inseticidas são imprescindíveis para o sucesso do manejo de pragas em soja.

As plantas desenvolveram ao longo de sua evolução, sofisticados mecanismos de defesa a estresses bióticos e abióticos, os quais podem ser classificados em constitutivos ou induzidos. Os componentes da defesa constitutiva são substâncias químicas e/ou estruturas morfológicas que dificultam a utilização dos tecidos das plantas pelos artrópodes fitófagos, podendo afetar parâmetros biológicos relacionados ao crescimento e reprodução (COLEY; BARONE, 1996; KARBAN; BALDWIN, 1997). Esses componentes podem ser encontrados em diferentes partes e estruturas da planta, e normalmente suas concentrações variam em função do seu estágio fenológico (COLEY; BARONE, 1996). A defesa induzida pode ser definida

como qualquer mudança morfológica ou fisiológica resultante da exposição prévia a algum estímulo elicitor, levando ao aumento dos níveis de resistência das plantas. Dentre os estímulos que desencadeiam respostas induzidas de defesa estão a herbivoria por artrópodes, injúria mecânica, temperatura, CO₂, estresse hídrico (KARBAN; BALDWIN, 1997; AGRAWAL, 1998; SMITH, 2005).

Alguns genótipos convencionais de soja, sendo duas linhagens e uma cultivar, mostraram-se promissores contra *S. cosmioides* (BOIÇA JÚNIOR et al., 2015a). Experimentalmente em laboratório, os principais efeitos da resistência constitutiva por antibiose nesses genótipos foram a redução no peso e mortalidade durante a fase larval. Pelo fato de a resistência ser de caráter genético, variações em fatores relacionados às plantas de soja, tais como idade da folha, estruturas da planta, e herbivoria prévia por insetos, podem afetar a expressão da resistência. Em estudo realizado com genótipos de soja, *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), Boiça Júnior et al. (2015b) verificaram que alguns fatores intrínsecos às plantas influenciaram significativamente a expressão da resistência em maior ou menor grau. Porém, até o momento, não há qualquer informação sobre a influência dos fatores tipo de substrato, posição da folha/idade da folha, estrutura vegetal, e herbivoria prévia na expressão da resistência a *S. cosmioides*.

Com a condução do presente estudo, a expectativa é a de que os resultados aqui encontrados possam contribuir para o conhecimento sobre o padrão de alocação vertical das defesas constitutivas e induzidas em soja a lagartas desfolhadoras, elucidar sua preferência e desenvolvimento em diferentes estruturas vegetais, e determinar um protocolo metodológico específico para futuros estudos visando ao manejo de *S. cosmioides* em plantas de soja. Desse modo, esse trabalho teve o objetivo de avaliar a influência do substrato alimentar (disco foliar vs. folíolo inteiro), posição foliar/idade foliar (folha mais nova da parte superior *versus* folha mais velha da parte inferior), e estrutura vegetal (folha *versus* vagem) na expressão da resistência constitutiva; avaliar o efeito da herbivoria prévia, genótipo, substrato alimentar (disco foliar *versus* folíolo inteiro) e posição foliar (parte superior vs. parte inferior) em soja na expressão da resistência induzida a *S. cosmioides*.

2. Revisão de literatura

2.1. A cultura da Soja

A soja, taxonomicamente pertence à classe das plantas dicotiledôneas, família Fabaceae, subfamília Papiolionoideae, gênero *Glycine*, espécie *Glycine max* (L.) Merrill. O seu sistema radicular é do tipo pivotante, com ramificações e presença de nódulos de bactérias fixadoras de nitrogênio. A altura da planta varia de 30 a 200 cm (MÜLLER, 1981).

A soja é uma planta autógama, herbácea, anual, com caule ereto e porte variável de 0,60 m a 1,50 m. É bastante ramificada, com os ramos inferiores mais alongados e todos os ramos formando ângulos variáveis com o caule principal (SEDIYAMA et al., 1996; MISSÃO, 2006). As folhas são alternadas, longas, pecioladas, compostas de três folíolos ovalados ou lanceolados, de comprimento variável entre 0,5 e 12,5 cm. Na maioria das cultivares, as folhas amarelecem à medida que os frutos amadurecem, e caem quando as vagens estão maduras. As flores são dispostas em racínios axilares e terminais, geralmente com 9 a 10 flores, de coloração variada; dependendo da cultivar podem ser amarelas, brancas ou violetas (MÜLLER, 1981; PIMENTEL GOMES, 1986; MISSÃO, 2006). Os frutos são vagens achatadas, pubescentes, deiscentes, de cor cinza, amarelo-palha ou preta, dependendo da cultivar. Apresentam duas a cinco sementes, sendo possível encontrar até 400 vagens por planta. Estas possuem formato liso, ovoide, globoso ou elíptico, com hilo pequeno (BERGAMIN; CANCIAN; CASTRO, 1999; MISSÃO, 2006)

O ciclo total pode ser dividido em fase vegetativa, que é o período da emergência da plântula até a abertura das primeiras flores, e a fase reprodutiva, denominada como o período do início da floração até a maturidade, com duração média de 75 a 200 dias, influenciado pelas condições ambientais da região e da cultivar utilizada (MÜLLER, 1981; NEUMAIER et al., 2000; BORÉM, 2009). O sistema proposto por Fehr e Caviness (1977) divide o desenvolvimento da soja em estádios vegetativos, que são representados pela letra "V", e estádios reprodutivos, representados pela letra "R". A fase inicial da planta é definida pelos estádios "VE" (emergência) e "VC" (folhas cotiledonares). As letras "V" e "R" são seguidas por

números que identificam os estádios específicos dentro das fases vegetativa e reprodutiva.

Cultivada mundialmente, a soja é muito diferente dos ancestrais que lhe deram origem; espécies de plantas rasteiras que se desenvolviam na costa leste da Ásia, principalmente ao longo do Rio Amarelo, na China. Sua evolução começou com o aparecimento de plantas oriundas de cruzamentos naturais, entre duas espécies de soja selvagem, que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China. Sua importância na dieta alimentar da antiga civilização chinesa era tal que a soja, juntamente com o trigo, o arroz, o centeio e o milho, era considerada um grão sagrado, com direito a cerimônias ritualísticas na época da semeadura e da colheita (BONETTI, 1981; HYMOWITZ, 1987; EMBRAPA, 2004; FARIAS et al., 2007). Apesar de conhecida e explorada no Oriente há mais de cinco mil anos, seu cultivo foi ignorado até a segunda década do século XX, quando os Estados Unidos iniciaram sua exploração comercial (EMBRAPA, 2004).

No Brasil, a soja foi introduzida na Bahia em 1882 por Gustavo Dutra na Escola de Agronomia da Bahia e pelo Dr. Franz Wilhelm Daffert no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) em 1892, onde os primeiros genótipos introduzidos no país oriundos dos Estados Unidos foram testados (BONATO; BONATO, 1987; EMBRAPA, 2004; 2005). No Rio Grande do Sul, a soja teria sido cultivada pela primeira vez em Dom Pedrito em 1900. Em 1901 teria sido publicado o primeiro trabalho com soja no Estado, pelo Professor de Agronomia do Liceu Rio-Grandense Guilherme Minssen. Em 1914, F. C. Craig, professor norte-americano que lecionou e realizou atividades de pesquisa na Escola Superior de Agronomia e Veterinária da então Universidade Técnica de Porto Alegre, introduziu sementes de cultivares de soja e as distribuiu para as diferentes estações experimentais que estavam subordinadas à Escola (EMBRAPA, 2004; 2005).

Na chamada região pioneira, em Santa Rosa, RS, a soja foi semeada experimentalmente pela primeira vez em outubro de 1921 na Estação de Agricultura e Criação pelo Professor Gentil Coelho Leal e pelo técnico rural Floriano Peixoto Machado, e assim as sementes foram repassadas aos agricultores que começaram a cultivá-la em 1924 (LEAL, 1967; COSTA, 1996;). A partir de 1941, a leguminosa se destacou economicamente quando atingiu uma produção de 450 toneladas em uma área cultivada de 640 hectares, com produtividade de 700 kg ha⁻¹ (EMBRAPA, 2004; 2005).

Apesar de a soja ter sido cultivada experimentalmente desde 1921, apenas durante as décadas de 1960/1970 que a cultura da soja se tornou economicamente importante para o Brasil, uma vez que foi beneficiada com a política de incentivos fiscais à triticultura no país nessa época. Assim, cultivava-se trigo no inverno e soja durante o verão, utilizando-se para ambas as culturas as mesmas áreas de cultivo, mão-de-obra e maquinaria (EMBRAPA, 2004; 2005).

A cultura da soja representa um dos produtos mais fortes da economia brasileira (KLAHOLD et al., 2006), ocupando a maior área cultivada entre os produtos agrícolas (56%), cerca de 32 milhões de hectares, com produção média de 96 milhões de toneladas na safra 2014/2015, o equivalente a 48% do total da produção nacional de grãos e 30,25% da produção mundial de soja. Essa condição confere ao Brasil o “status” de segundo maior produtor mundial da leguminosa, superado apenas pelos Estados Unidos (CONAB, 2016).

Entre os fatores que limitam o potencial de produtividade da soja estão as pragas, que atacam as plantas desde a emergência até a maturação fisiológica. Dos artrópodes que causam desfolha, as lagartas compreendem um dos grupos de pragas mais importantes. Nos últimos anos, a ocorrência de lagartas do gênero *Spodoptera* tem aumentado na cultura da soja, causando reduções importantes na produtividade (BUENO et al., 2010), e entre as espécies *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) tem significativa importância econômica.

2.2. *Spodoptera cosmioides*

Originalmente descrita no gênero *Prodenia* Guenée, 1852, *S. cosmioides* foi considerada sinonímia de *Spodoptera latifascia* (Walker, 1856) desde o início do século XX por Hampson (1909) até 1997. Estudos sobre a morfologia da genitália, feromônios e DNA mitocondrial de um complexo de espécies neotropicais do gênero, revalidaram a identidade específica de *S. cosmioides*. Sua ocorrência restringe-se à América do Sul, com exceção do sul da Argentina, Chile e regiões do Peru situadas a oeste dos Andes (SILVAIN; LALANNECASSOU, 1997).

As lagartas de *S. cosmioides* são polípagas e alimentam-se de grande número de plantas cultivadas e espontâneas. Sua ocorrência tem sido relatada no Brasil desde a década de 1980 (BERTELS, 1953; SILVA et al., 1968; SANTOS et al., 1980; HABIB

et. al., 1983; SPECHT et. al., 1996; BAVARESCO et. al., 2001; 2002; 2003; 2004). Entre seus principais hospedeiros estão o amendoim, batata-doce, girassol, palma forrageira e soja. Além das culturas mencionadas, ataques de *S. cosmioides* também já foram observados em abacaxizeiro, alfafa, algodão, arroz, aspargo, aveia, batata, berinjela, beterraba, cafeeiro, cebola, couve-nabo, ervilha, eucalipto, feijão, feijão caupi, fumo, fumo cheiroso, gerânio, linho, macieira, mamona, mangueira, milho, pimentão, tomate e trigo (GALLO et al., 2002; BAVARESCO et al., 2003; ZENKER et al., 2007; SILVA et al., 2011; SILVIE et al., 2013).

Apesar da ampla gama de plantas hospedeiras, a ocorrência de *S. cosmioides* como praga é relatada em apenas algumas culturas, e geralmente está relacionada a desequilíbrios provocados pelo uso excessivo de inseticidas de amplo espectro de ação (HABIB et al., 1983). Nos Estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina, surtos da praga causaram severos danos em culturas de interesse econômico, como o algodoeiro e soja (BAVARESCO, et al., 2004; QUINTELA et al., 2007).

Os adultos de *S. cosmioides* são mariposas de hábito noturno, com envergadura média de 40 mm, e asas membranosas cobertas por escamas, sendo as posteriores brancas e as anteriores pardas (mais amareladas nos machos), com desenhos em mosaico (BAVARESCO et. al., 2002; GALLO et. al., 2002; BAVARESCO et. al., 2003; 2004; ZENKER et. al., 2007). Há dimorfismo sexual entre os adultos: o macho difere da fêmea pela presença de uma mancha clara na asa anterior entre as linhas antimedial e pós-medial e abaixo da nervura mediana. A longevidade dos adultos média varia de 11 a 13 dias na faixa de temperatura entre 26 e 28°C (SANTOS et al., 1980; HABIB et al., 1983).

As fêmeas ovipositam nas folhas do terço inferior das plantas, em camadas de ovos sobrepostas, o quais têm coloração inicialmente amarronzada. As massas de ovos são irregulares, e uma fêmea pode depositar até 500 ovos por dia em condições favoráveis. O período de incubação dos ovos é de aproximadamente três a quatro dias, em uma faixa de temperatura entre 25 e 28°C (BAVARESCO et al., 2003; 2004).

Lagartas recém-eclodidas apresentam coloração marrom clara e cabeça preta. Com o passar dos ínstar, as lagartas passam a apresentar tonalidade parda a negro-acinzentada, com três listras longitudinais predominantemente alaranjadas, sendo uma dorsal e duas laterais, com pontos brancos. Acima dos pontos brancos estão presentes triângulos pretos direcionados para o dorso do inseto. Ao atingirem o último ínstar, as lagartas tornam-se pardas, com uma faixa mais escura entre o

terceiro par de pernas torácicas e o primeiro par de falsas-pernas abdominais, além de outras duas faixas na extremidade do abdome. Lagartas desenvolvidas atingem 40 a 48 mm de comprimento, e geralmente passam por seis instares; no entanto, isso pode variar entre quatro e oito dependendo da planta hospedeira (BAVARESCO et al., 2002; 2003; 2004; ZENKER et al., 2007). A duração da fase larval é em média 15 a 19 dias, em uma faixa de temperatura de 25 e 28°C (BAVARESCO et al., 2002). Posteriormente, as lagartas se transformam em pupas, próximo à superfície do solo, permanecendo nessa fase por 14 a 18 dias (BAVARESCO et al., 2004), quando emergem os adultos.

Spodoptera cosmioides é considerada uma praga em expansão na cultura da soja, atacando as plantas principalmente na fase reprodutiva. Além das folhas (MOSCARDI et al., 2012), também causam injúrias às vagens, assumindo importância significativa devido aos danos diretos no produto final (SOSA-GÓMEZ et al., 1993; GAZZONI; YORINORI, 1995; SANTOS et al., 2005; PANIZZI; BUENO; SILVA, 2012). Essa espécie se destaca entre as demais do gênero *Spodoptera* devido a sua voracidade durante a fase larval, pois consome aproximadamente o dobro de área foliar em comparação às outras espécies de lepidópteros de importância econômica para a cultura da soja no Brasil (MOSCARDI et al., 2012).

Como há poucos inseticidas registrados no Brasil para *S. cosmioides* em soja (MAPA, 2016), seu controle normalmente é realizado indiretamente por aplicações visando ao controle das lagartas *Anticarsia gemmatalis* Hübner, *Crysoideixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781). No entanto, a baixa eficácia do controle químico para espécies do gênero *Spodoptera* é comum devido à alta resistência natural aos inseticidas (DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001; HUANG; HAN, 2007; CARVALHO et al., 2013; SU; SUN, 2014; SALEEM et al., 2016). Recentemente, foi lançada a cultivar de soja transgênica (evento MON87701 X MON89788) (CTNBIO, 2010) que expressa a proteína Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* Berliner. Porém, essa proteína apresenta baixa toxicidade para *S. cosmioides* (SANTOS et al., 2009), e assim, outros métodos de controle mais eficientes devem ser investigados.

2.3. Resistência de plantas a artrópodes-praga

A classe Insecta, com mais de um milhão de espécies descritas, é a mais diversa do grupo de animais na Terra, superando todas as outras formas de vida. Quase metade de todas as espécies de insetos existentes são fitófagos, ou seja, se alimentam de tecidos de plantas vivas. A capacidade das plantas em persistir em um ambiente tão hostil depende do desenvolvimento de mecanismos de resistência, permitindo-lhes escapar da infestação de insetos fitófagos no tempo e espaço (SCHALLER, 2008).

O cultivo de plantas que expressam alguma forma de resistência herdada contra um artrópode tem sido praticado há centenas de anos (SMITH, 2005; FARHAREHMAN et al., 2010). Antes da domesticação de plantas com o propósito agrícola, aquelas que eram suscetíveis a artrópodes morriam antes que pudessem produzir sementes ou que suas sementes injuriadas pudessem germinar. Assim, as plantas resistentes sobreviveram por adaptação e seleção natural. É provável que os primeiros sistemas agrícolas indígenas tenham selecionado e utilizado plantas resistentes a artrópodes-pragas, uma vez que estes sistemas desenvolviam práticas de produção com base em diferentes espécies de plantas, e dentro das espécies, eram selecionadas diferentes linhagens e cultivares locais (SMITH, 2005).

O melhoramento de plantas resistentes a artrópodes formalizou-se no final do século XIX, com a redescoberta dos princípios básicos de hereditariedade e hibridação de plantas de Gregor Mendel. No entanto, menos de 100 relatos sobre resistência de plantas a artrópodes foram publicados nos Estados Unidos durante o século XIX e início do século XX. Em uma das primeiras revisões completas sobre resistência de plantas a artrópodes, Snelling (1941) identificou 163 publicações que tratam de resistência de plantas nos Estados Unidos de 1931 até 1940. Desde então, inúmeros trabalhos têm mostrado o progresso dos cientistas que conduzem pesquisas sobre resistência de plantas (PAINTER 1958; BECK, 1965; PAINTER 1968; MAXWELL et al., 1972; HEDIN, 1978; HARRIS, 1980; GREEN; STONER, 1996; SMITH, 1999 SMITH, 2005).

Por definição, a resistência de plantas é a soma das qualidades constitutivas que expressam características fenotípicas físicas, morfológicas e/ou químicas, tornando-as menos infestadas ou injuriadas que outras (susceptíveis), em igualdade de condições. As características expressas pelas plantas resistentes, por sua vez, proporcionam aos insetos, alterações no comportamento, fisiologia e biologia, ou apresentam maior capacidade de suportar seu ataque (BOIÇA JÚNIOR et al., 2013a).

A resistência de plantas a artrópodes deve ser sempre medida em uma escala relativa, utilizando o grau de resistência como base de comparação com plantas suscetíveis, as quais são severamente danificadas ou mortas sob condições experimentais semelhantes, além de plantas com níveis conhecidos de resistência (SMITH, 2005).

A literatura comumente descreve três tipos ou categorias de resistência de plantas a artrópodes. Painter (1951) originalmente definiu a resistência como não preferência, antibiose e tolerância. Kogan e Ortman (1978) sugeriram a substituição da não preferência pelo termo antixenose, porque não preferência só diz respeito ao comportamento de insetos e antixenose ocorre quando uma planta ou variedade é menos utilizada pelos insetos para alimentação, oviposição, ou abrigo em comparação com outras plantas em igualdade de condições.

A antixenose é caracterizada pela presença de características morfológicas ou químicas da planta que causam alterações no comportamento de insetos, levando-os à seleção de um hospedeiro sem tais características. A antibiose ocorre quando as plantas afetam negativamente a biologia dos insetos. Tais efeitos variam de leves a letais, e podem resultar de defesas físicas, morfológicas e/ou químicas presentes nas plantas. A antibiose pode causar alongamento do período de desenvolvimento do inseto, reduções em seu tamanho e peso, mortalidade durante os estágios larvais ou ninfais, reduções na fecundidade, fertilidade, período de oviposição, etc. A tolerância pode ser definida como a capacidade da planta em recuperar-se de injúrias causadas por insetos, sem reduções em sua produtividade (MORAIS; BALDIN, 2012).

O uso de cultivares resistentes possui entre as vantagens a redução e manutenção de populações de insetos fitófagos abaixo do nível de dano econômico, redução do custo de produção associado à aplicação de inseticidas e nos riscos de desequilíbrios no agroecossistema, persistência de controle em baixas populações da praga, além possibilitar na maioria das vezes sua utilização harmoniosa com outras táticas de controle dentro de um programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (BOIÇA JÚNIOR et al., 2013a). Portanto, a avaliação da resistência em linhagens e cultivares de soja a *S. cosmioides* para fins de seleção e melhoramento torna-se necessária, uma vez que as demais táticas de controle têm mostrado baixa eficiência ao inseto.

Alguns genótipos de soja mostraram-se potencialmente eficientes para o controle de lagartas de *S. cosmioides*. Experimentalmente em laboratório, os principais efeitos da resistência constitutiva por antibiose nos genótipos foram a

redução no peso e mortalidade durante a fase larval (BOIÇA JÚNIOR et al., 2015a). Assim, futuros estudos são necessários para verificar se a resistência nesses genótipos é estável em função de variações de fatores relacionados às plantas de soja.

2.3.1. Fatores que influenciam a expressão de resistência nas plantas

Ao avaliar a resistência em determinado grupo de plantas a insetos fitófagos, uma série de variações devem ser observadas, tais como a idade do inseto, a parte do tecido da planta que será utilizada, o tipo de ensaio que será realizado, entre outras. Essas variações devem ser minuciosamente observadas e controladas, pois cada variável pode influenciar na expressão da resistência das plantas em laboratório, casa de vegetação e até mesmo em campo. Além disso, variações ambientais exercem efeitos significativos na expressão da resistência a insetos. Tais condições estressantes podem afetar consideravelmente o crescimento e metabolismo das plantas, e assim, os níveis de resistência expresso por elas. Portanto, um melhor entendimento sobre as variações de fatores relacionados à planta, ao inseto, e variáveis ambientais é necessário para o desenvolvimento de pesquisas na área de resistência de plantas a insetos (SMITH, 2005; MORAIS; BALDIN, 2012).

Rossetto (1973) classificou a natureza dos fatores influentes na resistência de plantas em três grupos: plantas, insetos e ambiente. Baseado nessa classificação, as variáveis podem ser sumarizadas da seguinte forma: (i) fatores relacionados com a planta: idade, local de infestação, infestação prévia por outros insetos; (ii) fatores relacionados com os insetos: fase e idade, espécie, raça e biótipo, condicionamento pré-imaginal, população e tamanho; e (iii) fatores ambientais: fatores climáticos e edáficos (umidade, temperatura e nutrientes) e infestação por outros insetos (predação e parasitismo, época de plantio, tamanho das parcelas, plantas adjacentes e safra anterior).

Fatores relacionados às plantas que podem influenciar a expressão da resistência foram investigados por outros autores. Alguns estudos avaliaram o uso de folhas inteiras ou partes do tecido vegetal nas diferenças dos níveis de resistência. Por exemplo, East et al. (1992) compararam a resistência de plantas de melão ao ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) usando folhas inteiras

e discos foliares. Os resultados indicaram que os discos foliares foram igualmente preferidos e podem ser usados para avaliar com precisão o desenvolvimento do ácaro. Em outro estudo, Raina, Benepal e Sheikh (1980) não observaram qualquer diferença no consumo do besouro mexicano *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) entre folhas intactas ou excisadas de feijoeiro.

A resistência dos tecidos vegetais de plantas a injúrias causadas por artrópodes também pode variar consideravelmente durante o desenvolvimento da planta. Em muitas interações entre plantas e artrópodes onde as estruturas de frutificação são infestadas, fatores de resistência podem ocorrer mais tarde no desenvolvimento fenológico da planta (fase reprodutiva) ou acumular nos tecidos vegetais mais velhos como defesas aos artrópodes (MORAIS; BALDIN, 2012).

Beland e Hatchett (1976) investigaram o ataque de *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja, e avaliaram alguns parâmetros relacionados com o inseto nas fases de desenvolvimento de duas variedades, com seis e nove semanas de idade. Os resultados mostraram que o efeito das variedades de soja sobre as lagartas foi mais perceptível quando as lagartas foram alimentadas com folhas em plantas mais velhas. Esses autores sugerem que as variedades PI 229358 e ED 73-375, que foram altamente resistentes com nove semanas, podem ocasionalmente se comportar como plantas suscetíveis durante a fase inicial do seu desenvolvimento.

Em geral, os tecidos foliares mais jovens, e conseqüentemente menos lignificados, são mais preferidos por insetos-praga do que os tecidos foliares mais velhos. Os tecidos foliares mais jovens da soja, por exemplo, são atacados pela lagarta *H. zea* e pelo ácaro *T. urticae* com mais frequência do que os tecidos mais velhos (MCWILLIAMS; BELAND, 1976; RODRIGUEZ et al., 1983). As folhas mais próximas do ápice de plantas de uma determinada cultivar resistente de soja também foram mais preferidas por lagartas de *C. includens* (REYNOLDS; SMITH, 1985). Ao avaliarem a preferência para oviposição de *S. frugiperda* em algodoeiro, outra dicotiledônea, com diferentes idades em teste com chance de escolha, Boiça Júnior et al. (2013b) verificaram maior número de posturas em plantas com 60 dias em comparação com plantas com 30, 45, 75 e 90 dias.

Em várias espécies de gramíneas, em contrapartida, a resistência não se manifesta nas últimas fases do desenvolvimento vegetal. Assim, a resistência pode

ocorrer também na fase inicial do desenvolvimento fenológico para superar o desenvolvimento de artrópodes-pragas que sincronizam o seu desenvolvimento de modo a coincidir com a abundância de novos tecidos vegetais. Por exemplo, a resistência a injúrias provocadas por diversos lepidópteros em milho, incluindo *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Crambidae) (KUMAR; ASINO 1993), *H. zea* (WISEMAN; SNOOK, 1995), a broca-europeia-do-milho *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Lepidoptera: Crambidae) (KLUN; ROBINSON, 1969) e a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda* (VIDELA et al., 1992) é maior em plantas mais jovens.

Pelo fato de diversos fatores influenciarem a expressão de resistência nas plantas, as metodologias de pesquisa empregadas nos ensaios de resistência devem ser previamente avaliadas em função do inseto e da planta de interesse. Os resultados provenientes de ensaios que avaliem cuidadosamente tais fatores certamente contribuirão para a elaboração de protocolos específicos de avaliação da resistência de plantas em cada sistema inseto-planta hospedeira (SOUZA, 2014; BOIÇA JÚNIOR et al., 2015b). Portanto, espera-se que os resultados do presente estudo possam contribuir para o conhecimento das variações nos níveis das respostas de defesa das plantas de soja sob influência dos fatores investigados, auxiliando na padronização dos protocolos utilizados na seleção de genótipos com características de resistência a *S. cosmioides*.

3. Referências

AGRAWAL, A. A. Induced responses to herbivory and increased plant performance. **Science**, Washington, v. 279, n. 5354, p. 1201-1202, 1998.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; FORESTI, J.; RINGENBERG, R. Biologia e exigências térmicas de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 49-54, 2002.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; FORESTI, J.; RINGENBERG, R. Biologia comparada de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em cebola, mamona, soja e feijão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 6, p. 993-998, 2003.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; RINGENBERG, R.; FORESTI, J. Adequação de uma dieta artificial para a criação de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 155-161, 2004.

BECK, S. D. Resistance of plants to insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 10, p.107-232, 1965.

BELAND G. L.; HATCHETT, J. H. Expression of antibiosis to the bollworm in two soybean genotypes. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 69, p. 557-560, 1976.

BERGAMIN, M.; CANCIAN, M. A. E.; CASTRO, P. R. C. Soja (*Glycine max* (L.) Merrill). In: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. (Eds.). **Ecofisiologia de cultivos anuais: trigo, milho, soja, arroz, mandioca**. São Paulo: Nobel, 1999. p. 73-89.

BERNARDI, O.; SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; FOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania*, and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, Guildford, v. 58, p. 33-40, 2014.

BERTELS, A. Pragas de solanáceas cultivadas. **Agros**, Pelotas, v. 6, n. 4, p.154-160, 1953.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; BOTTEGA, D. B.; SOUZA, B. H. S.; RODRIGUES, N. E. L.; MICHELIN, V. Determinação dos tipos de resistência a *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 607-618, 2015a.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; CAMPOS, Z. R.; CAMPOS, A. R.; VALÉRIO FILHO, W. V.; CAMPOS, O. R. *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton: vertical distribution of egg masses, effects of adult density and plant age on oviposition behavior. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 80, n. 4, p. 424-429, 2013b.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; SOUZA, B. H. S.; COSTA, E. N.; RIBEIRO, Z. A.; STOUT, M. J. Factors influencing expression of antixenosis in soybean to *Anticarsia gemmatilis* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 108, n.1, p. 317-325, 2015b.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; SOUZA, B. H. S.; LOPES, G. S.; COSTA, E. N.; MORAES, R. F. O.; EDUARDO, W. I. Atualidades em resistência de plantas a insetos. In: BUSOLI,

A. C.; ALENCAR, J. R. D. C. C.; FRAGA, D. F.; SOUZA, L. A.; SOUZA, B. H. S.; GRIGOLLI, J. F. J. (Eds.). **Tópicos em entomologia agrícola – VI**. Jaboticabal: Multipress, 2013a. p. 207-224.

BONATO, E. R.; BONATO, A. L. V. **A soja no Brasil: história e estatística**. Londrina: Embrapa Soja, 1987. 61 p. (Documentos, 21).

BONETTI, L. P. Distribuição da soja no mundo. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). **A soja no Brasil**. Campinas: IAC, 1981. p. 1-65.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 5. ed. Viçosa: UFV, 2009. 529 p.

BUENO, A. F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BUENO, R. C. O. F. Controle de pragas apenas com o MIP. **A Granja**, Porto Alegre, v. 1, p. 76-79, 2010.

CARVALHO, R. A.; OMOTO, C.; FIELD, L. M.; WILLIAMSON, M. S.; BASS, C. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Plos One**, San Francisco, v.8, n. 4 e62268, 2013.

CHESNOKOV, P. G. **Methods of investigating plant resistance to pests**. Washington: National Science Foundation, 1953. 107 p.

COLEY, P. D.; BARONE, J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, California, v. 27, n. 1, p. 305-335, 1996.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, quinto levantamento, fevereiro/2016**. Brasília: Conab, 2016. 182 p.

COSTA, J. A. **Cultura da soja**. Porto Alegre: Editora Evangraf, 1996. 233 p.

CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) (2010) **Technical Opinion Nº2542/2010-Commercial Release of Genetically Modified Insect-resistant and Herbicide-tolerant Soy Containing Genetically Modified Events MON 87701 and MON 89788**. Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15558.html>. Acesso em: 15 fev. 2016.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 311-316, 2001.

EAST, D. A.; EDELSON, J. V.; COX, E. L.; HARRIS, M. K. Evaluation of screening methods and search for resistance in muskmelon, *Cucumis melo* L., to the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. **Crop Protection**, Guildford, v. 11, n. 1, p. 39-44, 1992.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja** – Paraná 2005. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 224 p.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja** – Região Central do Brasil 2004. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 237 p.

FARHA-REHMAN; KHAN, F. A.; ANIS, S. B.; BADRUDDIN, M. A.; Plant defenses against insect herbivory. In: CIANCIO, A.; MUKERJI, K. G. (Eds.). **Integrated management of arthropod pests and insect borne diseases**. New York: Springer, 2010. p. 189-205.

FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 9 p. (Circular Técnica 48).

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. D.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GAZZONI, D. L.; YORINORI, J. T. **Manual de identificação de pragas e doenças da soja**. Brasília: Embrapa – SPI, 1995. 128 p. (Manuais de pragas e doenças, I).

GREEN, M. B.; HEDIN, P. A. **Natural resistance of plants to pests**. Washington: American Chemical Society, 1986. 243 p.

HABIB, M. E. M.; PALEARI, L. M.; AMARAL, M. E. C. Effect of three larval diets on the development of the armyworm, *Spodoptera latifascia* Walker, 1856 (Noctuidae, Lepidoptera). **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 177-182, 1983.

HAMPSON, G. F. **Catalogue of the Lepidoptera Phalaenae in the British Museum**. London: Taylor and Francis, 1909. 583 p.

HARRIS, M. O. Biology and breeding for resistance to arthropods and pathogens in agricultural plants. **Texas Agricultural Experiment Station**, College Station, p.1451, 1980.

HEDIN, P. A. **Plant resistance to insects**. ACS Symposium Series 62. Washington: American Chemical Society, 1978. 286 p.

HUANG, S.; HAN, Z. Mechanisms for multiple resistances in field populations of common cutworm *Spodoptera litura* (Fabricius) in China. *Pestic Biochem Physiol*, New York, v. 87, p. 14–22, 2007.

HYMOWITZ, T; SINGH, R. J. Taxonomy and speciation. In: CALDWELL, B. E. (Ed.). **Soybeans: improvement, production and uses**. Madson: American Society of Agronomy, 1987. p. 23-48.

KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induced responses to herbivory**. Chicago: University of Chicago Press, 1997. 330 p.

KLAHOLD, C. A.; GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; KLAHOLD, A.; CONTIERO, R. L.; BECKER, A. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) a ação de bioestimulante. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 179-185, 2006.

KLUN, J. A.; ROBINSON, J. F. Concentration of two 1,4-benzoxazinones in dent corn at various stages of development of the plant and its relations to resistance of the host plant to the European corn borer. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 62, n. 1, p. 214–220, 1969.

KOGAN, M.; ORTMAN, E. E. Antixenosis-a new term proposed to replace Painter's "Nonpreference" modality of resistance. **Bulletin of the Entomological Society of America**, Washington, v. 24, n. 2, p. 175–176, 1978.

KUMAR, H.; ASINO, G. O. Resistance of maize to *Chilo partellus* (Lepidoptera, Pyralidae) - effect of plant phenology. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 86, p. 969-973, 1993.

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

LEAL, J. C. **Plantas da lavoura Sul Rio-grandense**. Porto Alegre: UFRGS, 1967. 274 p.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT: sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Brasília: MAPA, 2016. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 16 abr. 2016.

MATTSON, W. J., LEVIEUX, J. BERNARD-DAGAN, C. **Mechanisms of woody plant defenses against insects search for patterns**. New York: Springer, 1988. 416 p.

MAXWELL, F. G., JENNINGS, P. R. **Breeding plants resistant to insects**. New York: John Wiley, 1980. 683 p.

MAXWELL, F. G.; JENKINS, J. N.; PARROTT, W. L. Resistance of plants to insects. **Advances in Agronomy**, Newark, v. 24, p. 187–265, 1972.

MCWILLIAMS, J. M.; BELAND, G. L. Bollworm: effect of soybean leaf age and pod maturity on development in the laboratory. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 70, n. 2, p. 214–216, 1977.

MISSÃO, M. R. Soja: origem, classificação, utilização e uma visão abrangente do mercado. **Maringá Management: Revista de Ciências Empresariais**, Maringá, v. 3, n. 1, p. 7-15, 2006.

MORAIS, A. A.; BALDIN, J. P. Breeding for Resistance to Insect Pests. In: FRITSCHENETO, R.; BORÉM, A. (Eds.). **Plant breeding for biotic stress resistance**. New York: Springer, 2012. p. 103-121.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes praga**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 213-334.

MÜLLER, L. Taxonomia e morfologia. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). **A soja no Brasil**. Campinas: IAC, 1981. p. 73-104.

NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Estádios de desenvolvimento da cultura da soja. In: BONATO, E. R. (Ed.). **Estresses em soja**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. p. 21-44.

PAINTER, R. H. Crops that resist insects provide a way to increase world food supply. **Kansas Agricultural Experiment Station**, Manhattan, p. 1-22, 1968.

PAINTER, R. H. **Insect resistance in crop plants**. Lawrence: The University Press of Kansas, 1951. 520 p.

PAINTER, R. H. Resistance of plants to insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 3, p. 267-290, 1958.

PANDA, N. **Principles of host-plant resistance to insect pests**. New York: Allanheld, Osmun & Co. and Universe Books, 1979. 386 p.

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C.; Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes praga**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 213-334.

PIMENTEL-GOMES, F. **A soja**. 5. ed. São Paulo: Nobel, 1986. 152 p.

QUINTELA, E. D.; TEIXEIRA, S. M.; FERREIRA, S. B.; GUIMARÃES, W. F. F.; OLIVEIRA, L. F. C.; CZEPAK, C. **Desafios do manejo integrado de pragas de soja em grandes propriedades do Brasil Central**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2007. 6 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Comunicado Técnico, 149).

RAINA, A. K.; BENEPAL, P. S.; SHEIKH, A. Q. Effects of excised and intact leaf methods, leaf size, and plant age on Mexican bean beetle feeding. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 27, n. 3, p. 303-306, 1980.

REYNOLDS, G. W.; SMITH, C. M. Effects of leaf position, leaf wounding, and plant age of two soybean genotypes on soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) growth. **Environmental Entomology**, College Park, v. 14, n. 4, p. 475-478, 1985.

RODRIGUEZ, J. G.; REICOSKY, D. A.; PATTERSON, C. G. Soybean and mite interactions: Effects of cultivar and plant growth stage. **Journal of the Kansas Entomological Society**, Manhattan, v. 56, n. 3, p. 320-326, 1983.

ROSSETTO, C. J. **Resistência de plantas a insetos**. Piracicaba: ESALQ, 1973. 110 p.

RUSSELL, G. E. **Plant breeding for pest and disease resistance**. Boston: Butterworth Publishers, Inc., 1978. 485 p.

SALEEM, M.; HUSSAIN, D.; GHOUSE, G.; ABBAS, M.; FISHER, S. W. Monitoring of insecticide resistance in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of Punjab, Pakistan to conventional and new chemistry insecticides. *Crop Protection*, Guildford, v. 79, p. 177-184, 2016.

SANTOS, G. P.; COSENZA, G. W.; ALBINO, J. C. Biologia de *Spodoptera latifascia* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre folhas de eucalipto. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 153-155, 1980.

SANTOS, K. B.; MENEGUIM, A. M.; NEVES, P. M. O. J. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 903-910, 2005.

SANTOS, K. B.; NEVES, P. J.; MENEGUIM, A. M.; SANTOS, R. B.; SANTOS, W. J.; VILLAS BOAS, G.; DUMAS, V.; MARTINS, E.; PRAÇA, L. B.; QUEIROZ, P.; BERRY, C.; MONNERAT, R. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmiodes* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, Orlando, v. 50, n. 2, p. 157-163, 2009.

SCHALLER, A. **Induced plant resistance to herbivory**. Heidelberg: Springer, 2008. 450 p.

SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M. G.; SEDIYAMA, C. S.; GOMES, J. L. L. **Cultura da soja**. Parte t. 1. Viçosa: Imprensa Universitária/UFV, 1996. 96 p.

SILVA, A. G. A.; GONÇALVES, C. R.; GALVÃO, D. M.; GONÇALVES, A. J. L.; GOMES J.; SILVA, M. N.; SIMONI, L. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil**. Seus parasitos e predadores. Parte 2, Tomo 1º, insetos, hospedeiros e inimigos naturais. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1968. 622 p.

SILVA, D. M.; ZIMMERMANN, A. O.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F. Aspectos biológicos de *Spodoptera cosmioides* Walk. (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes plantas hospedeiras. In: SARAIVA, O. F.; MELO, P. G. S. (Eds.). JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 6. **Resumos expandidos...** Londrina: Embrapa Soja, 2011. p. 42-45. (Embrapa Soja. Documentos, 328).

SILVAIN, J. F.; LALANNE-CASSOU, B. Distinction entre *Spodoptera latifascia* (Walk.) et *Spodoptera cosmioides* (Walk.), bona species (Lepidoptera: Noctuidae). **Revue Française d'Entomologie**, Montreuil, v. 19, n. 6, p. 95-97, 1997.

SILVIE, P. J.; THOMAZONI, D.; SORIA, M. F.; SARAN, P. E.; BÉLOT, J. L. **Pragas e seus danos em algodoeiro**. Primavera do Leste: Instituto Mato-grossense do Algodão, 2013. 185 p.

SMITH, C. M. **Plant resistance to arthropods**: molecular and conventional approaches. Dordrecht: Springer, 2005. 423 p.

SMITH, C. M. Plant resistance to insects. In: RECHCIGL, J.; RECHCIGL, N. (Eds.). **Biological and biotechnological control of insects**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1999. p. 171-205.

SMITH, C. M.; KHAN, Z. R.; PATHAK, M. D. **Techniques for evaluating insect resistance in crop plants**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. 320 p.

SNELLING, R. O. Resistance of plants to insect attack. **Botanical Review**, Bronx, v. 7, p. 543–586, 1941.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; GAZZONI, D. L.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Pragas da soja e seu controle. In: ARANTES, N.P.; SOUZA, P. I. M. (Eds.). **Cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba: Potafós, 1993. p. 299-331.

SOUZA, B. H. S. **Fatores e mecanismos que influenciam a resistência em soja a *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**. 2014. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de Concentração: Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.

SPECHT, A.; CORSEUIL, E. Lista documentada dos noctuídeos (Lepidoptera: Noctuidae) ocorrentes no Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 131-170, 1996.

STONER, K. A. Plant resistance to insects: a resource available for sustainable agriculture. **Biological Agriculture and Horticulture**, Berkhamsted, v. 13, n. 1, p. 7–38, 1996.

SU, J.; SUN, X. X. High level of metaflumizone resistance and multiple insecticide resistance in field populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) in Guangdong Province, China. **Crop Protection**, Guildford, v. 61, p. 58-63, 2014.

VIDELA, G. W.; F. DAVIS, M.; WILLIAMS, W. P.; NG, S. S. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larval growth and survivorship on susceptible and resistant corn at different vegetative growth stages. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 85, p. 2486-2491, 1992.

WISEMAN, B. R.; SNOOK, M. E. Effect of corn silk age on flavone content and development of corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 88, p. 1795-1800, 1995.

YORINORI, J. T. **Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle**. Londrina: Embrapa Soja, 1995. p. 75. (Circular Técnica, 14).

ZENKER, M. M.; SPECHT, A.; CORSEUIL, E. Estágios imaturos de *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 99-107, 2007.

CAPÍTULO 2 – FATORES INTRÍNSECOS ÀS PLANTAS DE SOJA QUE INFLUENCIAM A EXPRESSÃO DE RESISTÊNCIA CONSTITUTIVA A *Spodoptera cosmioides* (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO – A lagarta-das-vagens *Spodoptera cosmioides* tem assumido grande importância na cultura da soja, uma vez que os principais métodos de controle mostram-se ineficientes à praga. Portanto, a avaliação de métodos de controle alternativos como a resistência de plantas torna-se fundamental para o manejo de *S. cosmioides*. Diversas variações em fatores intrínsecos às plantas, podem afetar a expressão da resistência ao ataque de insetos e outros artrópodes. Desse modo, para a realização de testes visando à seleção de genótipos resistentes a um determinado inseto, trabalhos prévios são imprescindíveis para a determinação metodologias que sejam mais precisas em demonstrar variações nos níveis de resistência entre genótipos. Assim, este trabalho comparou os efeitos do substrato de alimentação, disco foliar versus folíolo inteiro; posição foliar/idade foliar, folha nova da parte superior versus folha velha da parte inferior das plantas; e estrutura vegetal, folha versus vagem, na expressão de antixenose em testes com e sem chance de escolha; e os efeitos de antibiose em lagartas de *S. cosmioides* pela alimentação individual ou mista com folhas e vagens em teste sem chance de escolha. Nos experimentos foram utilizados os genótipos previamente selecionados como resistente e suscetível a *S. cosmioides* PI 227682 e Pioneer 98Y11RR, respectivamente. O substrato alimentar, posição foliar na planta, e estrutura vegetal afetaram significativamente a expressão de antixenose a *S. cosmioides*, sendo o uso de folíolo inteiro da parte inferior das plantas a metodologia mais adequada para melhor distinção dos níveis de antixenose. A alimentação das lagartas nos tratamentos que continham folhas proporcionou os melhores parâmetros larvais em *S. cosmioides*, e seu uso se mostra mais adequado para demonstrar a expressão de antibiose. Este estudo ressalta a importância da determinação de metodologias em estudos em resistência de plantas antes de qualquer seleção de genótipos, uma vez que diversos fatores podem afetar a expressão da resistência. Além disso, o conhecimento sobre a posição foliar/idade foliar e estrutura mais preferidas e adequadas a *S. cosmioides* fornece suporte para uso em estratégias de manejo da praga em campo.

Palavras-chave: *Glycine max*, lagarta-das-vagens, preferência alimentar, resistência de plantas, antixenose, antibiose

CHAPTER 2 – FACTORS INHERENT TO SOYBEAN PLANTS INFLUENCING THE EXPRESSION OF CONSTITUTIVE RESISTANCE TO *Spodoptera cosmioides* (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT – The soybean pods armyworm *Spodoptera cosmioides* has assumed great importance in soybeans since the main control methods have proven inefficient for this species. Therefore, the evaluation of alternative control methods such as Host Plant Resistance is essential for management of this pest. Several variations on factors inherent to plants may affect the expression of resistance to insects and other arthropods. Therefore, for carrying out tests to select genotypes resistant to an insect particular, previous studies are essential to determine methodologies that are more accurate in showing changes in resistance levels between genotypes. Thus, this study compared the effects of food substrate (leaf disc versus entire leaflet), leaf position/leaf age (younger leaf from the upper part versus older leaf from the lower part of plants), and plant structure (leaf versus pod) on the expression of antixenosis in free-choice and no-choice assays; and the effects of antibiosis through feeding with single and mixed diets with leaves and pods in no-choice assays. In all assays we used the selected *S. cosmioides* resistant and susceptible genotypes PI 227682 and Pioneer 98Y11 RR, respectively. Food substrate, leaf position/leaf age, and plant structure affected significantly the expression of antixenosis, being the use of older leaves from the lower part of plants the methodology more adequate for discriminating the levels of antixenosis. Feeding of larvae on leaf-containing treatments yielded the best larval parameters in *S. cosmioides*, and their use is more adequate for demonstrating expression of antibiosis. Our study stresses the importance in determining optimal methodologies in Host Plant Resistance before conduction of any genotype-screening assay since several factors can influence expression of resistance. In addition, the knowledge about *S. cosmioides* most preferred and suitable leaf position/leaf age and plant structure can help in the use of strategies for managing the pest in the field.

Keywords: *Glycine max*, soybean pods armyworm, feeding preference, host plant resistance, antixenosis, antibiosis

1. Introdução

A lagarta-das-vagens *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1958) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie amplamente distribuída na América do Sul, com exceção de algumas regiões como o sul da Argentina, Chile e regiões no Peru situadas a oeste dos Andes. Devido às semelhanças interespecíficas do gênero *Spodoptera* e à grande variabilidade intraespecífica, *S. cosmioides* foi considerada por muito tempo sinonímia de *Spodoptera latifascia* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae), espécie restrita às Américas do Norte e Central (SILVAIN; LALANNE-CASSOU, 1997).

As lagartas de *S. cosmioides* são polífagas e alimentam-se de grande número de espécies de plantas cultivadas (BERTELS, 1953; SILVA et al., 1968; SANTOS et al., 1980; BAVARESCO et al., 2004) como soja e algodão (HABIB et al., 1983; MIRANDA, 2010; MOSCARDI, 2012). No Brasil, *S. cosmioides* assume grande importância na cultura da soja, visto que, além de consumir folhas e vagens, a lagarta se destaca pela alta voracidade na fase larval (BUENO et al., 2011) em relação às lagartas de outras espécies de lepidópteros de importância econômica para a cultura (MOSCARDI et al., 2012).

Entre os métodos de controle de lepidópteros pragas da cultura da soja estão as plantas geneticamente modificadas e a aplicação de inseticidas. O uso de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas Cry da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner tem sido amplamente adotado em diversos países (JAMES, 2014) devido à alta eficiência no controle de espécies-praga e facilidade no cultivo (LU et al., 2012). Diversos estudos associando o cultivo de plantas Bt às reduções no uso de inseticidas são relatados (QAIM, 2009; HUANG et al., 2010; KOUSER; QAIM, 2011), favorecendo indiretamente o controle biológico natural (SISTERSON et al., 2007).

Todavia, reduções nas competições interespecíficas e no uso de inseticidas têm favorecido a ocorrência de pragas secundárias não alvos da tecnologia Bt (ZHAO et al., 2011), como *S. cosmioides*, que apresenta baixa suscetibilidade à proteína Cry1Ac (BERNARDI et al., 2014) expressa na cultivar transgênica de soja (evento MON87701 X MON89788) (CTNBIO, 2010) largamente cultivada no Brasil.

Dessa forma, o controle de *S. cosmioides* na cultura da soja tem sido realizado principalmente através de aplicações com inseticidas sintéticos; no entanto, a baixa

eficácia do controle químico para espécies do gênero *Spodoptera* é comum devido à alta resistência natural aos inseticidas (DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001; HUANG; HAN, 2007; CARVALHO et al., 2013; SU; SUN, 2014; SALEEM et al., 2016). Além disso, o número reduzido de inseticidas registrados na cultura da soja para o controle de *S. cosmioides* (MAPA, 2016), aponta para o potencial desenvolvimento de indivíduos resistentes em campo a estas moléculas químicas. Diante disso, *S. cosmioides* encontra condições ideais para desenvolverem em lavouras de soja, assumindo grande potencial em causar prejuízos à cultura, o que pode resultar em perdas consideráveis na produção de grãos (MOSCARDI et al., 2012).

A resistência de plantas é uma importante tática de controle em programas de manejo integrado de pragas (STOUT, 2013), e pode contribuir para que as densidades populacionais de *S. cosmioides* atinjam níveis abaixo do nível de dano econômico. Além desse benefício, o uso de cultivares resistentes em geral podem proporcionar efeitos cumulativos e persistentes no ambiente, causar pouco ou nenhum impacto negativo no agroecossistema, não gerar aumento no custo de produção relacionado ao controle da praga, e permitir sua integração harmoniosa com outros métodos de controle (SMITH, 2005; BOIÇA JÚNIOR et al., 2013). Após experimentos de seleção, uma cultivar convencional comercial e duas linhagens de soja foram caracterizadas com altos níveis de resistência por antibiose a *S. cosmioides* (BOIÇA JÚNIOR, 2015a), e podem constituir ótimas fontes de resistência para uso em programas de melhoramento genético.

Para a realização de testes visando à seleção de genótipos resistentes a um determinado inseto, trabalhos prévios devem ser conduzidos a fim de se determinar metodologias específicas que sejam as mais acuradas e rápidas em demonstrar variações nos níveis de resistência entre genótipos. A comparação criteriosa entre metodologias por meio da investigação de diferentes formas de oferecimento do alimento aos insetos, folhas de diversos estratos da planta, estruturas vegetais, e idade da planta é fundamental em trabalhos de resistência de plantas a insetos, pois diversos fatores bióticos e abióticos podem influenciar a expressão de características de resistência (SMITH, 2005; MORAIS; BALDIN, 2012).

Diferentes espécies de insetos fitófagos apresentam peculiaridades em sua preferência alimentar e desenvolvimento mesmo em uma dada espécie vegetal (BOIÇA JÚNIOR et al., 2015b), e a utilização de uma metodologia padrão para diversos insetos pode gerar resultados pouco satisfatórios. Além disso, o

conhecimento sobre a variação de tais fatores na expressão da resistência em genótipos de soja pode fornecer subsídios para auxiliar no manejo da praga em situações de campo.

Desse modo, este trabalho avaliou a influência de alguns fatores intrínsecos às plantas de soja que podem modificar a expressão de resistência constitutiva por não preferência alimentar e antibiose a *S. cosmioides*. Especificamente, foram comparados os efeitos do substrato de alimentação (disco foliar versus folíolo inteiro); posição foliar/idade foliar (folha mais nova da parte superior versus folha mais velha da parte inferior das plantas); estrutura vegetal (folha versus vagem) na expressão de antixenose em testes com e sem chance de escolha; e os efeitos de antibiose pela alimentação individual ou mista com folhas e vagens em teste sem chance de escolha.

2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP. Todos os experimentos foram conduzidos em sala climatizada com temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotoperíodo de 12C:12E h.

Os genótipos de soja utilizados foram PI 227682 e Pionner 98Y11 RR, os quais foram previamente avaliados e classificados como resistente e suscetível a *S. cosmioides*, respectivamente (BOIÇA JÚNIOR et al., 2015a). A semeadura dos genótipos foi realizada em vasos de polietileno de 5 L de volume contendo substrato à base de solo (Latosolo vermelho distrófico) (ANDRIOLI; CENTURION, 1999), areia e composto orgânico, na proporção de 2:1:1. Os vasos com as plantas de soja foram mantidos em casa de vegetação vedada com tela antiafídeo até sua utilização nos experimentos. A irrigação foi realizada de acordo com as necessidades hídricas da planta.

Os indivíduos de *S. cosmioides* utilizados nos experimentos foram provenientes de uma colônia de laboratório, iniciada a partir de ovos provenientes de uma linhagem mantida em dieta artificial do Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP, Piracicaba, SP. Os insetos foram mantidos e criados em sala climatizada com temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotoperíodo de 12C:12E h.

Para os experimentos, lagartas a partir da 4^o geração foram obtidas de colônias criadas em laboratório com dieta artificial elaborada segundo a metodologia de Greene, Leppla e Dickerson (1976). Indivíduos coletados em campo, foram adicionados anualmente à colônia para preservação da variabilidade genética.

2.1. Influência de fatores intrínsecos às plantas de soja na expressão de antixenose às lagartas de *Spodoptera cosmioides*

Para avaliar a influência de alguns fatores relacionados às plantas de soja, na expressão de antixenose às lagartas de *S. cosmioides*, testes de preferência alimentar com e sem chance de escolha foram realizados em condições controladas de laboratório. Os genótipos PI 227682 e Pionner 98Y11 RR foram utilizados como padrões de resistência e suscetibilidade a *S. cosmioides*, respectivamente (BOIÇA JÚNIOR et al., 2015a).

Os fatores influentes na expressão da resistência foram testados em uma determinada ordem cronológica, de modo que o fator que proporcionou a melhor diferenciação nos níveis de antixenose entre os genótipos manteve-se no experimento subsequente. Os experimentos avaliaram, na seguinte ordem, três fatores que potencialmente influenciam os resultados de preferência alimentar: (1) disco foliar versus folíolo inteiro; (2) folhas retiradas da parte superior das plantas versus parte inferior e (3) folha versus vagem. Em ambos os experimentos, a menos que especificado, folhas da parte mediana (3^o e 4^o trifólios a partir do ápice) das plantas de soja em estágio R1-R2 (FHER; CAVINESS, 1977) foram utilizadas nos testes de preferência alimentar.

Em todas as etapas do experimento, descritas a seguir, as estruturas vegetais utilizadas foram coletadas das plantas de soja cultivadas em casa de vegetação. Após coleta, as estruturas vegetais foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 0,05% por dois minutos, enxaguadas em água corrente, e em seguida secas em papel toalha à temperatura ambiente.

Em todos os experimentos de preferência alimentar, para os testes com chance de escolha, os tratamentos foram distribuídos em placas de Petri de 14 cm de diâmetro forradas com papel filtro umedecido com água deionizada. Uma lagarta de terceiro instar de *S. cosmioides* por tratamento foi liberada no centro da placa de Petri com o

auxílio de um pincel fino, e a escolha das lagartas entre os fatores sob investigação dos genótipos foi avaliada após 1, 3, 6, 12 e 24 horas de sua liberação nas placas no primeiro e segundo experimentos; e 1, 3, 6, 12, 24, e 36 horas no terceiro experimento. Ao final de cada experimento, após 24 horas ou quando cerca de 75% de área foliar de um dos tratamentos foram consumidos, a área foliar consumida pelas lagartas foi avaliada com o auxílio de um aparelho medidor de área foliar eletrônico (LI-COR, modelo 3100A®, Lincoln, NE, EUA). Para o teste sem chance de escolha, em todos os experimentos os tratamentos foram individualizados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo papel filtro umedecido com água deionizada. Em seguida, uma lagarta de terceiro ínstar foi liberada por placa. As avaliações de preferência larval e área foliar consumida foram semelhantes às aquelas realizadas nos experimentos anteriores. Em ambos os testes de preferência alimentar, o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 (cultivar x fatores sob investigação), com 10 repetições, sendo cada unidade experimental constituída por uma placa de Petri.

2.1.1. Experimento 1: Preferência alimentar entre folíolo inteiro versus disco foliar de genótipos de soja

O primeiro experimento avaliou a preferência alimentar de lagartas de *S. cosmioides* utilizando-se um folíolo inteiro e um disco foliar de 2,5 cm de diâmetro, cortado por meio de um vazador, para cada genótipo de soja. Portanto, no teste com chance de escolha foi utilizada 1 lagarta por tratamento (4 lagartas por placa), e uma lagarta por tratamento (placa) no teste sem chance de escolha.

2.1.2. Experimento 2: Preferência alimentar entre folhas da parte superior versus folhas da parte inferior de genótipos de soja

A partir dos resultados encontrados no experimento anterior, todos os experimentos subsequentes utilizaram folíolos inteiros. No segundo experimento, folíolos inteiros foram coletados da parte superior (folhas mais novas) e parte inferior (folhas mais velhas) de plantas dos genótipos resistente e suscetível de soja. As folhas da parte superior foram coletadas do 1º e 2º trifólios a partir do ápice das plantas,

enquanto as folhas mais velhas foram coletadas do 5^o e 6^o trifólios de plantas em estágio R1-R2 (FHER; CAVINESS, 1977). Portanto, no teste com chance foi utilizada 1 lagarta por tratamento (4 lagartas por placa/repetição), e uma lagarta por tratamento (placa/repetição) no teste sem chance de escolha.

2.1.3. Experimento 3: Preferência alimentar entre folha versus vagens novas versus vagens velhas

As partes das plantas de soja utilizadas nesse experimento foram folíolos inteiros coletados de folhas mais velhas (determinado a partir dos resultados dos experimentos anteriores), vagens em desenvolvimento (vagem mais nova) de genótipos no estágio fenológico R4 e completamente desenvolvidas (vagem mais velha) no estágio fenológico R6 (FHER; CAVINESS, 1977). Portanto, no teste com chance de escolha foi utilizada uma lagarta por tratamento (6 lagartas por placa/repetição), e uma lagarta por tratamento (placa/repetição) no teste sem chance de escolha.

2.2. Experimento 4: Influência de fatores intrínsecos às plantas de soja na expressão da antibiose em lagartas de *Spodoptera cosmioides*

Para avaliar a influência de alguns fatores relacionados à resistência de plantas de soja no desenvolvimento larval de *S. cosmioides*, foram utilizados folíolos inteiros coletados da parte inferior (folhas mais velhas), e vagens em desenvolvimento dos genótipos PI 227682 e Pionner 98Y11 RR, determinados a partir dos experimentos de preferência alimentar conduzidos anteriormente. Os experimentos foram conduzidos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo papel filtro umedecido com água deionizada. O desenvolvimento larval de *S. cosmioides* foi avaliado nos seguintes tratamentos: (1) folíolo; (2) vagem; (3) folíolo + vagem; e (4) folíolo até o 4^o instar larval seguido de vagem a partir do 4^o instar até a pupação (folíolo/vagem). O tratamento 4 (folíolo/vagem) foi determinado de acordo com observações a campo relacionadas ao comportamento desta espécie, uma vez que ela é comumente encontrada consumindo vagens principalmente nos últimos instares larvais.

Para cada tratamento, utilizou-se uma lagarta recém-eclodida de *S. cosmioides* por placa, e o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4 (genótipos x estruturas), com 30 repetições. As estruturas vegetativas e reprodutivas foram higienizadas conforme descrito anteriormente, e oferecidas “ad libitum” durante todo o período larval de *S. cosmioides*. A retirada dos excrementos das lagartas do interior das placas foi feita sempre que necessário, assim como a umectação ou troca do papel filtro das placas. Lagartas com 12 dias de idade foram pesadas em uma balança analítica de precisão (0,0001 g) (Modelo Adventurer AR2140, 2013, Ohaus Corporation, Florham, Park, NJ, EUA). Quando os insetos atingiram a fase de pupa, o oferecimento do alimento foi interrompido. Ao final do experimento foram registrados os dados de duração da fase larval, sobrevivência larval e peso larval de *S. cosmioides*.

2.3. Análise estatística

Os dados de preferência alimentar e desenvolvimento biológico foram submetidos à análise exploratória para identificar possíveis valores outliers ou influentes, e analisados quanto à normalidade dos resíduos pelos testes de Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk e Cramer Von Misses ($\alpha = 0,05$) e homogeneidade das variâncias pelos testes de Bartlett e Levene ($\alpha = 0,05$) através do software SAS 9.4 (Sas Institute, 2013). Quando necessário, os dados foram transformados em $\log(x)$ ou $(x)^{-1/2}$ para atender aos pressupostos da análise de variância (ANOVA). Em seguida, os dados foram submetidos à ANOVA fatorial (two-way ANOVA) para analisar os efeitos principais dos fatores avaliados em cada experimento. Quando significativo, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

3. Resultados

3.1. Experimento 1: Preferência alimentar entre folíolo inteiro versus disco foliar de genótipos de soja

Diferenças significativas foram observadas para os efeitos de genótipo (3h, $F_{1,36} = 10,71$, $P = 0,0024$), substrato alimentar [1h ($F_{1,36} = 21,48$, $P < 0,0001$); 3h ($F_{1,36} = 44,01$, $P < 0,0001$); 12h ($F_{1,36} = 19,13$, $P < 0,0001$); 24h ($F_{1,36} = 6,08$, $P = 0,0186$);] e para a interação desses fatores (3h, $F_{1,36} = 6,45$, $P = 0,0156$;) na preferência larval de *S. cosmioides* no teste com chance de escolha na avaliação entre disco foliar versus folíolo inteiro (Tabela 1). No entanto, no teste sem chance de escolha não houve diferenças significativas para genótipo, substrato, ou interação entre os fatores (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados da ANOVA para os efeitos de genótipo (G) e substrato (S) na preferência alimentar de lagartas de *Spodoptera cosmioides* entre discos foliares e folíolos inteiros de plantas de soja em testes com e sem chance de escolha.

Fontes de variação	1h		3h		6h		12h		24h	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Com chance de escolha										
G	0,03	0,8672	10,71**	0,0024	0,20	0,6582	0,43	0,5172	3,20	0,0822
S	21,48***	<0,0001	44,01***	<0,0001	1,73	0,1964	19,13***	0,0001	6,08*	0,0186
G x S	3,60	0,0660	6,45*	0,0156	0,06	0,8038	0,43	0,5172	0,39	0,5338
Sem chance de escolha										
G	0,16	0,6882	0,00	1,0000	3,46	0,0710	1,21	0,2788	0,87	0,3569
S	0,47	0,2328	0,72	0,4018	1,25	0,2717	0,13	0,7161	0,87	0,3569
G x S	0,16	0,6882	0,00	1,0000	3,46	0,0710	0,13	0,7161	0,10	0,7575

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,0001$.

No teste com chance de escolha, houve diferença significativa entre os genótipos resistente e suscetível apenas 3 horas após o início dos experimentos. Em relação aos substratos, diferenças foram observadas após 1, 3, 12 e 24 horas após a liberação das lagartas. A interação entre genótipo e substrato alimentar foi significativa 3 horas do início do experimento (Figura 1), de modo que maior número de lagartas foi observado nos folíolos inteiros de plantas dos genótipos resistente e suscetível em

relação aos discos foliares, porém, mais lagartas foram encontradas se alimentando nos folíolos do genótipo suscetível em relação aos folíolos do genótipo resistente.

Em relação à área foliar consumida, no teste com chance de escolha houve diferença significativa entre genótipos ($F_{1,36} = 7,21$; $P = 0,0109$) e substratos alimentares ($F_{1,36} = 34,52$; $P < 0,0001$) (Tabela 2). Houve ainda efeito significativo da interação genótipo x substrato ($F_{1,36} = 10,66$; $P = 0,0024$) no consumo foliar. O genótipo suscetível foi significativamente mais consumido quando as lagartas foram alimentadas com folíolos inteiros do que discos foliares (Figura 1). Além disso, os folíolos das plantas suscetíveis foram cerca de duas vezes mais consumidos que os folíolos das plantas resistentes.

O genótipo resistente não apresentou diferenças na área foliar consumida entre disco foliar e folíolo inteiro. Além disso, as lagartas consumiram a mesma quantidade em área foliar dos genótipos suscetível e resistente quando oferecido disco foliar como alimento (Figura 1).

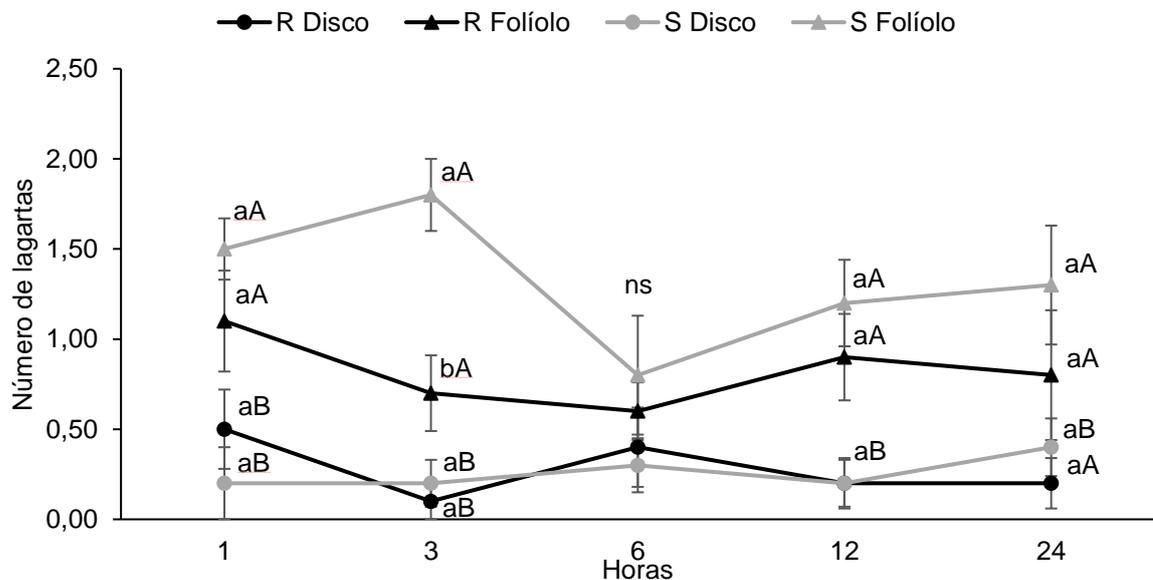


Figura 1. Número médio (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* em discos foliares e folíolos de genótipos resistente e suscetível de soja em teste com chance de escolha. R Disco: disco foliar do genótipo resistente; R Folíolo: folíolo do genótipo resistente; S Disco: disco foliar do genótipo suscetível; S Folíolo: folíolo do genótipo suscetível. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre genótipos e diferentes letras maiúsculas entre substratos alimentares em cada tempo de avaliação. ^{ns} não significativo.

A área foliar consumida no teste sem chance de escolha diferiu entre os genótipos ($F_{1,36} = 35,88$; $P = 0,0001$), enquanto entre substratos alimentares não foi observada diferença significativa ($F_{1,36} = 0,96$; $P = 0,3329$) (Tabela 2). A interação entre os fatores genótipo e substrato não foi significativa ($F_{1,36} = 2,26$; $P < 0,1414$). Para o genótipo suscetível, tanto o disco foliar como o folíolo proporcionaram maior consumo foliar em relação ao genótipo resistente, não havendo diferenças entre os substratos para esse genótipo.

Em geral, o uso de folíolos inteiros permitiu melhor diferenciação entre os genótipos resistente e suscetível para a preferência larval e consumo foliar de *S. cosmioides* nos testes com e sem chance de escolha. Portanto, o substrato folíolo inteiro foi utilizado nos experimentos subsequentes desse estudo.

Tabela 2. Área foliar consumida (cm², ± EP) por lagartas de *Spodoptera cosmioides* em discos foliares e folíolos inteiros de genótipos de soja, em testes com e sem chance de escolha.

Genótipos (G)	Substratos (S)		Média
	Disco foliar	Folíolo inteiro	
Com chance de escolha			
Resistente	1,47 ± 0,25 aA	2,23 ± 0,30 bA	1,85 ± 0,21 b
Suscetível	1,29 ± 0,19 aB	5,20 ± 0,76 aA	3,24 ± 0,59 a
Média	1,38 ± 0,15 B	3,71 ± 0,52 A	
G	$F = 7,21$	$P = 0,0109$	*
S	$F = 34,52$	$P < 0,0001$	***
G x S	$F = 10,66$	$P = 0,0024$	**
Sem chance de escolha			
Resistente	0,29±0,07 bA	0,16±0,02 bA	0,23±0,04 b
Suscetível	0,54±0,07 aA	0,57±0,04 aA	0,55±0,04 a
Média	0,42±0,05 A	0,36±0,05 A	
G	$F = 35,88$	$P < 0,0001$	***
S	$F = 0,96$	$P = 0,3329$	ns
G x S	$F = 2,26$	$P = 0,1414$	ns

Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na coluna ou maiúsculas na linha diferem significativamente pelo teste de Tukey. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$. ns não significativo.

3.2. Experimento 2: Preferência alimentar entre folhas da parte superior versus folhas da parte inferior de genótipos de soja

No experimento 2, que utilizou folíolos coletados das partes superior e inferior das plantas de soja (Tabela 3), diferenças significativas foram observadas para a preferência de lagartas de *S. cosmioides* entre os genótipos nos testes com e sem chance de escolha, havendo interações significativas de genótipos x partes da planta para alguns parâmetros. Diferenças significativas para a preferência larval entre as partes superior e inferior das plantas de soja foram observadas no teste sem chance de escolha. Além disso, a área foliar consumida diferiu entre os genótipos nos testes com e sem chance (Tabela 4), assim como as partes da planta e a interação entre os fatores diferiram no teste sem chance de escolha.

Tabela 3. Resultados da ANOVA para os efeitos de genótipo (G) e substrato (S) na preferência alimentar de lagartas *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros da parte superior e parte inferior das plantas de soja em testes com e sem chance de escolha.

Fontes de variação	1h		3h		6h		12h		24h	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Com chance de escolha										
G	1,53	0,2240	12,90 ^{**}	0,0010	13,33 ^{***}	0,0008	25,98 ^{***}	<0,0001	29,56 ^{***}	0,0001
S	1,53	0,2240	0,64	0,4300	0,00	1,0000	2,40	0,1299	2,14	0,1525
G x P	0,06	0,8060	0,64	0,4300	0,13	0,7171	0,02	0,8757	6,92 [*]	0,0125
Sem chance de escolha										
G	1,11	0,2992	3,13	0,0800	13,50 ^{**}	0,0008	2,25	0,1423	15,52 ^{**}	0,0004
S	6,04 [*]	0,0189	0,78	0,3800	13,50 ^{***}	0,0008	2,25	0,1423	0,62	0,4359
G x P	0,12	0,7275	0,00	1,0000	13,50 ^{**}	0,0008	2,25	0,1423	0,00	1,0000

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

No teste com chance de escolha (Figura 2a), foram verificadas diferenças significativas entre genótipos às 3 ($F_{1,36} = 12,90$; $P = 0,0010$), 6 ($F_{1,36} = 13,33$; $P = 0,0008$), 12 ($F_{1,36} = 25,98$; $P < 0,0001$) e 24 horas ($F_{1,36} = 29,56$; $P < 0,0001$) após o início do experimento.

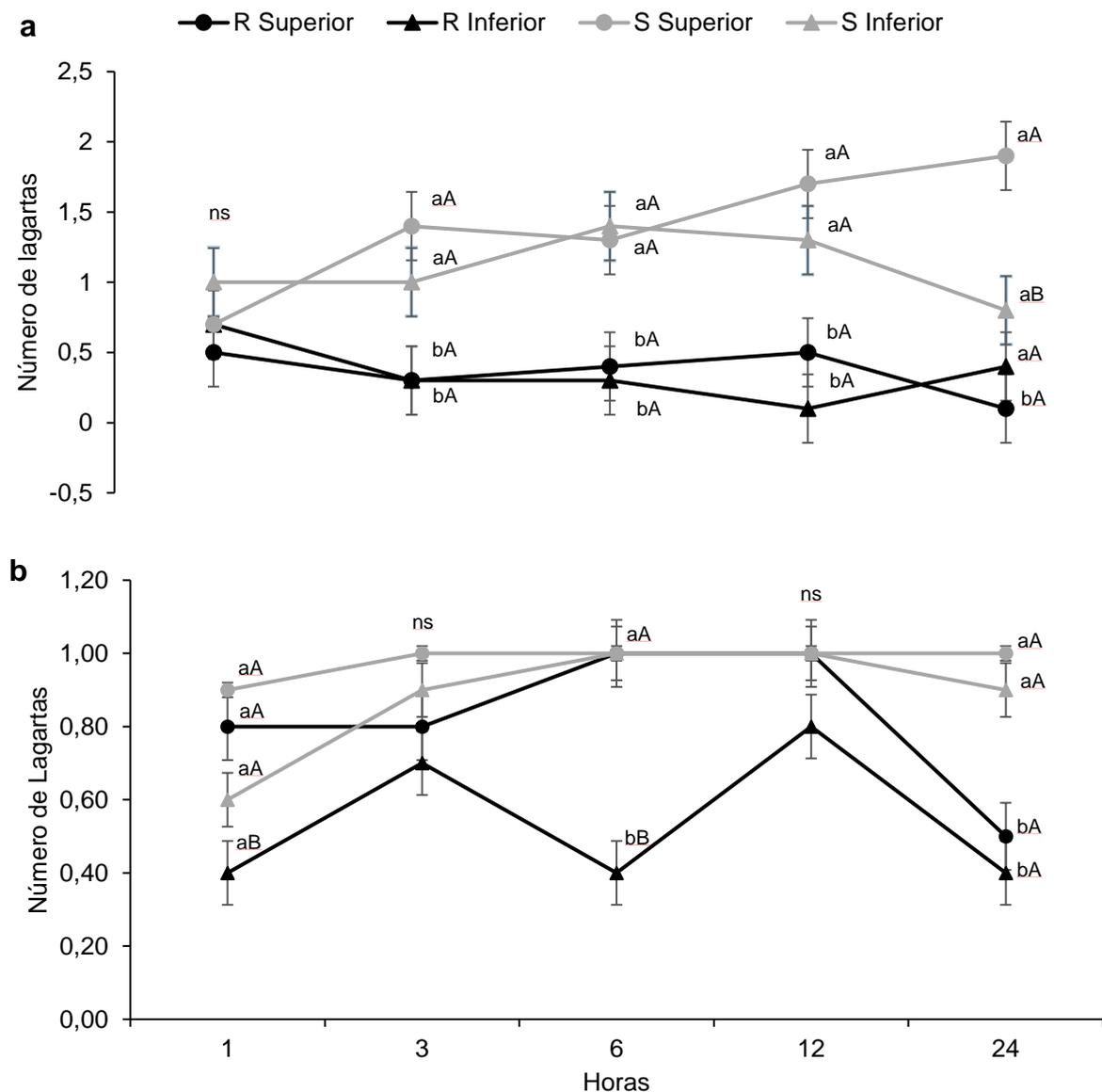


Figura 2. Número médio (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* em folíolos da parte superior e inferior de genótipos resistente e suscetível de soja em testes com chance (a) e sem chance (b) de escolha. R Superior: folíolo da parte superior do genótipo resistente; R Inferior: folíolo da parte inferior do genótipo resistente; S Superior: folíolo da parte superior do genótipo suscetível; S Inferior: folíolo da parte inferior do genótipo suscetível. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre genótipos e diferentes letras maiúsculas entre estruturas vegetais em cada tempo de avaliação. ns não significativo.

Houve interação significativa (Figura 2a) entre os fatores genótipo e parte da planta no tempo de 24 horas ($F_{1,36} = 6,92$; $P = 0,0125$), de modo que maior preferência larval de *S. cosmioides* ocorreu nos folíolos coletados da parte superior de plantas do genótipo suscetível em relação aos folíolos da parte superior do genótipo resistente. Por outro lado, a preferência larval por folíolos coletados da parte inferior foi igual entre os genótipos após 24 horas. Além disso, os folíolos da parte superior do genótipo suscetível foram mais preferidos que os folíolos da parte inferior das plantas de soja.

Para o teste sem chance de escolha (Figura 2b), foram observadas diferenças significativas entre os genótipos para a preferência das lagartas de *S. cosmioides* após 6 ($F_{1,36} = 13,50$; $P = 0,0008$) e 24 horas ($F_{1,36} = 15,52$; $P < 0,0004$), sendo os folíolos do genótipo suscetível mais preferidos às lagartas do que os folíolos do genótipo resistente. Observou-se diferença significativa entre as partes da planta (folíolo superior x folíolo inferior) após 1 ($F_{1,36} = 6,04$; $P = 0,0189$) e 6 horas ($F_{1,36} = 13,50$; $P = 0,0008$) quando, sendo o genótipo suscetível mais preferido que o genótipo resistente.

Houve efeito significativo da interação genótipo x parte da planta após 6 horas ($F_{1,36} = 13,50$; $P = 0,0008$) do início do experimento (Figura 2b). O folíolo da parte inferior do genótipo resistente foi significativamente menos preferido que o folíolo da parte inferior do genótipo suscetível, e enquanto o folíolo da parte superior não diferiu entre os genótipos de soja.

Em relação ao consumo foliar (Tabela 4), houve diferença significativa entre os genótipos ($F_{1,36} = 7,97$; $P = 0,0077$) no teste com chance de escolha no experimento 2. Por outro lado, não houve diferenças significativas entre os folíolos da parte superior e os folíolos da parte inferior ($F_{1,36} = 4,87$; $P = 0,0388$). Os efeitos de genótipo e partes da planta não foram significativamente dependentes no teste com chance de escolha ($F_{1,36} = 1,66$; $P = 0,2062$).

No teste sem chance de escolha (Tabela 4), houve diferença significativa entre as partes da planta ($F_{1,36} = 12,23$; $P = 0,0013$), e os efeitos desses fatores no consumo foliar de *S. cosmioides* foram dependentes ($F_{1,36} = 15,70$; $P = 0,0003$). Não foram observadas diferenças na área foliar consumida entre genótipos quando as folhas foram provenientes da parte superior das plantas, enquanto o genótipo resistente foi cinco vezes menos consumido que o genótipo suscetível com folhas da parte inferior das plantas. Pelo fato de os folíolos da parte inferior das plantas terem proporcionado melhor distinção entre os níveis de resistência em genótipos resistente e suscetível

de soja à alimentação de *S. cosmioides*, o uso de folíolos da parte inferior foi mantido nos experimentos seguintes.

Tabela 4. Área foliar consumida (cm², ± EP) em folíolos genótipos (G) de soja por *Spodoptera cosmioides*, utilizando-se folhas (F) da parte superior ou inferior da planta, em testes com e sem chance de escolha.

Genótipos (G)	Partes de planta (P)		Média
	Parte superior	Parte inferior	
Com chance de escolha			
Resistente	1,89±0,51aA	0,44±0,12aB	1,17±0,30b
Suscetível	2,69±0,71aA	2,23±0,55bA	2,46±0,44a
Média	2,29±0,46 A	1,34±0,34 B	-
G	$F = 7,97$	$P = 0,0077$	**
P	$F = 4,87$	$P = 0,0388$	*
G x P	$F = 1,66$	$P = 0,2062$	ns
Sem chance de escolha			
Resistente	2,31±0,30aA	0,72±0,14bB	1,48±0,24a
Suscetível	1,44±0,17bA	1,53±0,22aA	1,49±0,13a
Média	1,85±0,19 A	1,13±0,15 B	-
G	$F = 0,02$	$P = 0,8786$	ns
P	$F = 12,23$	$P = 0,0013$	**
G x P	$F = 15,70$	$P = 0,0003$	**

Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na coluna ou maiúsculas na linha diferem significativamente pelo teste de Tukey. ** $P < 0,01$; ^{ns} não significativo.

3.3. Experimento 3: Preferência alimentar entre folha versus vagens novas versus vagens velhas

No experimento 3, que utilizou folíolos inteiros, vagens novas (em desenvolvimento) e vagens velhas (completamente desenvolvidas) de plantas resistentes e suscetíveis de soja (Tabela 5), diferenças significativas foram observadas para os efeitos de genótipo e estruturas vegetal nos testes com e sem chance de escolha na preferência alimentar de lagartas de *S. cosmioides*.

No teste com chance de escolha (Tabela 5), houve diferenças significativas na preferência larval entre genótipos após 6 ($F_{1,54} = 17,83$; $P < 0,0001$) e 12 horas ($F_{1,54} = 10,49$; $P = 0,0021$) do início do experimento.

As estruturas vegetais diferiram quanto à preferência larval de *S. cosmioides* durante toda a avaliação do experimento [1h ($F_{2,54} = 13,67$; $P < 0,0001$), 3h ($F_{2,54} = 18,80$; $P < 0,0001$), 6h ($F_{2,54} = 57,35$; $P < 0,0001$), 12h ($F_{2,54} = 21,62$; $P < 0,0001$); 24 ($F_{2,54} = 18,06$; $P < 0,0001$) e 36 horas ($F_{2,54} = 8,51$; $P = 0,0006$)] (Tabela 5).

Houve diferença significativa da interação genótipo e estrutura vegetal na preferência larval após 6 ($F_{2,54} = 17,30$; $P < 0,0001$) e 12 horas ($F_{2,54} = 10,59$; $P < 0,0001$) (Figura 3a). Maior número de lagartas foi observado às 6 e 12 horas em folíolos da parte inferior do genótipo suscetível em relação aos folíolos do genótipo resistente. O mesmo não ocorreu nos tratamentos utilizando vagens novas e vagens velhas, uma vez que os genótipos não diferiram nestes tempos (Figura 3a).

No teste sem chance de escolha (Tabela 5), os genótipos diferiram quanto à preferência larval somente após 36 horas ($F_{1,54} = 5,07$; $P = 0,0284$) do início do experimento. A escolha das lagartas de *S. cosmioides* entre as estruturas vegetais diferiu significativamente após 1 ($F_{2,54} = 7,34$; $P = 0,0015$), 3 ($F_{2,54} = 3,87$; $P = 0,0269$), 6 ($F_{2,54} = 12,54$; $P < 0,0001$), 12 ($F_{2,54} = 12,68$; $P < 0,0001$) e 36 horas ($F_{2,54} = 14,90$; $P < 0,0001$). O efeito de genótipo e estrutura vegetal na preferência de *S. cosmioides* ao longo do tempo foram independentes entre si.

Tabela 5. Resultados da ANOVA para os efeitos de genótipo (G) e substrato (S) na preferência alimentar de lagartas de *Spodoptera cosmioides* entre folíolos inteiros, vagens novas e vagens velhas de plantas de soja em testes com e sem chance de escolha.

Fontes de variação	1h		3h		6h		12h		24h		36h	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Com chance de escolha												
G	0,00	0,9445	0,78	0,3825	17,83***	<0,0001	10,49**	0,0021	0,34	0,5638	0,96	0,3323
S	13,67**	<0,0001	18,80***	<0,0001	57,35***	<0,0001	21,62***	<0,0001	18,06***	<0,0001	8,51**	0,0006
G x S	0,00	0,9995	2,29	0,1111	17,30***	<0,0001	10,59***	0,0001	0,41	0,6681	0,98	0,3830
Sem chance de escolha												
G	2,18	0,1452	1,26	0,2660	1,71	0,1960	1,64	0,2063	1,12	0,2936	5,07*	0,0284
S	7,34**	0,0015	3,87*	0,0269	12,54***	<0,0001	12,68***	<0,0001	1,97	0,1495	14,90***	<0,0001
G x S	0,35	0,7066	0,08	0,9242	0,11	0,8986	0,41	0,6663	1,97	0,1495	1,66	0,2006

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

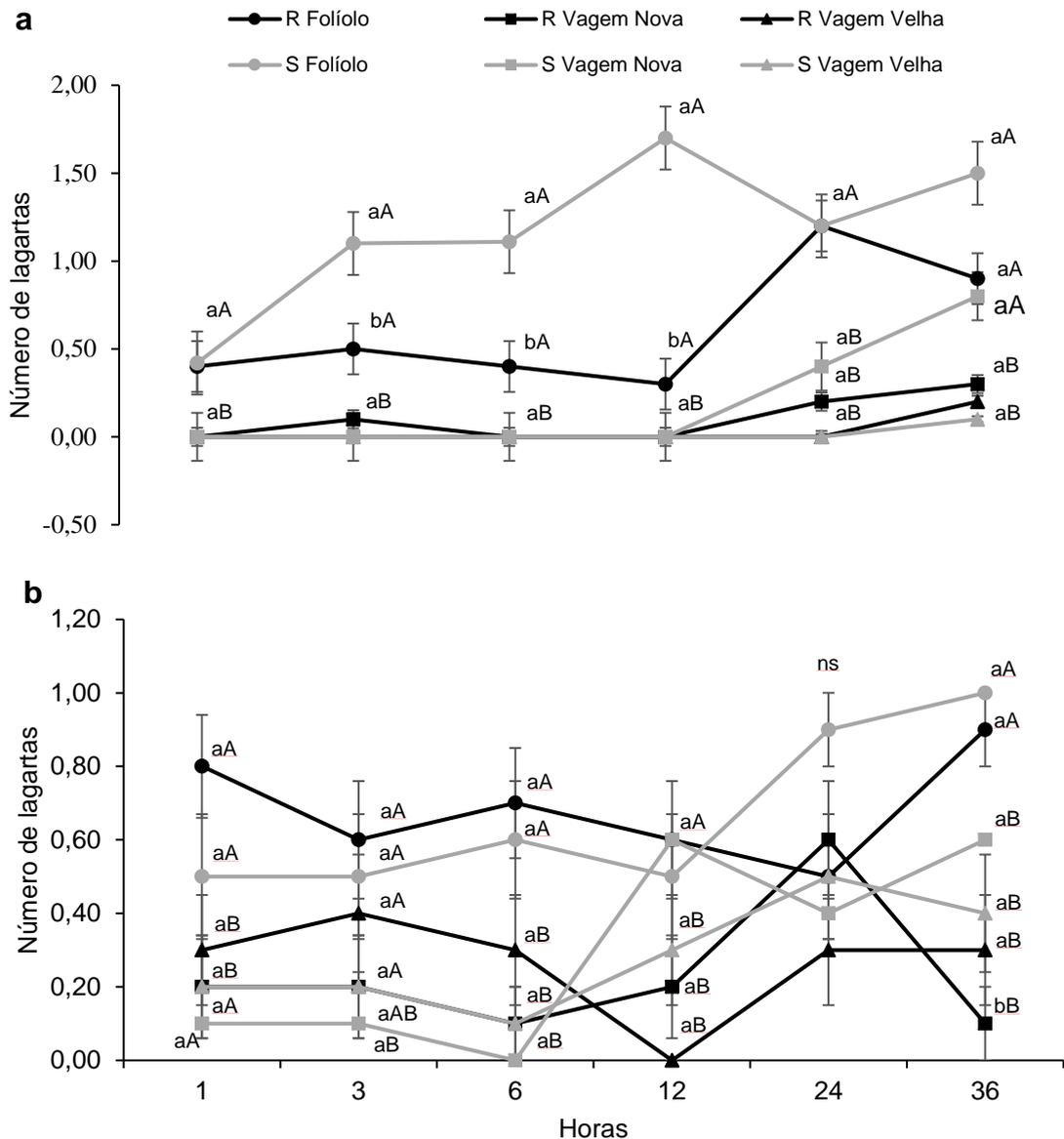


Figura 3. Número médio (\pm EP) de lagartas *Spodoptera cosmioides* em folíolos, vagens em desenvolvimento e vagens completamente desenvolvidas de genótipos resistente e suscetível de soja em testes com chance (a) e sem chance (b) de escolha. R Folíolo: folíolo da parte superior do genótipo resistente; R Vagem Nova: vagem em desenvolvimento do genótipo resistente; R Velha: vagem completamente desenvolvida do genótipo resistente; S Folíolo: folíolo da parte superior do genótipo suscetível; S Vagem Nova: vagem em desenvolvimento do genótipo suscetível; S Vagem velha: vagem completamente desenvolvida do genótipo suscetível; Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre genótipos e diferentes letras maiúsculas entre estruturas vegetais para cada genótipo em cada tempo de avaliação. ^{ns} não significativo.

A porcentagem de injúria diferiu entre genótipos ($F_{1,54} = 11,47$; $P = 0,0013$) no teste com chance de escolha, e entre estruturas vegetais nos testes com chance ($F_{2,59}$

= 69,08; $P < 0,0001$) e sem chance ($F_{2,59} = 74,82$; $P < 0,0001$) de escolha (Tabela 6). Não houve interação significativa entre genótipos e estruturas vegetais nos testes com chance ($F_{2,54} = 2,00$; $P = 0,1662$) e sem chance de escolha ($F_{2,54} = 0,15$; $P = 0,8621$) para a área foliar consumida por lagartas de *S. cosmioides*. Com base nos resultados obtidos no experimento 3, o uso de folíolo inteiro permitiu melhor distinção da preferência alimentar pelo inseto entre os genótipos resistente e suscetível de soja em relação às vagens em desenvolvimento e completamente desenvolvidas (Tabela 6). Como ambas as idades das vagens foram semelhantes quanto á preferência e consumo de *S. cosmioides*, foram utilizadas vagens em desenvolvimento no posterior.

Tabela 6. Porcentagem de injúria (% , \pm EP) por lagartas de *Spodoptera cosmioides* em folíolos, vagens novas e vagens velhas de genótipos resistente e suscetível de soja em testes com chance e sem chance de escolha.

Genótipos (G)	Estruturas vegetais (E)			Média
	Folíolo	Vagens novas	Vagens velhas	
Com chance de escolha				
Resistente	19,90 \pm 2,01bA	3,30 \pm 2,15bB	1-	7,76 \pm 1,87b
Suscetível	31,50 \pm 2,63aA	8,10 \pm 2,74aB	-	13,20 \pm 2,76a
Média	25,70 \pm 2,09 A	5,70 \pm 1,78 B	-	
G	$F = 11,61$	$P = 0,0016$	**	
E	$F = 69,08$	$P < 0,0001$	***	
G x E	$F = 2,00$	$P = 0,1662$	ns	
Sem chance de escolha				
Resistente	17,60 \pm 2,07aA	9,10 \pm 2,62aB	2,30 \pm 1,14aC	9,66 \pm 1,62a
Suscetível	19,70 \pm 2,58aA	9,00 \pm 2,38aB	1,60 \pm 0,45aC	10,10 \pm 1,79a
Média	18,65 \pm 1,63 A	9,05 \pm 1,72 B	1,95 \pm 0,60 C	
G	$F = 1,92$	$P = 0,1721$	ns	
E	$F = 74,82$	$P < 0,0001$	***	
G x E	$F = 0,15$	$P = 0,8621$	ns	

¹ Estruturas não injuriadas. Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na coluna ou maiúsculas na linha diferem significativamente pelo teste de Tukey. ** $P < 0,01$; *** $P < 0,0001$. ns não significativo.

3.4. Experimento 4: Influência de fatores intrínsecos às plantas de soja na expressão da antibiose em lagartas de *Spodoptera cosmioides*

Com relação aos aspectos biológicos do desenvolvimento larval de *S. cosmioides* alimentadas com folíolos; vagens; folíolos + vagens, e folíolos oferecidos até o 4º ínstar e vagens até a pupação, coletados de genótipos de soja, verifica-se que os tratamentos que ofereceram somente vagens e naqueles que ofereceram folíolos até o 4º ínstar e vagens até a pupação proporcionaram mortalidade total de *S. cosmioides* (Tabela 7).

Lagartas alimentadas com folíolos tiveram a duração da fase larval significativamente afetada ($F_{1,24} = 28,70$; $P < 0,0001$) pelos genótipos de soja, enquanto os substratos folíolo e folíolo + vagem não influenciaram significativamente ($F_{3,24} = 0,40$; $P = 0,5337$) o período larval de *S. cosmioides*. Não houve diferença significativa da interação ($F_{3,24} = 0,89$; $P = 0,3526$) entre genótipo e estrutura vegetal (Tabela 7).

Tabela 7. Médias (\pm EP) de duração (dias) da fase larval de *Spodoptera cosmioides* alimentada com folíolos, vagens, folíolos + vagens, e folíolos até o 4º ínstar larval seguidos de vagens até a pupação de genótipos resistente e suscetível de soja.

Genótipos (G)	Estruturas vegetais (E)				Média
	Folíolo	Vagem	Folíolo + Vagem	Folíolo / Vagem	
Resistente	23,75 \pm 0,52aA	- ¹	25,00 \pm 1,00aA	-	24,37 \pm 0,57a
Suscetível	20,25 \pm 0,72bA	-	20,00 \pm 0,84bA	-	20,12 \pm 0,54b
Média	22,00 \pm 0,62A	-	22,50 \pm 0,90A	-	
G	$F = 28,70$	$P < 0,0001$	***	-	
E	$F = 0,40$	$P = 0,5337$	ns	-	
G x E	$F = 0,89$	$P = 0,3526$	ns	-	

¹ número de indivíduos insuficiente para análise estatística. Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na coluna ou maiúsculas na linha diferem significativamente pelo teste de Tukey. *** $P < 0,001$; ns não significativo.

Diferenças significativas também foram observadas entre os genótipos ($F_{1,24} = 57,58$; $P < 0,0001$) para o peso larval de *S. cosmioides* (Tabela 8). No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre estruturas vegetais ($F_{3,24} = 0,83$; $P = 0,3657$) e a interação entre genótipo e estrutura vegetal ($F_{3,24} = 1,66$; $P = 0,2007$). Lagartas alimentadas com folíolos e folíolos + vagens de plantas do genótipo suscetível tiveram cerca de 2 vezes maior ganho de peso que aquelas alimentadas com plantas do genótipo resistente.

Tabela 8. Médias (\pm EP) de peso (mg) larval de *Spodoptera cosmioides* alimentada com folíolos, vagens, folíolos + vagens, e folíolos até o 4^o instar larval seguidos de vagens até a pupação de genótipos resistente e suscetível de soja.

Genótipos (G)	Estruturas vegetais (E)				Média
	Folíolo	Vagem	Folíolo + Vagem	Folíolo / Vagem	
Resistente	150,79 \pm 16,37bA	- ¹	152,87 \pm 14,66bA	-	151,83 \pm 10,86b
Suscetível	354,02 \pm 25,23aA	-	297,54 \pm 25,81aA	-	325,78 \pm 18,35a
Média	252,40 \pm 21,47 A	-	225,20 \pm 18,35 A	-	
G	$F = 57,58$	$P < 0,0001$	***		
E	$F = 0,83$	$P = 0,3657$	ns		
G x E	$F = 1,66$	$P = 0,2007$	ns		

¹ número de indivíduos insuficiente para análise estatística. Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na coluna ou maiúsculas na linha diferem significativamente pelo teste de Tukey. *** $P < 0,001$; ns não significativo.

Diferenças significativas foram observadas para o efeito de genótipos ($F_{1,24} = 20,87$; $P = 0,0002$) na sobrevivência larval de *S. cosmioides* (Tabela 9). Não houve diferença significativa para os efeitos de estrutura vegetal ($F_{3,24} = 0,14$; $P = 0,7074$) e para a interação entre genótipo e estrutura vegetal ($F_{3,24} = 0,58$; $P = 0,4553$). Lagartas alimentadas tanto com folíolos quanto folíolos + vagens de plantas do genótipo suscetível tiveram índices de sobrevivência cerca de 2 vezes maiores em relação aos observados no genótipo resistente.

Tabela 9. Médias (\pm EP) de sobrevivência (%) larval de *Spodoptera cosmioides* alimentada com folíolos, vagens, folíolos + vagens, e folíolos até o 4º instar larval seguidos de vagens até a pupação de genótipos resistente e suscetível de soja.

Genótipos (G)	Estruturas vegetais (E)				Média
	Folíolo	Vagem	Folíolo + Vagem	Folíolo / Vagem	
Resistente	36,67 \pm 6,14bA	- ¹	26,67 \pm 6,67bA	-	31,67 \pm 4,58b
Suscetível	70,00 \pm 11,25aA	-	73,34 \pm 9,89aA	-	71,67 \pm 7,16a
Média	53,34 \pm 7,91 A	-	50,00 \pm 9,04 A	-	
G	$F = 20,87$	$P = 0,0002$	**		
E	$F = 0,14$	$P = 0,7074$	ns		
G x E	$F = 0,58$	$P = 0,4553$	ns		

¹ número de indivíduos insuficiente para análise estatística. Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na coluna ou maiúsculas na linha diferem significativamente pelo teste de Tukey. ** $P < 0,01$; ns não significativo.

4. Discussão

Os resultados deste trabalho demonstram que alguns fatores intrínsecos às plantas de soja, como o tipo de substrato (disco foliar/folíolo inteiro), posição foliar na planta (parte superior/inferior), e estrutura vegetal (folha/vagem) afetam diretamente a expressão da resistência em soja a *S. cosmioides*. Este estudo ressalta a importância da determinação de metodologias prévias a estudos em resistência de plantas, já que a metodologia empregada pode ser fundamental na visualização dos níveis de resistência entre os genótipos avaliados.

Dada a importância da espécie *S. cosmioides* nos últimos anos em soja no Brasil devido ao seu comportamento altamente voraz frente a outras espécies-praga (BUENO et al., 2011), a determinação de uma metodologia específica na cultura da soja torna-se fundamental para futuros trabalhos na seleção de genótipos para o manejo da praga. Além disso, o conhecimento sobre a posição e a idade na qual a planta é mais preferida ou suscetível a lagartas de *S. cosmioides* fornece suporte para

o manejo da praga em campo, concentrando-se esforços de controle nos períodos de maior suscetibilidade das plantas.

Foi demonstrado que o uso de folíolo inteiro permite melhor evidenciar diferenças quanto à preferência alimentar entre genótipos resistente e suscetível de soja a *S. cosmioides* em relação ao disco foliar. De acordo com os resultados encontrados, o genótipo suscetível foi menos arrestante/estimulante quando oferecido como disco foliar em relação a folíolo inteiro nos testes com chance de escolha, e por isso, não diferiu do genótipo resistente em relação à preferência larval. Além disso, folhas do genótipo suscetível foram menos consumidas quando oferecidas como disco foliar no teste com chance de escolha, apresentando redução em cerca de 4 vezes na área foliar consumida em relação a folíolo inteiro. Com isso, ambos os genótipos foram igualmente consumidos quando as lagartas foram alimentadas com disco foliar. Este fato pode estar relacionado com a maior deterrência observada no disco foliar em função da duração do experimento e a consequente redução no consumo foliar.

Estudos em resistência de plantas comumente utilizam folíolos inteiros e discos foliares em experimentos de preferência alimentar; no entanto, o melhor substrato a ser utilizado deve ser determinado em função da espécie da planta e inseto devido à variabilidade nas respostas encontradas em diversos trabalhos. De Bortoli et al. (2012), avaliando o efeito na composição química em folíolos inteiros de dois genótipos injuriados e não injuriados de soja nos aspectos biológicos da lagarta da soja *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Erebidæ) e do percevejo verde pequeno *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae), observaram que o genótipo Embrapa 4 quando não injuriado apresentou alguns compostos secundários nas plantas como: pinitol, genistina, daidzeína, gliceolinas e as saponinas.

Assim, mesmo o genótipo suscetível (Pionner 98Y11 RR) utilizado neste trabalho pode apresentar constitutivamente alguns compostos secundários em baixas concentrações, e a menor preferência pelo disco foliar em relação ao folíolo pode estar relacionada com a possível exsudação dessas substâncias deterrentes quando as folhas foram seccionadas, promovendo maiores estímulos negativos que resultaram em menor consumo foliar. No trabalho subsequente a este (apresentado no capítulo 3), avaliando a indução de resistência induzida em soja a *S. cosmioides*, verificou-se que a expressão da resistência induzida também é influenciada pelo tipo de substrato, sendo que o disco foliar permitiu melhor distinção da resposta induzida em plantas de

soja em relação ao folíolo inteiro. Contudo, o folíolo inteiro demonstrou melhor expressão da resistência constitutiva no genótipo resistente, permitindo maior diferenciação nos níveis de resistência, corroborando os resultados deste trabalho.

Por outro lado, Boiça Júnior et al. (2015b), avaliando a preferência alimentar de lagartas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* em soja, verificaram maiores diferenças no consumo foliar entre genótipos oferecidos como discos foliares em relação aos folíolos inteiros. Os autores também observaram que o genótipo suscetível foi mais consumido quando oferecido como disco foliar do que folíolo inteiro. Diversos trabalhos encontrados na literatura comparando o uso desses dois substratos também diferem quanto ao seu uso em diferentes plantas e artrópodes-praga (LIN; KOGAN, 1990; BI; FELTON; MUELLER, 1994; UNDERWOOD, 1998; HUANG et al., 2003). Portanto, devido às variações na fisiologia das espécies de plantas e insetos, somado a outros fatores que potencialmente afetam a expressão da resistência, torna-se fundamental o estudo de metodologia específica em soja a *S. cosmioides*.

A posição foliar influenciou a preferência alimentar de *S. cosmioides* em ambos os genótipos de soja. No teste sem chance de escolha, o folíolo inferior diferiu entre genótipos no início das avaliações e em geral foi menos preferido que o folíolo superior em relação ao genótipo resistente, enquanto o folíolo da parte superior foi igualmente preferido pelas lagartas entre genótipos. A área foliar consumida do folíolo superior também foi semelhante entre os genótipos, enquanto que no folíolo inferior observou-se diferença no consumo entre as plantas resistente e suscetível em cinco ordens de magnitude. Além disso, no teste sem chance de escolha, o genótipo resistente teve numericamente maior consumo foliar que o genótipo suscetível quando oferecido o folíolo superior, o que evidencia a influência da posição da folha na planta na expressão de antixenose. Em contrapartida, o folíolo inferior do genótipo resistente foi 2 vezes menos consumido em relação ao folíolo inferior do genótipo suscetível. Portanto, o folíolo inferior apresentou melhores resultados quanto à preferência de lagartas de *S. cosmioides* em soja, demonstrando com maior distinção nos níveis de resistência entre os genótipos resistente e suscetível.

Folhas mais jovens próximas ao ápice das plantas são em geral mais preferidas por artrópodes do que folhas da parte inferior (SMITH, 2005). Em soja, as folhas da parte superior das plantas são mais preferidas por *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) (MCWILLIAMS; BELAND 1977; RODRIGUEZ et al. 1983). Os diferentes tecidos

vegetais variam consideravelmente quanto ao balanço de aminoácidos e conteúdo total de nitrogênio; folhas mais velhas normalmente apresentam baixas concentrações de nitrogênio, enquanto folhas mais novas e próximas ao ápice das plantas tendem a ter maiores concentrações (WALDBAUER; FRIEDMAN, 1991; BEHMER, 2009). Além disso, segundo Rose et al. (1988), no caso da resistência em soja há evidências de que os aleloquímicos em genótipos resistentes tendem a se acumular em folhas mais velhas da parte inferior das plantas, atuando como deterrentes à alimentação de artrópodes. Por isso, a menor preferência alimentar no folíolo inferior do genótipo resistente pode estar associada com a maior concentração de compostos secundários nas folhas mais velhas.

Com resultados semelhantes aos deste trabalho, Smith (1985) concluiu que o genótipo de soja PI 227687 conferiu resistência a *Crysoideixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) apenas nas folhas a partir do terceiro trifólio, enquanto as folhas da parte superior não diferiram do genótipo suscetível Davis. Souza (2014) avaliando a resistência induzida em soja à *S. frugiperda* não observou diferenças significativas em relação ao consumo foliar de lagartas de *S. frugiperda* entre as partes superior e inferior das plantas de soja em plantas não injuriadas, no entanto, o consumo foliar de lagartas de *S. frugiperda* foi ligeiramente maior em folhas da parte inferior das plantas de soja. Devido à grande variabilidade na expressão da resistência mesmo entre plantas da mesma espécie, é fundamental o estudo sobre a influência de alguns fatores como as partes da planta na resistência a diferentes espécies de insetos.

Em relação ao tipo de estrutura vegetal (vegetativa/reprodutiva), o uso de folíolo permitiu melhor distinção da resistência constitutiva às lagartas de *S. cosmioides* em relação ao uso de vagens em desenvolvimento e vagens completamente desenvolvidas em testes de preferência alimentar. Apesar de o folíolo, assim como a vagem em desenvolvimento, terem diferido entre os genótipos quanto à porcentagem de injúria, a quantidade de injúria no folíolo foi substancialmente maior em ambos os genótipos de soja. Esses resultados fornecem importantes características sobre a preferência larval de *S. cosmioides* em soja, evidenciando sua preferência por folhas em relação a vagens.

O desenvolvimento larval de *S. cosmioides* foi influenciado pelo tipo de substrato alimentar oferecido. Os maiores efeitos negativos foram observados em lagartas alimentadas durante todo o ciclo apenas com estrutura reprodutiva (vagens

em desenvolvimento) e em lagartas alimentadas com vagens a partir do quarto ínstar, onde a mortalidade chegou a 100% dos indivíduos. As lagartas alimentadas apenas com folíolo, e com folíolo mais vagem durante a fase larval tiveram os parâmetros larvais significativamente afetados pelo genótipo, porém não houve diferença entre estruturas vegetais. Apesar da não significância, verifica-se que no genótipo resistente as lagartas apresentaram ligeiro prolongamento do período de larval (cerca de um dia), e redução em 10% da sobrevivência quando alimentadas com folíolo e vagem em relação às lagartas alimentadas somente com folíolo.

Apesar de *S. cosmioides* ser relatada atacando estruturas reprodutivas de plantas de soja, verificou-se que o seu desenvolvimento é altamente afetado quando alimentada com vagens em desenvolvimento e completamente desenvolvidas. O conhecimento dessa informação é fundamental para determinar a parte e estrutura da planta preferidas na fase larval, uma vez que tipos de substratos menos preferidos quando utilizados erroneamente em trabalhos avaliando a resistência de plantas, pode influenciar a expressão de possíveis níveis de resistência entre diferentes genótipos. Além disso, o conhecimento sobre a estrutura na qual a espécie tem preferência para se alimentar e se desenvolve melhor pode possibilitar a adoção de táticas de manejo mais precisas, uma vez que *S. cosmioides* tem sido relatada como praga importante na fase reprodutiva associada a danos causados em vagens (GAZZONI & YORINORI, 1995; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; TEODORO et al., 2013) na cultura da soja.

O presente estudo contribui para futuros estudos em manejo integrado de pragas em soja por estabelecer uma metodologia adequada a ser utilizada em experimentos de seleção de genótipos resistentes a *S. cosmioides*, uma das pragas de maior importância na cultura da soja atualmente no Brasil. Além disso, o conhecimento da parte da planta e estrutura vegetal de maior preferência sugere que o monitoramento da praga em campo deve ser intensificado nas folhas a partir da fase vegetativa até o início da fase reprodutiva em plantas de soja.

A partir dos resultados encontrados neste estudo, sugere-se que em condições de campo a injúria das lagartas de *S. cosmioides* em vagens em desenvolvimento e completamente desenvolvidas pode se dar eventualmente quando a disponibilidade de folhas é limitada, em função da competição entre lagartas conspecíficas ou entre outras lagartas desfolhadoras. Apesar dessas ocorrências frequentemente observadas em campo (MOSCARDI et al., 2012), foi demonstrado no teste sem chance de escolha que lagartas alimentadas somente com vagens tiveram parâmetros

de alimentação e desenvolvimento larval afetados, atingindo 100% de mortalidade no final da fase larval. Portanto, a ocorrência de *S. cosmioides* na fase reprodutiva ao fim do ciclo da cultura possivelmente está associada com altas infestações ainda na fase vegetativa, que, somado ao monitoramento incorreto resulta em alta densidade populacional na fase reprodutiva, podendo levar à baixa disponibilidade de folhas e consequentemente eventuais ataques às estruturas reprodutivas.

5. Referências

ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p.1-4.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; RINGENBERG, R.; FORESTI, J. Adequação de uma dieta artificial para a criação de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 155-161, 2004.

BEHMER, S. Insect herbivore nutrient regulation. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 54, n. 1, p. 165-187, 2009.

BERNARDI, O.; SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; DOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania*, and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, Guildford, v. 58, n. 1, p. 33-40, 2014.

BERTELS, A. Pragas de solanáceas cultivadas. **Agros**, Pelotas, v. 6, n. 4, p.154-160, 1953.

BI, J. L.; FELTON, G. W.; MUELLER, A. J. Induced resistance in soybean to *Helicoverpa zea*: role of plant protein quality. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 1, p. 183-198, 1994.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; BOTTEGA, D. B.; SOUZA, B. H. S.; RODRIGUES, N. E. L.; MICHELIN, V. Determinação dos tipos de resistência a *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 607-618, 2015a.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; SOUZA, B. H. S.; COSTA, E. N.; RIBEIRO, Z. A.; STOUT, M. J. Factors influencing expression of antixenosis in soybean to *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economy Entomology**, Lanham, v. 108, n. 1, p. 317-325, 2015b.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; SOUZA, B. H. S.; LOPES, G. S.; COSTA, E. N.; MORAES, R. F. O.; EDUARDO, W. I. Atualidades em resistência de plantas a insetos. In: BUSOLI, A. C.; ALENCAR, J. R. D. C. C.; FRAGA, D. F.; SOUZA, L. A.; SOUZA, B. H. S.; GRIGOLLI, J. F. J. (Eds.). **Tópicos em entomologia agrícola – VI**. Jaboticabal: Multipress, 2013. p. 207-224.

BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J. R. P.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, n. 2, p. 170-174, 2011.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, 2010. **Technical opinion Nº2542/2010 - Commercial release of genetically modified insect-resistant and herbicide-tolerant soy containing genetically modified events MON 87701 and MON 89788**. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15558.html>>. Acesso em: 15 fev. 2016.

DE BORTOLI, S. A.; MURATA, A. T.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, C. P.; RAMALHO, D. G. Herbivoria em soja: efeito na composição química das folhas e na biologia da lagarta da soja e do percevejo verde pequeno. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 3, n. 3, p. 192-198, 2012.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 311-316, 2001.

FHER, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report, 80).

GAZZONI, D. L., YORINORI, J. T., **Manual de identificação de pragas e doenças da soja**. Brasília: Embrapa Spi, 1995. 128 p.

HABIB, M. E. M.; PALEARI, L. M.; AMARAL, M. E. C. Effect of three larval diets on the development of the armyworm, *Spodoptera latifascia* Walker, 1856 (Noctuidae, Lepidoptera). **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 177-182, 1983.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J.; SOSA-GOMEZ, D. R.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; GAZZONI, D. L.;

OLIVEIRA, E. B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 70 p. (Circular Técnica, 30).

HUANG, J.; MI, J.; LIN, H.; WANG, Z.; CHEN, R.; HU, R.; ROZELLE, S.; PRAY, C. A decade of Bt cotton in Chinese fields: assessing the direct effects and indirect externalities of Bt cotton adoption in China. **Science China Life Sciences**, v. 53, n. 8, p. 981-991, 2010.

HUANG, J.; NUESSELY, G. S.; MCAUSLANE, H. J.; NAGATA, R. T. Effects of screening methods on expression of romaine lettuce resistance to adult banded cucumber beetle, *Diabrotica balteata* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 86, n. 2, p. 194-198, 2003.

HUANG, S.; HAN, Z. Mechanisms for multiple resistances in field populations of common cutworm *Spodoptera litura* (Fabricius) in China. *Pestic Biochem Physiol*, New York, v. 87, p. 14–22, 2007.

JAMES, C. **Global status of commercialized biotech/GM crops**. Executive summary. Ithaca: ISAAA Briefs, n. 39, p. 39, 2014.

KOUSER, S.; QAIM, M. Impact of Bt cotton on pesticide poisoning in smallholder agriculture: a panel data analysis. **Ecological Economics**, Amsterdam, v. 70, n. 11, p. 2105-2113, 2011.

LIN, H.; KOGAN, M. Influence of induced resistance in soybean on the development and nutrition of the soybean looper and the Mexican bean beetle. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 131-138, 1990.

LU, Y.; WU, K.; JIANG, Y.; GUO, Y.; DESNEUX, N. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. **Nature**, New York, v. 487, p. 362–365, 2012.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT: sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Brasília: MAPA, 2016. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 16 abr. 2016.

MCWILLIAMS, J. M.; BELAND, G. L. Bollworm: effect of soybean leaf age and pod maturity on development in laboratory. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 70, n. 2, p. 214-216, 1977.

MIRANDA, J. E. **Manejo integrado de pragas do algodoeiro no Cerrado brasileiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. 36 p. (Embrapa Algodão, Circular Técnica, 131).

MORAIS, A. A.; BALDIN, J. P. Breeding for resistance to insect pests. In: FRITSCHENETO, R.; BORÉM, A. (Eds.). **Plant breeding for biotic stress resistance**. New York: Springer, 2012. p. 103-121.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes praga**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 213-334.

QAIM, M. The economics of genetically modified crops. **Annual Review of Resource Economics**, Palo Alto, v. 1, p. 665-693, 2009.

RODRIGUEZ, J. G.; REICOSKY, D. A.; PATTERSON, C. G. Soybean and mite interactions: Effects of genotype and plant growth stage. **Journal of the Kansas Entomology Society**, Manhattan, v. 56, n.1, p. 320-326, 1983.

ROSE, R. L., SPARKS, T. C.; SMITH, C. M. Insecticide toxicity to larvae of the soybean looper and the velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae) as influenced by feeding on resistant soybean (PI227687) leaves and coumestrol. **Journal of Economy Entomology**, Lanham, v. 81, n. 5, p. 1288–1294, 1988.

SALEEM, M.; HUSSAIN, D.; GHOUSE, G.; ABBAS, M.; FISHER, S. W. Monitoring of insecticide resistance in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of Punjab, Pakistan to conventional and new chemistry insecticides. *Crop Protection*, Guildford, v. 79, p. 177-184, 2016.

SANTOS, G. P.; COSENZA, G. W.; ALBINO, J. C. Biologia de *Spodoptera latifascia* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre folhas de eucalipto. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 153-155, 1980.

SAS INSTITUTE. **Sas/Stat User Software**: Changes and 14 Enhancements through Release. Estados Unidos, Cary. Versão 9.4 , 2011.

SILVA, A. G. A.; GONÇALVES, C. R.; GALVÃO, D. M.; GONÇALVES, A. J. L.; GOMES J.; SILVA, M. N.; SIMONI, L. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil**. Seus parasitos e predadores. Parte 2, Tomo 1º, insetos, hospedeiros e inimigos naturais. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1968. 622 p.

SILVAIN, J. F.; LALANNE-CASSOU, B. Distinction entre *Spodoptera latifascia* (Walk.) et *Spodoptera cosmioides* (Walk.), bona species (Lepidoptera: Noctuidae). **Revue Française d'Entomologie**, Montreuil, v. 19, n. 6, p. 95-97, 1997.

SISTERSON, M. S., BIGGS, R. W., MANHARDT, N. M., CARRIÈRE, Y., DENNEHY, T. J., TABASHNIK, B. E. Effects of transgenic Bt cotton on insecticide use and abundance of two generalist predators. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 124, n. 3, p. 305-311, 2007.

SMITH, C. M. Expression, mechanisms and chemistry of resistance in soybean, *Glycine max* L. (Merr.) to the soybean looper, *Pseudoplusia includes* (Walker). **International Journal of Tropical Insect Science**, Wallingford, v. 6, n. 3, p. 243-248, 1985.

SMITH, C. M. **Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches**. Dordrecht: Springer, 2005. 423 p.

SOUZA, B. H. S. **Fatores e mecanismos que influenciam a resistência em soja a *Anticarsia gemmatilis* Hübner e *Spodoptera frugiperda*** (J. E. Smith). 2014. 164 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Area de Concentração: Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.

STOUT, M. J. Reevaluating the conceptual framework for applied research on hostplant resistance. **Insect Science**, Auckland, v. 20, p. 263-272, 2013.

STOUT, M. J.; WORKMAN, J.; DUFFEY, S. S. Differential induction of tomato foliar proteins by arthropod herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 10, p. 2575-2594, 1994.

SU, J.; SUN, X. X. High level of metaflumizone resistance and multiple insecticide resistance in field populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) in Guangdong Province, China. **Crop Protection**, Guildford, v. 61, p. 58-63, 2014.

TEODORO, A. V.; PROCÓPIO, S. O.; BUENO, A. F.; JUNIOR, A. S. N.; CARVALHO, H. W. L.; NEGRISOLI, C. R. C. B.; BRITO, L. F.; GUZZO, E. C. *Spodoptera cosmioides* (Walker) e *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae): novas pragas de cultivos da Região Nordeste. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros; Embrapa Informação Tecnológica, 2013. p. 1. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. **Comunicado Técnico, 131**).

UNDERWOOD, N. The timing of induced resistance and induced susceptibility in the soybean-Mexican bean beetle system. **Oecologia**, Berlin, v. 114, n. 3, p. 376-381, 1998.

WALDBAUER, G. P.; FRIEDMAN, S. Self-selection of optimal diets by insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 36, n. 1, p. 43-63, 1991.

ZHAO, J. H.; HO, P.; AZADI, H. Benefits of Bt cotton counterbalanced by secondarypests? Perceptions of ecological change in China. **Environmental Monitoring and Assessment**, Cincinnati, v. 173, n. 4, p. 985-994, 2011.

CAPÍTULO 3 – A INDUÇÃO DE DEFESAS EM SOJA PELA HERBIVORIA DE *Spodoptera cosmioides* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) É DEPENDENTE DO GENÓTIPO E POSIÇÃO FOLIAR DAS PLANTAS

RESUMO - As plantas desenvolveram uma diversidade de mecanismos de defesa a estresses bióticos e abióticos, os quais podem ser constitutivos ou induzidos. Variações em fatores intrínsecos às plantas, tais como o genótipo e a posição foliar podem afetar consideravelmente a expressão da resistência a insetos. Neste estudo foi investigado se a inducibilidade de defesas em soja após herbivoria por lagartas de *Spodoptera cosmioides* varia em função do genótipo e posição foliar. Essa hipótese foi testada em dois bioensaios com discos foliares/folíolos inteiros das partes superior e inferior de plantas de genótipos constitutivamente resistente e suscetível, injuriados ou não por *S. cosmioides*. As respostas induzidas de defesa foram dependentes do genótipo de soja e posição foliar na planta. Os efeitos induzidos por *S. cosmioides* foram observados apenas em folhas da parte superior de plantas do genótipo resistente, evidenciados pela redução nas taxas de consumo e crescimento de lagartas de *S. cosmioides*. O genótipo suscetível não apresentou inducibilidade de defesas. O substrato alimentar oferecido como disco foliar permitiu melhor distinção da resistência induzida em plantas de soja injuriadas por lagartas de *S. cosmioides*, sendo com folíolos inteiros os efeitos induzidos menos expressivos. Os resultados desse trabalho apontam para a potencial importância que os efeitos induzidos de defesa em soja podem exercer na distribuição e competição intra e interespecífica de insetos fitófagos em um agroecossistema, instigando futuros estudos a investigarem tal comportamento.

Palavras-chave: *Glycine max*, interações planta-inseto, lagarta-das-vagens, resistência induzida, teoria da defesa ótima

CHAPTER 3 – INDUCIBILITY OF DEFENSES IN SOYBEANS TO *Spodoptera cosmioides* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) HERBIVORY IS DEPENDENT ON PLANT GENOTYPE AND LEAF POSITION

ABSTRACT – Plants developed a diverse array of defensive mechanisms against biotic and abiotic stresses, which can be constitutive and induced. Variation in plant-intrinsic factors such as genotype and leaf position can considerably affect the expression of resistance to insects. In this study we investigated if the inducibility of defenses in soybeans triggered by herbivory of *Spodoptera cosmioides* larvae varies in function of the genotype and leaf position. This hypothesis was tested in two bioassays using leaf discs/entire leaflets collected from the upper and lower parts of *S. cosmioides*-injured and uninjured plants of constitutively resistant and susceptible genotypes. The induced defensive responses were dependent on the soybean genotype and leaf position. The induced effects to *S. cosmioides* were observed only in leaves of the upper part of plants of the resistant genotype, evinced by reductions in rates of consumption and growth of the larvae. The susceptible genotype did not show defense inducibility. The food offered as leaf disc was better at demonstrating the induced resistance in soybeans injured by *S. cosmioides* larvae, whereas offering entire leaflet the induced effects were less pronounced. The results found herein point out to the potential importance that induced defensive responses to herbivory could exert on the distribution and intraspecific and interspecific competition of phytophagous insects in an agroecosystem, warranting further studies to investigate this issue.

Keywords: *Glycine max*, plant-insect interactions, soybean pods armyworm, induced resistance, optimal defense theory

1. Introdução

As plantas desenvolveram sofisticados mecanismos de defesa a estresses bióticos e abióticos, os quais podem ser constitutivos e/ou induzidos. As defesas constitutivas são definidas como heranças quantitativas ou qualitativas de mecanismos expressos constantemente nas plantas, sem depender do reconhecimento de elicitores. Os componentes da defesa constitutiva são substâncias químicas e/ou estruturas morfológicas que dificultam a utilização dos tecidos das plantas por insetos fitófagos, podendo afetar parâmetros biológicos relacionados ao crescimento e reprodução (COLEY; BARONE, 1996; KARBAN; BALDWIN, 1997). Por outro lado, as defesas induzidas são definidas como as heranças quantitativas e/ou qualitativas de mecanismos de defesa das plantas (mudanças morfológicas ou fisiológicas) contra insetos fitófagos em resposta a estímulos extrínsecos físicos ou químicos. Dentre os principais estímulos que desencadeiam respostas induzidas de defesa nas plantas estão a herbivoria por artrópodes, injúria mecânica, temperatura CO₂, e estresse hídrico (KARBAN; BALDWIN, 1997; AGRAWAL, 1998; SMITH, 2005).

Os mecanismos de defesa são encontrados em diferentes partes e estruturas das plantas, e normalmente suas concentrações variam em função do estágio fenológico (COLEY; BARONE, 1996). Variações em fatores intrínsecos às plantas, tais como o genótipo, a idade da folha/posição foliar, a estrutura vegetal, e a idade da planta/estádio fenológico podem afetar a expressão da resistência ao ataque de insetos (SMITH, 2005).

Em soja, Boiça Júnior et al. (2015b) verificaram que alguns fatores relacionados às plantas, como o tipo de substrato oferecido aos insetos, idade da folha/posição foliar, e idade da planta/estádio fenológico influenciaram significativamente a expressão de resistência constitutiva em maior ou menor grau ao inseto especialista *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidæ) e ao generalista *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidæ). Estudos avaliando possíveis fatores que influenciam a resistência induzida são pouco frequentes e, portanto, devem ser investigados com diversos sistemas planta-inseto para confirmar o padrão de expressão de defesa das plantas.

A resistência induzida já foi observada em diversas espécies de plantas, como tomate (THALER et al., 1996), arroz (HAMM et al., 2010), trigo (EL-WAKEIL et al.,

2010) e soja (LIN; KOGAN, 1990; BOIÇA JÚNIOR et al., 2015b). Apesar de os processos bioquímicos serem complexos e ainda não estarem totalmente elucidados, sabe-se que a indução de resistência em soja ocorre em função de alterações das enzimas oxidativas peroxidase e polifenol oxidase após a herbivoria (SOUZA, 2014). Estas enzimas catalisam a oxidação de compostos fenólicos para quinonas, as quais são tóxicas para microrganismos e insetos (STOUT et al., 1994).

Devido a várias limitações fisiológicas, a indução sistêmica não é necessariamente distribuída uniformemente por toda a planta, podendo os níveis de resistência variar em relação ao local da planta e a posição em que a injúria ocorreu (STOUT et al., 1996). Estes autores observaram que os níveis de resistência induzida em tomateiro tiveram maior variação espacial nas plantas injuriadas do que nas plantas não injuriadas, além disso, verificaram que as alterações químicas e o padrão espacial da expressão de resistência são dependentes de diversos fatores como tipo de injúria, limitações fisiológicas da planta e intensidade de injúria. Apesar da distribuição espacial nos níveis de resistência após a injúria ter sido observada em outras espécies vegetais, este é o primeiro estudo a avaliar se a capacidade de indução de defesas por herbivoria de insetos em soja está relacionada com outros fatores intrínsecos às plantas, como o genótipo e posição foliar.

Entre os principais artrópodes herbívoros que causam danos à cultura da soja, estão os insetos da família Lepidoptera, os quais algumas espécies do gênero *Spodoptera* destacam-se como importantes desfolhadores (MOSCARDI et al., 2012). *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie polífaga e considerada praga em expansão na cultura da soja no Brasil. Além das folhas, as lagartas de *S. cosmioides* também danificam as vagens e grãos em formação, o que pode comprometer significativamente a produtividade das plantas por se tratar de danos diretos no produto final (SANTOS et al., 2005; MOSCARDI et al., 2012). Além disso, lagartas de *S. cosmioides* apresentam o dobro da voracidade de outras espécies de lagartas desfolhadoras que ocorrem na cultura da soja (BUENO et al., 2011). A importância de *S. cosmioides* se agrava ainda mais pelo reduzido número de inseticidas registrados para seu controle (MAPA 2016) e ineficiência das cultivares transgênicas de soja (evento MON87701 X MON89788) (CTNBIO, 2010) que expressam a proteína Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* Berliner (SANTOS et al., 2009; BERNARDI et al., 2014).

Os resultados desse estudo contribuem por demonstrar as variações nos níveis das respostas de defesa das plantas de soja sob a influência dos fatores investigados, com potenciais implicações nas interações planta-inseto em um agroecossistema. O presente trabalho avaliou os efeitos da herbivoria, genótipo de soja e posição foliar na expressão da resistência induzida (antixenose/antibiose) a *S. cosmioides*. Também foram testados dois métodos de avaliação dos parâmetros biológicos de *S. cosmioides*, oferecendo discos foliares ou folíolos inteiros aos insetos nos bioensaios.

2. Material e Métodos

2.1. Condições gerais do experimento

O experimento foi conduzido na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, em Jaboticabal, SP, Brasil, durante o período de março a junho de 2015. Os ensaios em laboratório foram conduzidos sob condições controladas de temperatura ($26 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade relativa ($70 \pm 10\%$), e fotoperíodo (12C:12E h). Os ensaios que objetivaram avaliar alguns fatores possivelmente influentes na expressão da resistência em soja foram instalados em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$, correspondendo aos efeitos principais de genótipo, injúria, e posição foliar na planta, respectivamente, totalizando oito tratamentos. Além disso, dois métodos foram avaliados separadamente na investigação desses fatores, utilizando-se discos foliares e folíolos inteiros destacados das plantas.

2.2. Lagartas de *Spodoptera cosmioides*

As lagartas de *S. cosmioides* utilizadas nos ensaios foram provenientes de uma colônia mantida no laboratório, iniciada com cerca de 200 indivíduos cedidos pelo Laboratório de Entomologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. As lagartas foram criadas com dieta artificial, preparada de acordo com a metodologia de Greene et al. (1976). Indivíduos selvagens foram adicionados anualmente à colônia para manter a

diversidade genética da espécie. Nos ensaios foram utilizados indivíduos a partir da geração 3^o geração.

2.3. Genótipos de soja

Os genótipos de soja PI 227682 e P98Y11RR foram escolhidos com base em suas características constitutivas de resistência e suscetibilidade, respectivamente, à *S. cosmioides* de acordo com uma seleção prévia realizada por Boiça Júnior et al. (2015a). As plantas de soja foram cultivadas em vasos de polietileno de 3 L de volume, contendo substrato à base de solo (latossolo vermelho distrófico; Andrioli e Centurion 1999), areia e composto orgânico, na proporção de 2:1:1. As plantas foram acondicionadas em casa de vegetação vedada com tela antiafídeo até a utilização nos ensaios a fim de evitar qualquer tipo de estresse ambiental. Os vasos foram preenchidos com o substrato até 2cm abaixo da borda. A irrigação foi realizada sempre que necessário, e cada vaso recebeu quantidade uniforme de água (lâmina de 2 cm de altura), evitando variações entre as plantas.

2.4. Infestação artificial com lagartas de *Spodoptera cosmioides*

Em casa de vegetação, plantas de soja de ambos os genótipos em estágio vegetativo V3 (FHER; CAVINESS 1977) (aproximadamente 35 dias após a emergência), foram selecionadas e atribuídas ao acaso a um dos oito tratamentos. Em dois deles, plantas dos genótipos resistente e suscetível foram infestadas com uma lagarta de quinto ínstar de *S. cosmioides* no primeiro trifólio a partir da base das plantas, e confinadas em uma gaiola de tecido "voile" (10 x 15 cm) presa ao pecíolo com um clipe plástico (Figura 1a). As lagartas permaneceram nas plantas durante cerca de 20 h, período em que consumiram em média 50% de todo o trifólio onde foram confinadas (UNDERWOOD, 1998). As lagartas foram privadas de alimento por 3 h antes de serem infestadas nas plantas para assegurar que consumissem essa quantidade de tecido foliar no período de tempo previsto. Em seguida, as lagartas de *S. cosmioides* e as gaiolas foram removidas das plantas. As plantas utilizadas como

testemunhas (sem injúria) tiveram o primeiro trifólio a partir da base das plantas coberto apenas com gaiolas de tecido “voile”.

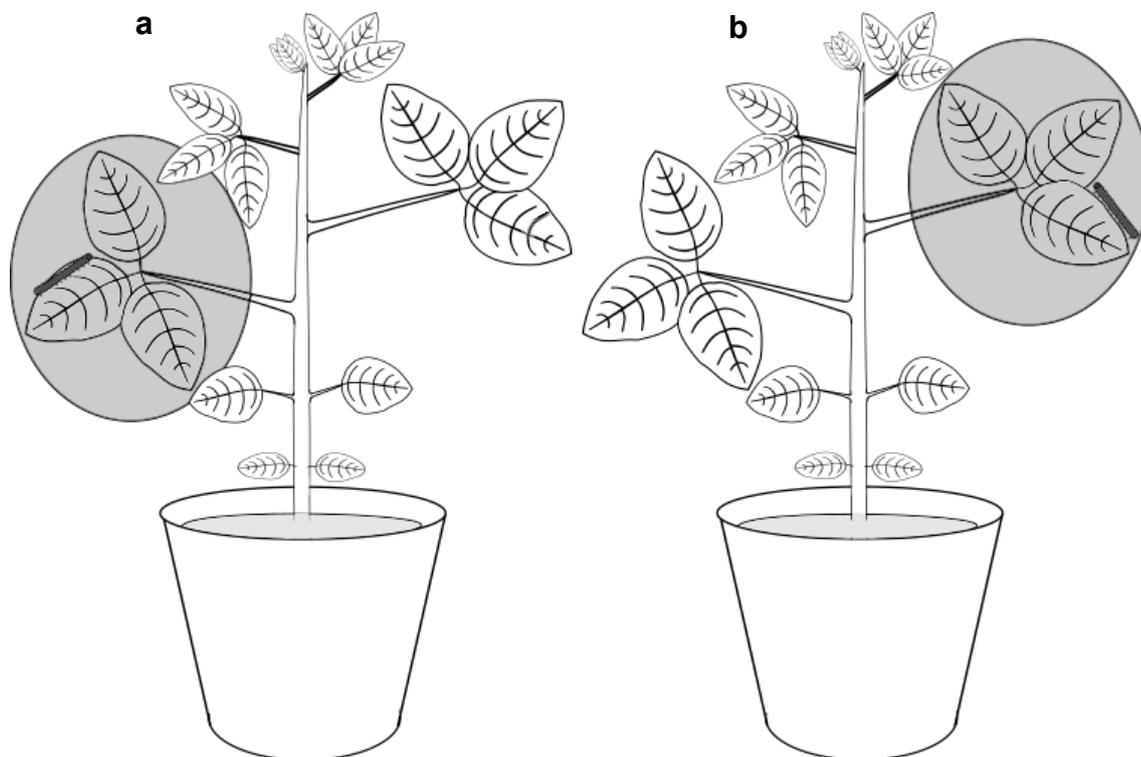


Figura 1. Representação ilustrativa de plantas de soja submetidas à herbivoria por lagartas de *Spodoptera cosmioides* em gaiolas de tecido “voile” no primeiro (a) e segundo trifólios (b) a partir da base das plantas.

Após três dias da remoção das lagartas das plantas, os dois folíolos simétricos do segundo trifólio a partir da base das plantas foram destacados, acondicionados em sacos plásticos identificados, e levados ao laboratório para realização dos ensaios. O período de três dias após a injúria foi escolhido com base nos resultados de Underwood (1998), como sendo o momento em que plantas injuriadas de soja apresentaram os maiores níveis de resistência induzida ao besouro-mexicano *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). Dos folíolos laterais coletados de cada trifólio, um foi oferecido às lagartas como folíolo inteiro e o outro como disco foliar em dois ensaios separados. O folíolo central dos trifólios de cada tratamento foi utilizado como alíquota no cálculo dos índices nutricionais. Os discos foliares foram preparados com o auxílio de um vazador de 2,5 cm de diâmetro, representando uma área foliar de 4,91 cm². Os folíolos inteiros tiveram a área foliar total quantificada pelo aparelho medidor de área foliar eletrônico LI-COR 3100A (LI-COR, Lincoln, NE, EUA). A área foliar média dos folíolos do trifólio superior do

genótipo PI227682 foi 11,78 cm² nas plantas injuriadas e 9,66 cm² nas plantas não injuriadas, e no genótipo Pionner 98Y11RR área foliar média foi 22,72 cm² nas plantas injuriadas e 25,14 cm² nas plantas não injuriadas.

Em outros dois tratamentos, representando plantas dos genótipos resistente e suscetível, uma lagarta de quinto ínstar de *S. cosmioides* foi infestada no segundo trifólio a partir da base da planta e confinada em uma gaiola de tecido “voile” (Figura 1b), como descrito previamente com exceção da posição foliar na planta. As plantas utilizadas como testemunhas (sem injúria) tiveram o segundo trifólio a partir da base das plantas revestido com a gaiola de “voile”, sem a infestação das lagartas. Após três dias da remoção das lagartas das plantas de soja, os dois folíolos simétricos do primeiro trifólio foram destacados da planta, acondicionados em sacos plásticos identificados, e levados ao laboratório para a realização dos ensaios. Dos dois folíolos coletados, um foi oferecido como folíolo inteiro e outro como disco foliar (2,5 cm de diâmetro). O folíolo central dos trifólios de cada tratamento foi utilizado como alíquota no cálculo dos índices nutricionais. Os folíolos inteiros tiveram a área foliar total quantificada por um aparelho medidor de área foliar eletrônico LI-COR 3100A (LI-COR, Lincoln, NE, EUA). A área foliar média dos folíolos do primeiro trifólio do genótipo PI227682 foi 10,11 cm² nas plantas injuriadas e 8,28 cm² nas plantas não injuriadas, e no genótipo Pionner 98Y11RR a área média foi 26,37 cm² nas plantas injuriadas e 21,63 cm² nas plantas não injuriadas.

2.5. Avaliação de índices nutricionais em lagartas de *Spodoptera cosmioides*

Os folíolos inteiros e discos foliares provenientes de diferentes posições nas plantas injuriadas e não injuriadas dos genótipos resistente e suscetível de soja foram preparados como previamente descrito. A área foliar dos folíolos inteiros foi quantificada por meio de um medidor de área foliar eletrônico, e em seguida os folíolos e discos foliares foram transferidos para placas de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido com água deionizada. Dos folíolos centrais retirados dos trifólios em cada tratamento, trinta foram utilizados como amostras adicionais por genótipo, pesados em balança analítica de precisão (Ohaus, Parsippany, NJ, EUA), e mantidos nas mesmas condições dos tratamentos para posteriormente serem

utilizadas como alíquotas do peso seco inicial para o cálculo do peso seco consumido dos índices nutricionais segundo metodologia de Waldbauer (1968).

Lagartas de terceiro ínstar de *S. cosmioides* foram coletadas da colônia de manutenção, privadas de alimentação por 3 h para limparem o trato intestinal, e pesadas em balança analítica de precisão. Em seguida, as lagartas foram transferidas individualmente com o auxílio de um pincel fino para as placas de Petri, onde permaneceram se alimentando por um dia nos tratamentos que utilizaram discos foliares, e durante dois dias nos tratamentos que utilizaram folíolos inteiros como substrato alimentar. Utilizaram-se tempos diferentes de alimentação para discos foliares (24 horas) e folíolos inteiros (48 horas) para adequar ao tempo necessário para que os tratamentos fossem consumidos em aproximadamente 80%. Os ensaios foram realizados em uma sala climatizada com as condições ambientais de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa, e 12:12 h de fotoperíodo (claro:escuro).

Após o término do ensaio, as lagartas, a sobra do alimento oferecido, e os folíolos/discos foliares separados como alíquotas foram secos em uma estufa (Odontobrás, modelo EL 1.4, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) a 60°C por 48 h até atingirem peso constante, e pesados em balança analítica. Esses valores baseados no peso seco foram utilizados para o cálculo dos seguintes índices nutricionais: taxa de consumo relativo (RCR), taxa de crescimento relativo (RGR), e eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) (WALDBAUER, 1968).

2.6. Análise estatística

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise exploratória para identificar possíveis valores outliers ou influentes, e analisados quanto à normalidade dos resíduos (teste de Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade das variâncias (teste de Levene). Quando necessário, os dados dos índices nutricionais foram transformados em $\log(x)$ para atender aos pressupostos da normalidade e homocedasticidade. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância fatorial (three-way ANOVA) para analisar os efeitos principais de genótipo (G), injúria (I), posição foliar (P), e a interação desses fatores (G x I; G x P; I x P; e G x I x P). Na ocasião de efeito significativo da ANOVA, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

3. Resultados

3.1. Disco foliar

Não foram observadas diferenças significativas para genótipo, injúria e posição foliar para a taxa de consumo relativo (RCR) (G, $F_{1, 56} = 2,51$; $P = 0,1189$; I, $F_{1, 56} = 0,49$; $P = 0,4878$; P, $F_{1, 56} = 1,58$; $P = 0,2136$) e taxa de crescimento relativo (RGR) (G, $F_{1, 56} = 2,19$; $P = 0,1447$; I, $F_{1, 56} = 0,00$; $P = 0,9547$; P, $F_{1, 56} = 0,1$; $P = 0,7499$) de lagartas de terceiro ínstar de *S. cosmioides* alimentadas com discos foliares de plantas de genótipos resistente e suscetível de soja submetidas ou não à herbivoria (Tabela 1). A eficiência de conversão de alimento ingerido (ECI) diferiu significativamente para a posição foliar ($F_{1, 56} = 6,84$; $P = 0,0115$). Não foram observadas diferenças significativas na eficiência de conversão do alimento ingerido para genótipo e injúria (G, $F_{1, 56} = 0,39$; $P = 0,5331$; I, $F_{1, 56} = 0,14$; $P = 0,7058$).

Houve efeito significativo da interação genótipo x injúria para a taxa de consumo relativo ($F_{1, 56} = 6,09$; $P = 0,0166$) de *S. cosmioides*, enquanto o efeito dessa interação não diferiu significativamente para a taxa de crescimento relativo ($F_{1, 56} = 0,06$; $P = 0,8034$) e eficiência de conversão de alimento ingerido ($F_{1, 56} = 0,04$; $P = 0,8433$) (Tabela 1). As interações genótipo x posição foliar e injúria x posição foliar foram significativas para a taxa de consumo relativo ($F_{1, 56} = 17,27$; $P = 0,0001$), taxa de crescimento relativo ($F_{1, 56} = 14,75$; $P = 0,0003$) e eficiência de conversão de alimento ingerido ($F_{1, 56} = 13,07$; $P = 0,0007$). Foram observadas diferenças significativas para as interações injúria x posição foliar para a taxa de consumo relativo ($F_{1, 56} = 15,63$; $P = 0,0002$), taxa de crescimento relativo ($F_{1, 56} = 5,64$; $P = 0,021$), e eficiência de conversão de alimento ingerido ($F_{1, 56} = 14,34$; $P = 0,0004$). A interação genótipo x injúria x posição foliar não afetaram significativamente as variáveis avaliadas.

Tabela 1. Resultados da ANOVA para os efeitos de genótipo, injúria, e posição foliar nos parâmetros biológicos/nutricionais de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com discos foliares e folíolos inteiros.

Fontes de variação	Índices Nutricionais					
	RCR		RGR		ECI	
	F	P	F	P	F	P
<i>Disco foliar</i>						
Genótipo (G)	2,51	0,1189	2,19	0,1447	0,39	0,5331
Injúria (I)	0,49	0,4878	0	0,9547	0,14	0,7058
Posição (P)	1,58	0,2136	0,10	0,7499	6,84*	0,0115
G x I	6,09*	0,0166	0,06	0,8034	0,04	0,8433
G x P	17,27***	0,0001	14,75**	0,0003	13,07**	0,0007
I x P	15,63**	0,0002	5,64*	0,021	14,34**	0,0004
G x I x P	0,02	0,8807	0,87	0,3539	1,40	0,2417
<i>Folíolo inteiro</i>						
Genótipo (G)	7,36**	0,0088	38,18***	<0,0001	25,13***	0,0001
Injúria (I)	3,53	0,0654	1,23	0,2728	1,92	0,1718
Posição (P)	0,23	0,6333	0,05	0,8214	4,58*	0,0368
G x I	5,31*	0,0250	1,75	0,1918	0,59	0,4462
G x P	6,48*	0,0137	0,85	0,3611	1,21	0,2768
I x P	7,39**	0,0087	2,44	0,1241	0,00	0,9675
G x I x P	2,53	0,1172	1,82	0,1831	0,53	0,4701

Taxa de consumo relativo (RCR); taxa de crescimento relativo (RGR); eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI). Médias significativamente diferentes pelo teste de Tukey. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.0001$.

Não houve diferença significativa na RCR entre plantas do genótipo resistente injuriadas e não injuriadas por lagartas de *S. cosmioides* (Figura 2), ou entre plantas injuriadas e não injuriadas do genótipo suscetível. Entretanto, quando comparadas apenas as plantas injuriadas entre os genótipos, a RCR foi significativamente menor no genótipo resistente, enquanto entre plantas não injuriadas os genótipos foram igualmente consumidos.

Plantas de soja do genótipo resistente proporcionaram a mesma RCR em lagartas de *S. cosmioides* alimentadas com discos foliares coletados dos trifólios superior e inferior. Em plantas do genótipo suscetível, observa-se diferença significativa em relação à posição foliar; lagartas alimentadas com discos do trifólio superior das plantas obtiveram maior RCR que lagartas alimentadas com discos foliares do trifólio inferior (Figura 3). Diferença significativa também foi observada entre plantas de soja resistente e suscetível quando as lagartas de *S. cosmioides* foram

alimentadas com discos do trifólio superior; o genótipo resistente proporcionou menor RCR em lagartas de *S. cosmioides*, enquanto as lagartas que se alimentaram com discos foliares da parte inferior apresentaram a mesma RCR entre genótipos.

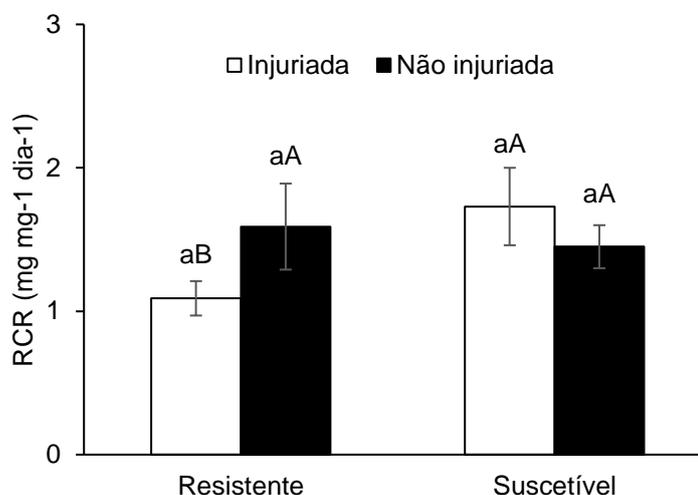


Figura 2. Taxa de consumo relativo (RCR) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas em discos foliares retirados de plantas resistentes e suscetíveis de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre plantas injuriadas e sem injúria em cada genótipo e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre genótipos para plantas injuriadas/sem injúria ($P < 0,05$).

Ainda em relação aos efeitos dependentes entre genótipo e posição foliar, observa-se que no genótipo resistente a menor RGR ocorreu em lagartas de *S. cosmioides* que foram alimentadas com discos foliares do trifólio superior (Figura 3); o mesmo não ocorreu para lagartas alimentadas com plantas suscetíveis, que não diferiram entre as posições foliares para a RGR, apesar de esse índice ter sido numericamente superior no trifólio superior. Os discos foliares da posição superior das plantas promoveram menores RGR em lagartas de *S. cosmioides* alimentadas em plantas resistentes do que aquelas alimentadas em plantas suscetíveis.

A eficiência de conversão de alimento ingerido (Figura 3) diferiu entre posições foliares nas plantas resistentes. Lagartas alimentadas com discos foliares do trifólio superior tiveram menores ECI do que lagartas alimentadas com discos do trifólio inferior. Não houve diferença na ECI entre lagartas alimentadas das partes superior e inferior de plantas suscetíveis.

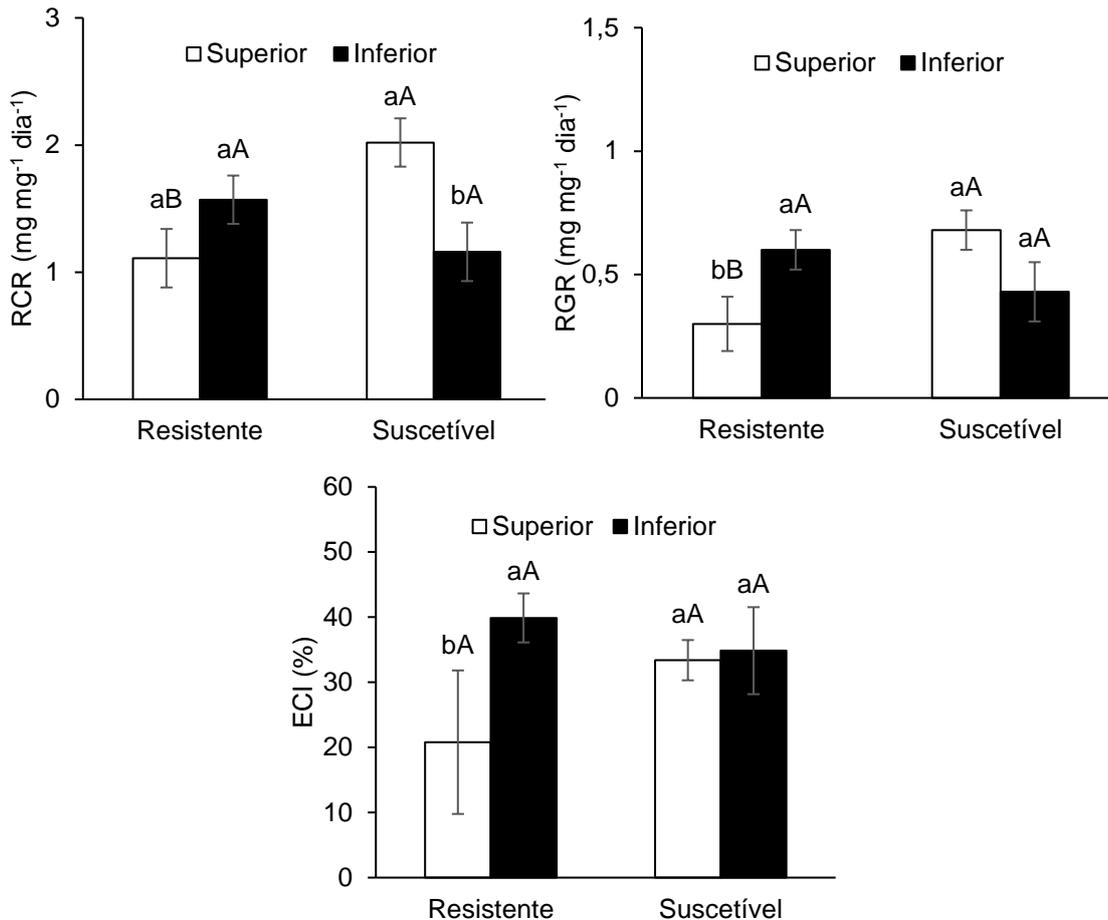


Figura 3. Taxa de consumo relativo (RCR), taxa de crescimento relativo (RGR), e eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com discos foliares das posições superior e inferior de plantas de genótipos resistente e suscetível de soja. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as partes superior e inferior em cada genótipo e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre genótipos para a mesma parte da planta ($P < 0,05$).

Diferenças significativas não foram observadas para a RCR entre plantas de soja injuriadas no trifólio superior ou inferior; entretanto, lagartas de *S. cosmioides* tiveram maior RCR quando alimentadas com discos foliares do trifólio superior de plantas não injuriadas do que com discos coletados do trifólio inferior (Figura 4). A taxa de crescimento relativo (RGR) não diferiu significativamente entre lagartas alimentadas nos trifólios superior e inferior em plantas injuriadas ou sem injúria (Figura 4).

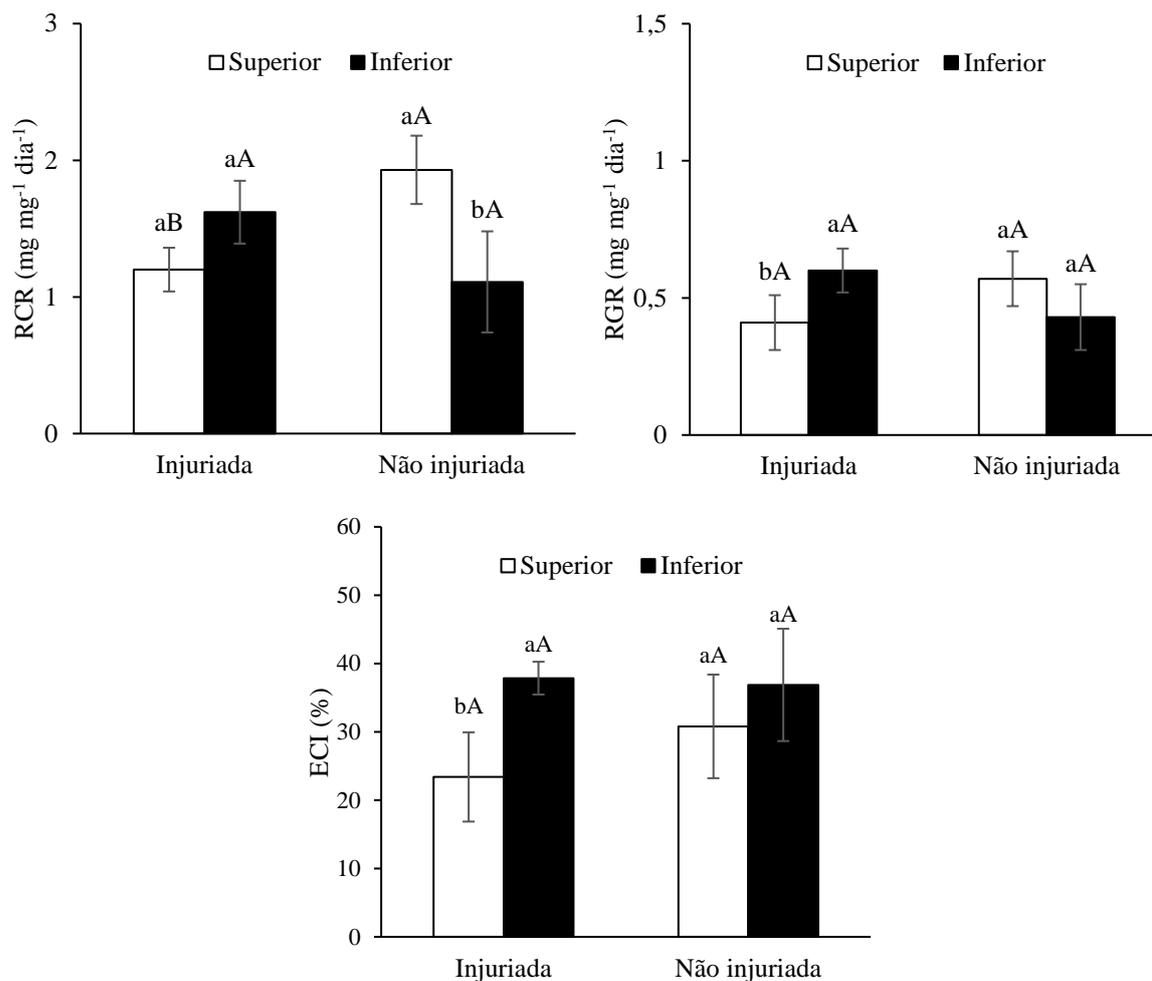


Figura 4. Taxa de consumo relativo (RCR), taxa de crescimento relativo (RGR), e eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com discos foliares das posições superior e inferior de plantas de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as partes superior e inferior de plantas injuriadas/sem injúria e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre plantas injuriadas/sem injúria para a mesma parte da planta ($P < 0,05$).

Por outro lado, observa-se que as lagartas alimentadas com discos do trifólio superior de plantas injuriadas tiveram a RGR negativamente afetada em comparação às lagartas alimentadas em discos coletados do trifólio inferior (Figura 4). Nas plantas não injuriadas, não houve diferença na RGR entre posições foliares.

Verificou-se diferença significativa na ECI em *S. cosmioides* para a interação injúria x posição foliar (Figura 4). Lagartas alimentadas com discos do trifólio superior

de plantas injuriadas apresentaram menores ECI do que lagartas alimentadas com discos coletados do trifólio inferior. O mesmo efeito não foi observado em plantas não injuriadas, onde as lagartas alimentadas com discos de ambos os trifólios (superior e inferior) tiveram a mesma ECI. Portanto, é possível afirmar que apenas o genótipo PI 227682 expressou resistência induzida após herbivoria, e os efeitos negativos da indução de resistência sobre *S. cosmioides* ocorreu de forma sistêmica no trifólio da porção apical da planta quando a injúria ocorreu no trifólio inferior.

3.2. Folíolo inteiro

Houve diferenças significativas para o efeito de genótipo na RCR ($F_{1, 56} = 7,36$; $P = 0,0088$), RGR ($F_{1, 56} = 38,18$; $P = 0,0001$), e ECI ($F_{1, 56} = 25,13$; $P = 0,0001$) e posição para ECI ($F_{1, 56} = 4,58$; $P = 0,0368$) em lagartas de terceiro ínstar de *S. cosmioides* alimentadas em folíolos inteiros de genótipos resistente e suscetível de soja (Tabela 1). Diferenças também foram observadas para o efeito da posição na ECI ($F_{1,56} = 4,58$; $P = 0,0368$). Os efeitos principais de injúria não foram significativos em relação a RCR ($F_{1, 56} = 3,53$; $P = 0,0654$), RGR ($F_{1, 56} = 1,23$; $P = 0,2728$), e ECI ($F_{1, 56} = 1,92$; $P = 0,1718$) e posição foliar para RCR ($F_{1, 56} = 0,23$; $P = 0,6333$) e RGR ($F_{1, 56} = 0,05$; $P = 0,8214$).

Os efeitos de genótipo e injúria foram significativamente dependentes para a RCR ($F_{1, 56} = 5,31$; $P = 0,025$) de lagartas de *S. cosmioides*. Por outro lado, a RGR ($F_{1, 56} = 1,75$; $P = 0,1918$) e ECI ($F_{1, 56} = 0,59$; $P = 0,4462$) não foram influenciadas pela interação genótipo x injúria (Tabela 1). A interação genótipo x posição foliar apresentou efeito significativo apenas na RCR ($F_{1, 56} = 6,48$; $P = 0,0137$), enquanto a RGR ($F_{1, 56} = 0,85$; $P = 0,3611$) e ECI ($F_{1, 56} = 1,21$; $P = 0,2768$) não foram significativamente afetadas pelos efeitos dependentes entre genótipo e posição foliar. A interação injúria x posição foliar apresentou diferença significativa para RCR ($F_{1, 56} = 7,39$; $P = 0,0087$). A RGR ($F_{1, 56} = 2,44$; $P = 0,1241$) e ECI ($F_{1, 56} = 0,00$; $P = 0,9675$) em lagartas de *S. cosmioides* alimentadas em plantas de soja resistentes e suscetíveis não foram significativamente afetadas pelos efeitos de injúria x posição foliar. A interação genótipo x injúria x posição foliar não foi significativa para nenhuma das variáveis.

As plantas do genótipo resistente submetidas à herbivoria proporcionaram menores RCR em lagartas de *S. cosmioides* do que plantas não injuriadas (Figura 5).

Em contrapartida, lagartas que consumiram folíolos do genótipo suscetível tiveram RCR semelhantes entre plantas injuriadas e não injuriadas.

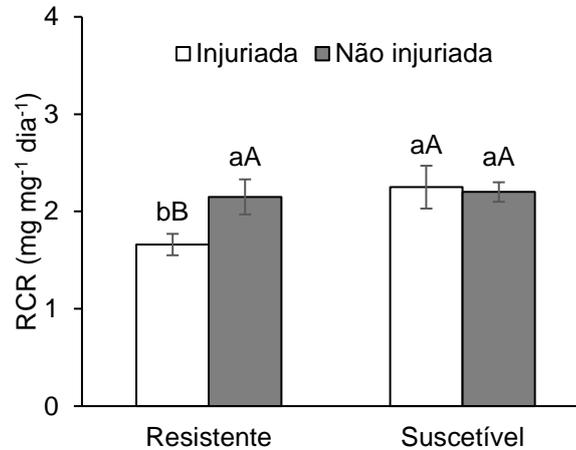


Figura 5. Taxa de crescimento relativo (RCR) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros de plantas de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre plantas injuriadas e sem injúria em cada genótipo e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre genótipos para plantas injuriadas/sem injúria ($P < 0,05$).

Lagartas de *S. cosmioides* apresentaram menores RCR (Figura 6) quando alimentadas com folíolos da parte superior de plantas do genótipo resistente do que lagartas alimentadas com folíolos da parte superior do genótipo suscetível. Lagartas que consumiram o folíolo inferior tiveram a mesma RCR entre plantas resistentes e suscetíveis. Em ambos os genótipos, não houve diferença significativa para a RCR em lagartas que consumiram folíolos da parte superior e inferior.

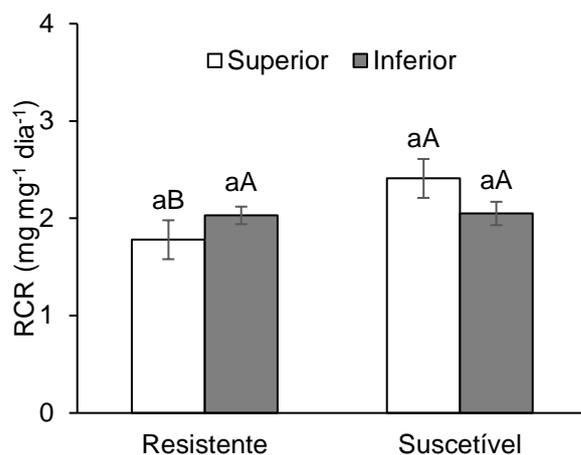


Figura 6. Taxa de consumo relativo (RCR) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros das posições superior e inferior de plantas de genótipos resistente e suscetível de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as partes superior e inferior em cada genótipo e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre genótipos para a mesma parte da planta ($P < 0,05$).

Em plantas injuriadas, não foram verificadas diferenças significativas para RCR em lagartas que consumiram folíolos coletados do trifólio superior do que em lagartas que se alimentaram de folíolos do trifólio da parte inferior das plantas (Figura 7).

Nas plantas não injuriadas, não houve diferença para a RCR entre lagartas que consumiram folíolos da parte superior e inferior. Menores RCR foram observadas em lagartas de *S. cosmioides* alimentadas no folíolo superior de plantas injuriadas em relação às lagartas alimentadas no folíolo superior de plantas não injuriadas.

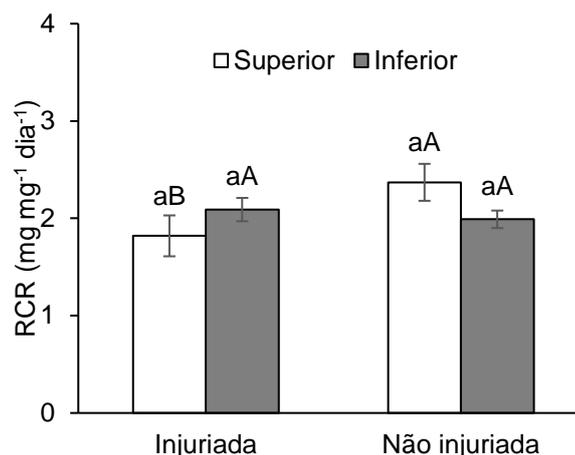


Figura 7. Taxa de consumo relativo (RCR) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros das posições superior e inferior de plantas de soja submetidas ou não à herbivoria. Barras com diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as partes superior e inferior de plantas injuriadas/sem injúria e com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre plantas injuriadas/sem injúria para a mesma parte da planta ($P < 0,05$).

Verificou-se diferença quanto a RGR apenas entre os genótipos (Figura 8), não havendo efeito significativo para as interações genótipo, injúria e posição. Lagartas de *S. cosmioides* alimentadas em plantas do genótipo resistente foram afetadas negativamente quanto à RGR em relação às lagartas alimentadas em plantas do genótipo suscetível.

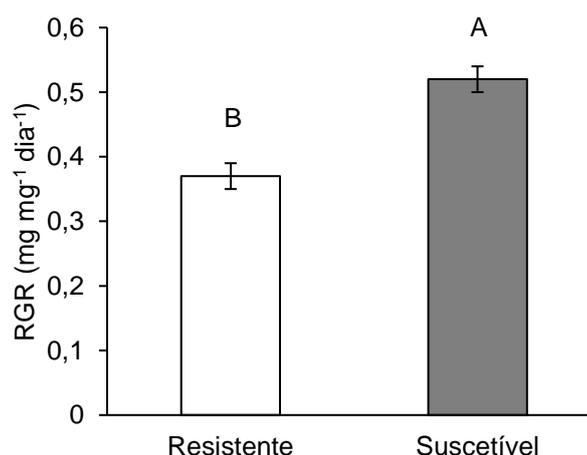


Figura 8. Taxa de crescimento relativo (RGR) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros de plantas de genótipos resistente e suscetível de soja. Barras com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os genótipos resistente e suscetível ($P < 0,05$).

Com relação a ECI (Figura 9), diferenças significativas foram observadas entre os genótipos e posição de injúria. Lagartas alimentadas no genótipo resistente tiveram menor porcentagem de ECI em relação às lagartas alimentadas em folhas do genótipo suscetível.

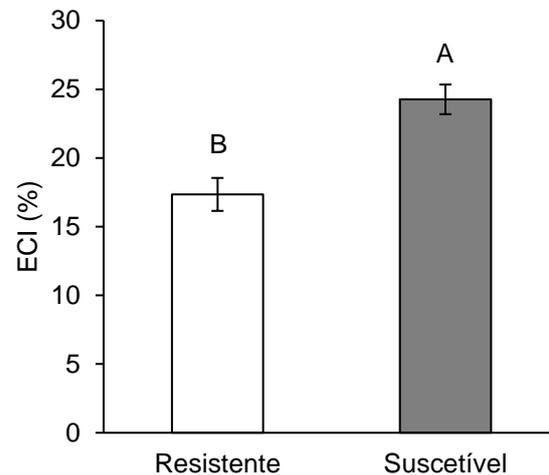


Figura 9. Eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros dos genótipos resistente e suscetível de soja. Barras com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os genótipos resistente e suscetível ($P < 0,05$).

Além disso, observa-se que as lagartas alimentadas em folíolos retirados da parte superior nos genótipos resistente e suscetível apresentaram menor ECI em relação às lagartas que consumiram folíolos da parte inferior de ambos os genótipos (Figura 10).

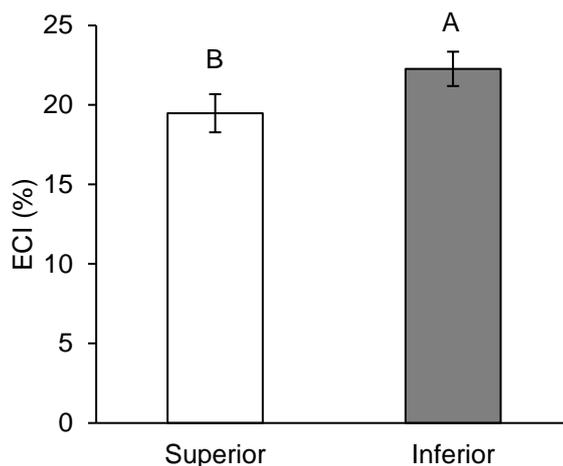


Figura 10. Eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) de lagartas de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com folíolos inteiros retirados das partes superior e inferior dos genótipos resistente e suscetível de soja. Barras com diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os genótipos resistente e suscetível ($P < 0,05$).

4. Discussão

Este estudo demonstrou de forma consistente que, além dos efeitos induzidos pela injúria de lagartas de *S. cosmioides*, fatores intrínsecos às plantas de soja como o genótipo (resistente ou suscetível) e a posição da folha na planta (parte superior ou inferior) afetam substancialmente os níveis de resistência (antixenose/antibiose). Também ficou evidente que o uso de diferentes métodos de oferecimento do substrato alimentar (discos foliares ou folíolos inteiros) aos insetos pode resultar em ligeiras variações nas respostas obtidas. Tais resultados contribuem para o entendimento da alocação das defesas constitutivas e induzidas em plantas de soja ao ataque de lagartas desfolhadoras de uma espécie altamente polífaga, além de apontarem possíveis implicações que esses fatores podem proporcionar nas interações planta-inseto em um agroecossistema.

Foi demonstrado que folhas de plantas injuriadas do genótipo resistente afetaram consideravelmente a taxa de consumo larval (RCR) de *S. cosmioides* em relação às lagartas alimentadas com folhas de plantas não injuriadas; porém, a RCR não foi afetada em plantas injuriadas do genótipo suscetível. As lagartas que foram

desenvolvidas em ambos os genótipos sem injúria demonstraram similares taxas de consumo relativo. Portanto, pode-se inferir que as plantas de soja com características de resistência constitutiva (PI 227682) também expressaram resistência induzida a *S. cosmioides* quando infestadas com lagartas conspécificas. Interessantemente, o mesmo não foi observado para as plantas constitutivamente suscetíveis (Pionner 98Y11RR), que não apresentaram respostas induzidas por herbivoria.

Alguns trabalhos já relataram a ocorrência de indução de resistência em plantas de soja injuriadas por algumas espécies de artrópodes, com destaque para *Crysoideixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), *E. varivestis* (LIN; KOGAN 1990), *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) (BROWN et al., 1991), *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) (BI et al., 1994; FELTON et al., 1994), e *A. gemmatalis* (FORTUNATO et al., 2007). Em alguns casos, plantas constitutivamente suscetíveis manifestaram respostas induzidas quando submetidas à herbivoria; por exemplo, Underwood (1998), ao avaliar quatro genótipos de soja constitutivamente suscetíveis ao besouro-mexicano *E. varivestis*, observou que todos os genótipos apresentaram resistência induzida após injúria por larvas do besouro-mexicano.

Dois genótipos de soja constitutivamente suscetíveis a *Cerotoma trifurcata* (Foster) (Coleoptera: Chrysomelidae) apresentaram resistência induzida aos adultos, não diferindo do genótipo constitutivamente resistente (SRINIVAS; DANIELSON, 2001). Underwood et al. (2000) concluíram que não há uma correlação positiva entre a resistência constitutiva e resistência induzida em genótipos de soja a *E. varivestis*, diferindo dos achados do presente estudo onde apenas o genótipo com resistência constitutiva expressou resistência induzida a *S. cosmioides*. Divergentes resultados apontando correlações significativas positivas, negativas, ou mesmo sem qualquer correlação entre resistência constitutiva e induzida já foram relatadas (KARBAN; BALDWIN, 1997).

A posição foliar influenciou as taxas de consumo (RCR) e crescimento (RGR) de lagartas de *S. cosmioides* em plantas de soja de ambos os genótipos. As lagartas apresentaram maior consumo foliar e ganho de peso em folhas da parte superior (trifólio superior) de plantas injuriadas e não injuriadas do genótipo suscetível P98Y11RR em relação às lagartas alimentadas na parte inferior (trifólio inferior). Segundo Smith (2005), geralmente as folhas jovens são mais preferidas para a alimentação de artrópodes do que as folhas mais velhas. Na cultura da soja, folíolos

mais jovens e mais suculentos de folhas mais próximas ao ápice são preferidos por *H. zea* e *T. urticae* em relação as folhas da parte inferior das plantas (MCWILLIAMS; BELAND, 1977; RODRIGUEZ et al., 1983). Folhas totalmente expandidas dos dois primeiros trifólios do ápice das plantas do genótipo resistente são menos resistentes a *C. includens* do que folhas da parte inferior (REYNOLDS; SMITH, 1985). Nault et al. (1992) confirmaram essa tendência em folhas de genótipos resistentes de soja a *H. zea* e a *A. gemmatalis*. Diferentes partes das plantas podem diferir quanto à composição nutricional.

Os diferentes tecidos vegetais variam consideravelmente no balanço de aminoácidos e conteúdo total de nitrogênio; folhas mais velhas normalmente apresentam baixas concentrações de nitrogênio, enquanto folhas mais novas e próximas ao ápice das plantas, tendem a ter maiores concentrações de nitrogênio (WALDBAUER; FRIEDMAN, 1991; BEHMER, 2009).

O nitrogênio presente nas plantas é um dos principais componentes dos aminoácidos necessários para a dieta dos insetos (PARRA, 1990), sendo imprescindível para seu crescimento e reprodução (ELDEN; KENWORTHY, 1994). Rose et al. (1998) relacionaram a resistência em plantas de soja com o maior acúmulo de aleloquímicos em tecidos de folhas mais velhas e a deterrência alimentar a artrópodes. Souza (2014) também observou efeito negativo no desenvolvimento de lagartas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* quando alimentadas na parte inferior de plantas dos genótipos PI 227687 e IGRA RA 626 RR; as folhas da parte inferior apresentaram menores concentrações dos nutrientes N, P, K, S e Cu, e maiores teores dos flavonoides rutina, isoquercetrina, daidzina, daidzeína e hesperidina, ao contrário das folhas da parte superior das plantas, que apresentaram maiores concentrações de nutrientes e menores de flavonoides. Os flavonoides são compostos de polifenóis que estão presentes em várias espécies vegetais (HARBORNE, 1967), e desempenham papel de defesa a insetos-pragas entre suas principais funções para a planta (HARBORNE; WILLIAMS, 2000; SIMMONDS, 2001; SIMMONDS, 2003).

A injúria causada por *S. cosmioides* no genótipo PI227682 proporcionou resposta induzida às lagartas que foram alimentadas nas folhas da parte superior das plantas, resultando em menores taxas de consumo e crescimento, além de menor eficiência de conversão do alimento ingerido em ganho de biomassa do que lagartas criadas com folhas da parte inferior. Todavia, as lagartas alimentadas nas folhas da parte inferior do genótipo PI 227682 tiveram taxas de consumo, crescimento e

eficiência de conversão do alimento ingerido semelhantes entre plantas injuriadas e não injuriadas. Isso demonstra dois fenômenos interessantes: apenas o genótipo PI 227682 apresenta capacidade de indução após injúria por *S. cosmioides*, e essas defesas são alocadas para as folhas mais novas do ápice das plantas, inicialmente mais preferidas e adequadas para a alimentação e crescimento larval.

As defesas induzidas são produzidas principalmente no local e próximo aos tecidos injuriados por herbívoros (resposta local), e em seguida as defesas também podem ocorrer em tecidos distantes e diretamente não injuriados da planta (resposta sistêmica) (HOWE; SCHALLER, 2008; HAMMERSCHMIDT, 2014). Entre as respostas induzidas aos herbívoros estão a expressão de genes envolvidos na síntese de flavonoides, alcaloides, terpenos, e outros compostos de defesa, além de genes envolvidos na reparação de danos, incluindo calose sintases e peroxidases (SCHALLER, 2008; KANT; WILLIAMS 2013). A injúria também induz à acumulação de proteínas ou demais compostos com propriedades anti-nutritivas, incluindo inibidores de proteinase que interferem em enzimas proteolíticas intestinais das quais os herbívoros necessitam para o processo de absorção de nutrientes (KANT; WILLIAMS 2013).

Vários trabalhos observaram que o aumento da atividade das enzimas oxidativas peroxidase e polifenol oxidase está relacionado com a resistência induzida a lagartas de lepidopteros (FELTON et al., 1989; 1992; 1994; SOUZA, 2014). Essas enzimas são responsáveis por catalisar a oxidação de compostos fenólicos para quinonas, as quais são tóxicas para microrganismos e insetos (STOUT et al., 1994). Embora o presente trabalho não tenha avaliado compostos químicos que sirvam como indicativos do aumento da resistência nas folhas da parte superior das plantas do genótipo PI 227682, um estudo complementar avaliará a concentração de alguns compostos candidatos a proporcionar tais respostas, incluindo enzimas oxidativas, inibidores de proteinase, flavonoides, ou mesmo o desbalanço nutricional entre as folhas.

O substrato oferecido como disco foliar permitiu melhor distinção da resposta induzida em plantas de soja infestadas por lagartas de *S. cosmioides*, diferentemente do folíolo oferecido inteiro, no qual a resistência induzida foi menos pronunciada e influenciou menos parâmetros biológicos/nutricionais do inseto; utilizando-se folíolos inteiros não foi possível verificar os efeitos significativos da injúria sobre a taxa de

crescimento larval e eficiência de conversão de alimento ingerido proporcionados pelo uso de discos foliares.

Compostos secundários presentes nas plantas geralmente ficam acumulados separadamente do citoplasma da célula (como em vacúolos, parede celular, células da epiderme, etc.) à medida que são produzidos pelos diversos processos metabólicos durante o desenvolvimento vegetal (PANDA; KHUSH 1995). Na preparação dos discos foliares com o vazador, possivelmente ocorre a ruptura de células ou organelas que armazenam os compostos secundários, resultando na sua liberação e conseqüentemente maior exposição aos insetos durante o ensaio (BOIÇA JÚNIOR et al., 2015b). Os efeitos devem ser menos pronunciados com folíolos inteiros pelo fato de as lagartas terem que primeiramente romper as estruturas que armazenam os compostos secundários para então entrar em contato com os mesmos. Desse modo, é bem provável que os melhores resultados obtidos com discos foliares para distinguir a resistência induzida tenham ocorrido em função da maior e mais rápida exposição dos compostos secundários às lagartas de *S. cosmioides* durante o ensaio, principalmente considerando o genótipo resistente PI 227682.

Ambos os usos de discos foliares e folíolos inteiros são comuns em estudos de resistência de plantas, porém, variações nas respostas podem ocorrer entre os métodos em função da espécie da planta e/ou inseto. Huang et al. (2003) verificaram que maiores níveis de resistência constitutiva em genótipos de alface a *Diabrotica balteata* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae) foram observados utilizando folhas intactas em relação às folhas excisadas das plantas. Além disso, quando o genótipo resistente foi oferecido como disco foliar a resistência constitutiva não foi expressa (HUANG et al., 2003). Boiça Júnior et al. (2015b) avaliaram a preferência alimentar de lagartas de *A. gemmatilis* utilizando genótipos resistente e suscetível de soja oferecidos como discos foliares e folíolos inteiros, e verificaram que maiores diferenças no consumo foliar entre genótipos ocorreram com discos foliares. Os autores também observaram que o genótipo suscetível foi mais consumido quando oferecido como disco foliar do que folíolo inteiro. Em um estudo avaliando a resistência induzida em genótipos de soja ao besouro-mexicano *E. varivestis*, foi possível observar os efeitos proporcionados pela injúria com larvas de *E. varivestis* em subsequentes testes de preferência alimentar utilizando discos foliares (UNDERWOOD, 1998). Resultados diferentes dos encontrados no presente trabalho foram verificados por Lin e Kogan (1990), que verificaram a expressão de resistência

induzida em plantas de soja injuriadas por *C. includens* utilizando folíolos intactos. Lagartas de *H. zea* também tiveram o ganho de peso afetado em genótipos de soja injuriados por lagartas conspecíficas utilizando folíolos inteiros (Bl et al., 1994). Esses variáveis resultados reportados na literatura reiteram a importância de se conhecer todos os fatores que podem influenciar a resistência nos diversos sistemas planta-inseto (BOIÇA JÚNIOR et al., 2015b).

Os resultados encontrados nesse trabalho quanto às respostas induzidas por herbivoria estão de acordo com a teoria da ótima defesa (MCKEY, 1979). Essa teoria prediz que as defesas apresentam um custo de investimento para a planta, e que folhas mais novas possuem mais mecanismos de defesa que folhas mais velhas devido à importância dos diferentes tecidos para o crescimento vegetal e probabilidade de ataques por insetos fitófagos. Portanto, o valor de um tecido para a planta pode ser determinado através da redução do vigor ou “fitness” resultante da perda desse tecido.

Resultados obtidos em outros trabalhos corroboram essa pressuposição da teoria da ótima defesa (STAMP, 2003). Em plantas de *Brassica juncea*, a alocação do sistema de defesa glicosinolatos-mirosinases nos cotilédones segue modelo da defesa ótima quanto ao investimento de defesas para os tecidos em função do seu valor para o “fitness” da planta (WALLACE; EIGENBRODE, 2002). Durante os períodos em que os cotilédones são essenciais para o crescimento vegetal, a atividade das enzimas mirosinases e as concentrações de compostos secundários do grupo dos glicosinolatos foram mais elevadas, enquanto os níveis das defesas diminuem quando a importância dos cotilédones para o crescimento vegetal também diminui. O fato de plantas de soja apresentarem características de inducibilidade e variação nos níveis de defesa intra-planta, pressupostos da teoria da defesa ótima (STAMP, 2003), torna essa espécie uma planta-modelo ideal para investigar detalhadamente o padrão de alocação das defesas a insetos especialistas e generalistas.

Sob uma perspectiva ecológica, os efeitos induzidos por herbivoria principalmente nas folhas novas das plantas de soja sugerem que a distribuição vertical de lagartas de *S. cosmioides* pode ser possivelmente alterada em um agroecossistema. A indução de resistência também poderia afetar a dinâmica populacional de outras espécies de artrópodes fitófagos que compartilham o mesmo ou diferentes nichos, com potenciais efeitos na competição intra e interespecífica. Em

culturas de interesse econômico, a resistência induzida apresenta entre outras vantagens a possibilidade de afetar os padrões de injúria nas plantas, e finalmente a dinâmica das populações. Há evidências de que, além da quantidade de alimento disponível, a resistência induzida decorrente de ataques por insetos afeta as características de desempenho e dinâmica populacional, tais como taxas de nascimento, crescimento e sobrevivência (KARBAN; BALDWIN, 1997; ABBOTT et al., 2008). A limitação dos recursos alimentares resulta em geral na dispersão do herbívoro, levando à repulsão co-específica sem os mecanismos de indução, enquanto na ocasião de indução de resistência os herbívoros apresentam comportamento de agregação (ANDERSON et al., 2015). Underwood et al. (2005) também verificaram o potencial de agregação de fitófagos em um estudo investigando interações planta-inseto. Portanto, a indução de resistência em genótipos de soja decorrente da injúria imposta por lagartas de *S. cosmioides* deve ser investigada em futuros trabalhos em casa de vegetação e subseqüentes ensaios em campo, buscando elucidar o seu papel na distribuição vertical de espécies que apresentam o mesmo ou diferentes nichos. Como consequência, tais modificação fisiológicas e realocação das defesas poderiam alterar os padrões de preferência alimentar na planta, resultando em competição intra e/ou interespecífica, o que também merece futura investigação.

Esse trabalho demonstra de forma consistente que a inducibilidade das defesas em soja à lagarta desfolhadora *S. cosmioides* é dependente do genótipo e posição foliar na planta. Também foi determinado que, ao se avaliar genótipos quanto à resistência constitutiva e induzida, o emprego de diferentes formas de oferecimento do substrato alimentar aos insetos pode resultar em variações nas respostas biológicas. Os resultados aqui encontrados sugerem que esses fatores intrínsecos das plantas e possíveis efeitos que podem ocasionar nos insetos devem ser levados em consideração ao categorizar uma planta quanto à resistência, visto a plasticidade fenotípica das plantas de soja e de outras espécies vegetais relatadas na literatura frente a agentes de estresse. Por fim, reitera-se a importância que as respostas induzidas por herbivoria podem exercer na regulação populacional de insetos fitófagos em um agroecossistema, instigando futuros estudos a investigarem a influência da resistência induzida sobre a distribuição e competição em populações de insetos que compartilham semelhantes e distintos nichos.

5. Referências

ABBOTT, K. C.; MORRIS, W. F.; GROSS, K. Simultaneous effects of food limitation and inducible resistance on herbivore population dynamics. **Theoretical Population Biology**, New York, v. 73, n. 1, p. 63–78, 2008.

AGRAWAL, A. A. Induced responses to herbivory and increased plant performance. **Science**, Washington, v. 279, n. 5354, p. 1201-1202, 1998.

ANDERSON, K. E.; INOUE, B. D.; UNDERWOOD, N. Can inducible resistance in plants cause herbivore aggregations? Spatial patterns in an inducible plant/herbivore model. **Ecology**, New York, v. 96, n. 10 p. 2758-2770, 2015.

ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p.1-4. BEHMER, S. Insect herbivore nutrient regulation. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 54, n. 1, p. 165-187, 2009.

BERNARDI, O.; SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; FOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania*, and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, Guildford, v. 58, n. 1, p. 33-40, 2014.

BI, J. L.; FELTON, G. W.; MUELLER, A. J. Induced resistance in soybean to *Helicoverpa zea*: role of plant protein quality. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 1, p. 183-198, 1994.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; BOTTEGA, D. B.; SOUZA, B. H. S.; RODRIGUES, N. E. L.; MICHELIN, V. Determinação dos tipos de resistência a *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 607-618, 2015a.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; SOUZA, B. H. S.; COSTA, E. N.; RIBEIRO, Z. A.; STOUT, M. J. Factors influencing expression of antixenosis in soybean to *Anticarsia gemmatilis* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economy Entomology**, Lanham, v. 108, n. 1, p. 317-325, 2015b.

BROWN, G. C.; NURDIN, F.; RODRIGUEZ, J. G.; HILDEBRAND, D. F. Inducible resistance of soybean (var 'Williams') to twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Journal of the Kansas Entomology Society**, Manhattan, v. 64, n. 4, p. 388-393, 1991.

BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J. R. P.; HOFFMANNCAMPO, C. B. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, n. 2, p. 170-174, 2011.

CARVALHO, R. A.; OMOTO, C.; FIELD, L. M.; WILLIAMSON, M. S.; BASS, C. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Plos One**, San Francisco, v.8, n. 4, 2013.

COLEY, P. D.; BARONE, J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, California, v. 27, n. 1, p. 305-335, 1996.

CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) (2010) **Technical Opinion Nº2542/2010-Commercial Release of Genetically Modified Insect-resistant and Herbicide-tolerant Soy Containing Genetically Modified Events MON 87701 and MON 89788**. Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15558.html>. Acesso em: 15 fev. 2016.

ELDEN, T. C.; KENWORTHY, W. J. Foliar nutrient concentrations of insect susceptible and resistant soybean germplasm. **Crop Protection**, Guildford, v. 34, n. 3, p. 695-699, 1994.

EL-WAKEIL, N. E.; VOLKMAR, C.; SALLAM, A. A. Jasmonic acid induces resistance to economically important insect pests in winter wheat. **Pest Management Science**, Sussex, v. 66, n. 5, p. 549-554, 2010.

FELTON, G. W.; BROADWAY, R. M.; DUFFEY, S. S. Inactivation of proteinase inhibitor activity by plant-derived quinones: complications for host-plant resistance against noctuid herbivores. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 35, n. 12, p. 981-990, 1989.

FELTON, G. W.; DONATO, K. K.; BROADWAY, R. M.; DUFFEY, S. S. Impact of oxidized plant phenolics on the nutritional quality of dietary protein to a noctuid herbivore. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 38, n. 4, p. 277-285, 1992.

FELTON, G. W.; SUMMERS, C. B.; MUELLER, A. J. Oxidative responses in soybean foliage to herbivory by bean leaf beetle and three-cornered alfalfa hopper. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 3, p. 639-649, 1994.

FHER, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report, 80).

FORTUNATO, F. S.; OLIVEIRA, M. G. A.; BRUMANO, M. H. N.; SILVA, C. H. O.; GUEDES, R. N. C.; MOREIRA, M. A. Lipoxygenase-induced defense of soybean varieties to the attack of the velvetbean caterpillar (*Anticarsia gemmatilis* Hübner). **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 80, n. 4, p. 241-247, 2007.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar. A rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 69, n. 4, p. 447-448, 1976.

HAMM, J. C.; STOUT, M. J.; RIGGIO, R. M. Herbivore- and elicitor-induced resistance in rice to the rice water weevil (*Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 2, p. 191-199, 2010.

HAMMERSCHMIDT, R. Introduction: Definitions and Some History. In: WALTERS, D. R.; NEWTON, A. C.; LYON, G. D. (Ed). **Induced Resistance for Plant Defense: A Sustainable Approach to Crop Protection**, 2. ed. John Wiley & Sons, New Jersey, 2014, p. 1-10.

HARBORNE, J. B. **Comparative biochemistry of the flavonoids**. London: Academic Press, 1967. 249 p.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, New York, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HOWE, G. A.; SCHALLER, A. Direct Defenses in Plants and Their Induction by Wounding and Insect Herbivores. In: SCHALLER, A. (Ed). **Induced plant resistance to herbivory**. Springer, Heidelberg, 2008, p. 7-30.

HUANG, J.; NUCESSLY, G. S.; MCAUSLANE, H. J.; NAGATA, R. T. Effects of screening methods on expression of romaine lettuce resistance to adult banded cucumber beetle, *Diabrotica balteata* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 86, n. 2, p. 194-198, 2003.

KANT, M. R.; WILLIAMS, M. Plants and Arthropods: Friends or Foes? **The Plant Cell**. doi: 10.1105/tpc.111.tt0811, 2013.

KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induced responses to herbivory**. Chicago: University of Chicago Press, 1997. 330 p.

LIN, H.; KOGAN, M. Influence of induced resistance in soybean on the development and nutrition of the soybean looper and the Mexican bean beetle. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 131-138, 1990.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT**: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Brasília: MAPA, 2016. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 16 abr. 2016.

MCKEY, D. The distribution of secondary metabolites within plants. In: ROSENTHAL, G. A.; JANSEN, D. H. (Eds.). **Herbivores**: their interaction with secondary plant metabolites. New York: Academic Press, 1979. p. 55-133.

MCWILLIAMS, J. M.; BELAND, G. L. Bollworm: effect of soybean leaf age and pod maturity on development in laboratory. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 70, p. 214-216, 1977.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja**: manejo integrado de insetos e outros artrópodes praga. Brasília: Embrapa, 2012. p. 213-334.

NAULT, B. A.; ALL, J. N.; BOERMA, H. R. Resistance in vegetative and reproductive stages of a soybean breeding line to three defoliating pests (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economy Entomology**, Lanham, 85, n. 4, p. 1507–1515, 1992.

PANDA, N.; KUSH, G. S. **Host plant resistance to insects**. Wallingford, CAB International, 1995, p. 431.

PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo, Manole/CNPq, 2008, p 9-65.

REYNOLDS, G. W.; SMITH, C. M. Effects of leaf position, leaf wounding, and plant age of two soybean genotypes on soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) growth. **Environmental Entomology**, College Park, v. 14, n. 4, p. 475-478, 1985.

RODRIGUEZ, J. G.; REICOSKY, D. A.; PATTERSON, C. G. Soybean and mite interactions: Effects of cultivar and plant growth stage. **Journal of the Kansas Entomological Society**, Manhattan, v 56, n. 3, p. 320-326, 1983.

ROSE, R. L.; SPARKS, T. C.; SMITH, C. M. Insecticide toxicity to larvae of *Pseudoplusia includens* (Walker) and *Anticarsia gemmatilis* (Hubner) (Lepidoptera) as influenced by feeding on resistant soybean (PI227687) leaves and coumestrol. **Journal of Economy Entomology**, Lanham, v. 81, n. 5, p.1288–1294, 1998.

SANTOS, K. B.; MENEGUIM, A. M.; NEVES, P. M. O. J. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 903-910, 2005.

SANTOS, K. B.; NEVES, P. J.; MENEGUIM, A. M.; SANTOS, R. B.; SANTOS, W. J.; VILLAS BOAS, G.; DUMAS, V.; MARTINS, E.; PRAÇA, L. B.; QUEIROZ, P.; BERRY, C.; MONNERAT, R. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmiodes* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, Orlando, v. 50, n. 2, p. 157-163, 2009.

SCHALLER, A. **Induced plant resistance to herbivory**. Springer, Heidelberg, 2008, p. 7-30.

SIMMONDS, M. S. J. Flavonoid insect-interactions: recent advances in our knowledge. **Phytochemistry**, New York, v. 64, n. 1, p. 21-30, 2003.

SIMMONDS, M. S. J. Importance of flavonoids in insect plant-interactions: feeding and oviposition. **Phytochemistry**, New York, v. 56, n. 3, p. 245-252, 2001.

SMITH, C. M. **Plant resistance to arthropods**: molecular and conventional approaches. Dordrecht: Springer, 2005. 423 p.

SOUZA, B. H. S. **Fatores e mecanismos que influenciam a resistência em soja a *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**. 2014. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de Concentração: Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.

SRINIVAS, P.; DANIELSON, S. D.; SMITH, M. C.; FOSTER, J. E. Cross-resistance and resistance longevity as induced by bean leaf beetle, *Cerotoma trifurcata* and soybean looper, *Pseudoplusia includens* herbivory on soybean. **Journal of Insect Science**, Madison, v. 1, n. 5, p. 1-5, 2001.

STAMP, N. Out of the quagmire of plant defense hypotheses. **The Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 78, n. 1, p. 23-55, 2003.

STOUT, M. J. Reevaluating the conceptual framework for applied research on hostplant resistance. **Insect Science**, Auckland, v. 20, n. 3, p. 263-272, 2013.

STOUT, M. J.; WORKMAN, J.; DUFFEY, S. S. Differential induction of tomato foliar proteins by arthropod herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 10, p. 2575-2594, 1994.

STOUT, M. J.; WORKMAN, J.; DUFFEY, S. S. Identity, spatial distribution, and variability of induced chemical responses in tomato plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 79, n. 3, p. 255–271, 1996.

THALER, J. S.; STOUT, M. J.; KARBAN, R.; DUFFEY, S. S. Exogenous jasmonates simulate insect wounding in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 22, n. 10, p. 1767-1781, 1996.

UNDERWOOD, N.; ANDERSON, K.; INOUE, B. D. Induced vs. constitutive resistance and the spatial distribution of insect herbivores among plants. **Ecology**, New York, v. 86, n. 3, p. 594–602, 2005.

UNDERWOOD, N.; MORRIS, W.; GROSS, K.; LOCKWOOD, III. J. R. Induced resistance to Mexican bean beetles in soybean: variation among genotypes and lack of correlation with constitutive resistance. **Oecologia**, Berlin, v. 122, n. 1, p. 83-89, 2000.

UNDERWOOD, N. The timing of induced resistance and induced susceptibility in the soybean-Mexican bean beetle system. **Oecologia**, Berlin, v. 114, n. 3, p. 376-381, 1998.

WALDBAUER, G. P. The consumption and utilization of food by insects. **Advances in Insect Physiology**, London, v. 5, n. 1, p. 229-288, 1968.

WALDBAUER, G. P.; FRIEDMAN, S. Self-selection of optimal diets by insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 36, n. 1, p. 43-63, 1991.

WALLACE, S. K.; EIGENBRODE, S. D.; Changes in the glucosinolate-myrosinase defense system in *Brassica juncea* cotyledons during seedling development. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 28, n. 2, p. 243–256, 2002.

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerada uma das culturas mais importantes no mundo, a soja é produzida em mais de 70 países (HARTMAN, 2011), sendo o Brasil o segundo maior produtor desta oleaginosa (USDA, 2016). Entre os fatores limitantes da produção de grãos, estão os artrópodes-praga, que atacam as plantas durante todo o ciclo. Entre as pragas que causam prejuízos à cultura da soja, *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepdóptera: Noctuidae) tem provocado reduções significativas na sua produtividade (MOSCARDI et al., 2012) em consequência da ineficiência dos principais métodos de controle utilizados atualmente, como o cultivo da soja Bt (BERNARDI et al., 2014), aliado ao comportamento voraz desta espécie comparado a outros lepidópteros pragas da soja (BUENO et al., 2011). Portanto, métodos alternativos dentro do manejo integrado de pragas como a resistência de plantas a insetos, tornam-se ferramentas fundamentais como táticas de controle para *S. cosmioides*.

Ao longo de sua evolução as plantas desenvolveram mecanismos de defesa a estresses bióticos e abióticos, que são classificados em constitutivos e/ou induzidos. As defesas constitutivas são heranças quantitativas ou qualitativas de mecanismos de resistência a diversos organismos expressos constantemente nas plantas, sem depender do reconhecimento de elicitores. As defesas induzidas são heranças quantitativas e/ou qualitativas de mecanismos de defesa das plantas produzidos em resposta a estímulos extrínsecos físicos ou químicos. Estes mecanismos de defesa podem ser encontrados em diferentes partes e estruturas das plantas (COLEY; BARONE, 1996; KARBAN; BALDWIN, 1997; SMITH, 2005). No entanto, diversas variações em fatores intrínsecas às plantas, tais como o genótipo, a idade da folha/posição foliar, a estrutura vegetal, e a idade da planta/estádio fenológico podem afetar a expressão da resistência ao ataque de insetos e outros artrópodes (SMITH, 2005).

Desse modo, para a realização de testes visando à seleção de genótipos resistentes a um determinado inseto, trabalhos prévios são imprescindíveis para a determinação de metodologias que sejam mais precisas em demonstrar variações nos níveis de resistência entre genótipos.

Portanto, este estudo buscou avaliar alguns fatores relacionados às plantas de soja que podem influenciar a expressão da resistência constitutiva e induzida a *S. cosmioides*. Na primeira parte, observou-se que a expressão da resistência constitutiva é influenciada pelo tipo de substrato oferecido para alimentação das lagartas, posição foliar/idade foliar, e estrutura vegetal. A melhor distinção dos níveis de resistência entre os genótipos resistente (PI 227682) e suscetível (Pionner 98Y11RR) foi observada em folíolos coletados da parte inferior das plantas. A vagem, além de menos preferida para alimentação, afetou negativamente o desenvolvimento larval de *S. cosmioides*.

A partir desses resultados, foi possível determinar uma metodologia adequada que permite melhor distinção dos possíveis níveis de resistência entre diferentes genótipos de soja a serem avaliados em trabalhos posteriores que tenham o intuito de avaliar genótipos de soja quanto à resistência constitutiva a *S. cosmioides*.

Na segunda parte, verificou-se que as respostas induzidas de defesa foram dependentes do genótipo de soja e posição foliar na planta. O genótipo resistente expressou resistência induzida a *S. cosmioides* quando as plantas foram previamente injuriadas por lagartas dessa espécie, enquanto que o genótipo suscetível não apresentou indução de resistência. Além disso, a expressão de resistência induzida no genótipo resistente foi melhor observada utilizando-se disco foliar coletado da parte superior do que com o uso de folíolo inteiro nos ensaios.

Visto as variações quanto à influência de alguns fatores intrínsecos às plantas de soja na resistência constitutiva e induzida a *S. cosmioides*, este estudo reitera a importância da determinação de metodologias prévias em estudos em resistência de plantas. Nesse contexto, os resultados aqui encontrados apontam para novas perspectivas no manejo de *S. cosmioides* na cultura da soja.

Em primeiro lugar, o conhecimento a respeito da posição na planta e estrutura vegetal onde as lagartas de *S. cosmioides* preferem se alimentar em plantas de soja direciona o monitoramento da praga nos períodos de maior probabilidade de ocorrência dessa espécie, possibilitando maior eficiência na amostragem e no controle. Além disso, os resultados evidenciam a potencial influência que os efeitos de defesa induzidos podem exercer na distribuição espacial e competição intra e interespecífica de insetos fitófagos, o que pode afetar o estabelecimento e dispersão das lagartas de *S. cosmioides* em lavouras de soja. Portanto, este trabalho fornece subsídios para novos estudos relacionados às interações planta-inseto, sobre o papel

da resistência de plantas na dinâmica populacional entre espécies de lagartas desfolhadoras da soja, e manejo integrado de *S. cosmioides* em cultivares transgênicas Bt e não transgênicas, os quais certamente se tornarão mais frequentes devido ao gradual aumento populacional e importância econômica da espécie nas principais regiões produtoras de soja do Brasil.

Referências

BERNARDI, O.; SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; FOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania*, and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, Guildford, v. 58, n. 1, p. 33-40, 2014.

BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J. R. P.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, n. 2, p. 170-174, 2011.

COLEY, P. D.; BARONE, J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, California, v. 27, n. 1, p. 305-335, 1996.

HARTMAN, G. L.; WEST, E.; HERMAN, T. Crops that feed the world 2. Soybean worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. **Food Security**, Washington, v. 3, p. 5-17, 2011.

KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induced responses to herbivory**. Chicago: University of Chicago Press, 1997. 330 p.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes praga**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 213-334.

SMITH, C. M. **Plant resistance to arthropods**: molecular and conventional approaches. Dordrecht: Springer, 2005. 423 p.

USDA. United States Department of Agriculture. **Foreign Agricultural Service**. Circular Series WAP, 2016. p. 1-16.