



ESTHER JOAQUINA QUICENO MAYO

**RESPOSTAS INDUZIDAS DE DEFESA POR *Beauveria*
bassiana, *Metarhizium anisopliae* E JASMONATO DE METILA
A *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM
SOJA**

**LAVRAS-MG
2024**

ESTHER JOAQUINA QUICENO MAYO

RESPOSTAS INDUZIDAS DE DEFESA POR *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* E JASMONATO DE METILA A *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM SOJA

Dissertação de mestrado apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza
Orientador

LAVRAS-MG
2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Quiceno Mayo, Esther Joaquina.

Respostas induzidas de defesa por *Beauveria bassiana*,
Metarhizium anisopliae e Jasmonato de metila a *Spodoptera*
frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) em soja / Esther
Joaquina Quiceno Mayo. - 2024.

68 p. : il.

Orientador(a): Bruno Henrique Sardinha de Souza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. *Spodoptera frugiperda*. 2. *Beauveria bassiana*. 3.
Metarhizium anisopliae. I. Sardinha de Souza, Bruno Henrique. II.
Título.

ESTHER JOAQUINA QUICENO MAYO

RESPOSTAS INDUZIDAS DE DEFESA POR *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* E JASMONATO DE METILA A *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM SOJA

INDUCED DEFENSE RESPONSES BY *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, AND METHYL JASMONATE TO *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN SOYBEAN

Dissertação de mestrado apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 08 de julho de 2024.

Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza – UFLA

Dra. Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor – UFLA

Dra. Aline Sartori Guidolin – ESALQ-USP

Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza
Orientador

LAVRAS-MG
2024

*À **Jonathan Carvajal**, meu amor que tem percorrido este caminho comigo, brindando-me seu amor e apoio incondicional. Deixando uma parte de nossa vida construída de lado para começar de novo, longe de todos pero com um objetivo claro para nosso futuro.*

*À minha Mãe **Cecilia Amparo Mayo**, que entrega seu amor sem limites para mim e para nossas filhas caninas nestes momentos em que lutar por um sonho nos mantém a milhares de quilômetros de distância, sem saber quando poderemos nos reencontrar.*

*À **Canela**, que hoje é um anjo de quatro patas no céu.*

*À **Arya** e **Kira**, que se tornaram as melhores companheiras da minha mãe.*

*E, claro, a **Yisenia Quiceno**, minha irmã e melhor amiga, que sempre confiou nas minhas capacidades e está sempre disposta a me oferecer seu apoio emocional e acadêmico. Juntas, formamos a melhor equipe.*

Para eles, com amor e gratidão.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero agradecer a Deus por me dar forças e guiar meus passos ao longo deste processo, pelos dons de sabedoria e entendimento que sempre pedi para poder concluir esta etapa. Sem sua graça e bênçãos, nada disso seria possível.

A Jonathan, meu companheiro de vida, que esteve ao meu lado em todos os momentos, oferecendo seu apoio incondicional e amor. Sua presença foi fundamental para que eu pudesse seguir em frente e alcançar meus objetivos, que se tornaram objetivos conjuntos.

À minha mãe, que com seu amor incondicional e sacrifício, me inspira todos os dias. Sua luta diária me deu a força necessária para enfrentar os desafios da vida e me ensinou a aproveitar todas as oportunidades, sem medo. Sua dedicação, carinho e paciência foram essenciais para meu sucesso em cada etapa da minha vida.

A Yisenia “Cheche”, por ser minha alma gêmea. Irmãs, amigas, fazemos o melhor time em tudo o que nos propomos na vida. Por seu amor incondicional, conselhos, apoio e confiança, infinitas graças.

Ao meu amigo Carlos, que conheci no Brasil, uma pessoa inteligente e cheia de bondade no coração. Obrigada por sua amizade sincera e apoio nos momentos de maior necessidade acadêmica, com a montagem de experimentos em campo e laboratório.

Ao Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza, meu orientador, por aceitar o desafio de orientar uma pessoa que, em seu primeiro dia no laboratório, não falava nada de português. Ele foi paciente e sempre esteve disposto a oferecer o melhor de si para que eu aprendesse. Por compartilhar seus conhecimentos sobre Resistência de Plantas, pela orientação, paciência e ensinamentos. Sua orientação foi fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Profa. Dra. Rosangela, a quem admiro muito, que me ofereceu seu apoio incondicional desde o primeiro dia, soube me ouvir e coorientar, sempre disposta a compartilhar seus conhecimentos, mesmo não sendo minha orientadora. Obrigada por me aceitar como uma agregada em seu laboratório.

À Profa. Dra. Maria Fernanda, pelo seu papel fundamental em cada momento de avaliação deste documento, conhece cada passo desde a formulação da ideia até a versão final deste manuscrito, graças por sempre estar disposta a escutar e guiar nossas ideias como pesquisadores, e por transmitir esse amor pela pesquisa de uma forma genuína e original.

A todos os professores do curso de pós-graduação em Entomologia, por todo o conhecimento oferecido aos seus estudantes e pelas experiências transmitidas durante as respectivas disciplinas cursadas.

Aos meus colegas de laboratório, LARP: Erika, Maisa, Lilian, Ana Paula, Jose Justo e Larah por sua amizade, por me ajudarem a me adaptar à UFLA, pela troca cultural, por seu apoio nos experimentos, em cada uma das jornadas de campo e laboratório.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Entomologia por permitirem a realização deste trabalho.

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

À Vittia, pelo suporte técnico e logístico, e pela confiança depositada em meu trabalho. Sua colaboração foi essencial para a execução desta pesquisa.

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

À todos, muito obrigada!

RESUMO

Vários lepidópteros-praga podem reduzir a produtividade da soja pela desfolha, como é o caso da lagarta-militar *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). O uso de elicitores de resistência é uma alternativa viável no manejo da praga, pois atuam no metabolismo das plantas, induzindo resistência. Há evidências de que fungos entomopatogênicos, além de efeitos diretos nos insetos, também induzem resistência em plantas; contudo, poucos estudos avaliaram esses efeitos pela aplicação foliar em soja. Este estudo avaliou os efeitos de defesa induzidos pela aplicação foliar de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, em comparação com o jasmonato de metila, sobre *S. frugiperda*. O experimento foi conduzido em campo, casa de vegetação e laboratório com tratamentos: testemunha (água); *B. bassiana*; *M. anisopliae*; e jasmonato de metila (MeJA), com duas pulverizações foliares no início do desenvolvimento vegetativo. Em campo, avaliou-se a produtividade (número de vagens, peso de vagens, grãos e de 100 grãos) para verificar se os produtos estimulavam a produção. Em casa de vegetação, foi avaliado o crescimento das plantas de soja na presença e ausência de herbivoria por *S. frugiperda*, registrando-se altura, diâmetro, teor de clorofila e massa seca foliar e radicular, além dos marcadores químicos de estresse peróxido de hidrogênio (H_2O_2), malondialdeído (MDA), e atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX). No laboratório, foi avaliado o desempenho biológico de *S. frugiperda* em discos foliares de soja e a recuperação dos fungos nas plantas para evidenciar a possível ação endofítica. No experimento de campo, não houve diferenças nos parâmetros produtivos e nos marcadores H_2O_2 e MDA. Em relação ao desempenho biológico de *S. frugiperda*, lagartas alimentadas com discos foliares tratados com *M. anisopliae* apresentaram menor ganho de peso, sem diferenças no consumo foliar. Em casa de vegetação, não foram detectadas diferenças nos parâmetros de crescimento das plantas de soja na presença e ausência de herbivoria. No bioensaio em laboratório, o maior consumo foliar pelas lagartas ocorreu com discos tratados com *B. bassiana*, sem diferenças no ganho de peso. *M. anisopliae* causou maior produção de H_2O_2 , enquanto *M. anisopliae* e *B. bassiana* apresentaram menores níveis de MDA, indicando menor estresse oxidativo com os fungos. Em relação às atividades enzimáticas nas plantas de soja submetidas à herbivoria de *S. frugiperda*, o tratamento com *M. anisopliae* induziu a maior atividade de SOD com herbívora, enquanto *B. bassiana* estimulou maiores atividades de CAT e APX, explicando o menor estresse oxidativo com os fungos. Não foi possível detectar a presença dos fungos entomopatogênicos a partir de fragmentos foliares coletados das plantas tratadas, não evidenciando ação endofítica. Os resultados sugerem que os elicitores podem desencadear respostas induzidas de defesa nas plantas de soja ao ataque de *S. frugiperda*, proporcionadas pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio e atividades de enzimas antioxidantes.

Palavras-chaves: elicitores; fungos entomopatogênicos; lagarta-militar; resistência induzida.

ABSTRACT

Several lepidopteran pests can reduce soybean productivity through defoliation, such as the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). The use of resistance elicitors is a viable alternative in pest management, as they act on plant metabolism, inducing resistance. There is evidence that entomopathogenic fungi, in addition to causing direct effects on target insects, can also induce resistance in plants; however, few studies have evaluated these effects through foliar application in soybeans. This study evaluated the defense effects induced by foliar application of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, in comparison with methyl jasmonate, against *S. frugiperda*. The experiment was conducted in the field, greenhouse, and laboratory with the following treatments: control (water); *B. bassiana*; *M. anisopliae*; and methyl jasmonate (MeJA), with two foliar sprays at the beginning of vegetative development. In the field, productivity was evaluated (number of pods, pod weight, grain weight, and 100-grain weight) to verify if the products stimulated production. In the greenhouse, soybean plant growth was evaluated in the presence and absence of herbivory by *S. frugiperda*, recording plant height, diameter, chlorophyll content, and shoot and root dry mass, in addition to the stress markers hydrogen peroxide (H_2O_2), malondialdehyde (MDA), and the activities of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX). In the laboratory, the biological performance of *S. frugiperda* was evaluated on soybean leaf disks, and fungal recovery from the plants was assessed to investigate possible endophytic action. In the field experiment, no significant differences were observed in productivity parameters or in the H_2O_2 and MDA stress markers. Regarding the biological performance of *S. frugiperda*, larvae fed with leaf disks treated with *M. anisopliae* showed reduced weight gain, with no differences in leaf consumption. In the greenhouse, no differences were detected in soybean plant growth parameters in the presence or absence of herbivory. In the laboratory bioassay, the highest leaf consumption by larvae occurred on disks treated with *B. bassiana*, with no differences in weight gain. *M. anisopliae* caused higher production of H_2O_2 , while *M. anisopliae* and *B. bassiana* showed lower levels of lipid peroxidation (MDA), indicating reduced oxidative stress with the fungi. Regarding enzyme activities in soybean plants subjected to herbivory by *S. frugiperda*, treatment with *M. anisopliae* induced higher SOD activity under herbivory, while *B. bassiana* stimulated higher CAT and APX activities, explaining the reduced oxidative stress with the fungi. The presence of entomopathogenic fungi could not be detected from leaf fragments collected from treated plants, showing no evidence of endophytic action. The results suggest that elicitors can trigger induced defense responses in soybean plants against *S. frugiperda*, mediated by the accumulation of reactive oxygen species and the activities of antioxidant enzymes.

Keywords: elicitor; endophytic fungi; fall armyworm; induced resistance.

INDICADORES DE IMPACTO

A pesquisa sobre indução de resistência em plantas de soja contra *Spodoptera frugiperda*, utilizando os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, e o fitormônio jasmonato de metila (MeJA), apresenta impactos significativos nos âmbitos tecnológico, econômico, social e ambiental. O estudo objetivou avaliar e caracterizar os efeitos desses elicitores na indução de resistência na cultura de soja, visando o desenvolvimento de estratégias sustentáveis para o manejo de pragas. Os resultados demonstraram que *B. bassiana* e *M. anisopliae* podem induzir resistência nas plantas de soja, afetando o desenvolvimento de *S. frugiperda*, enquanto o jasmonato de metila mostrou-se eficaz na redução do consumo foliar pela praga. Tecnologicamente, essas descobertas abrem caminho para o desenvolvimento de novas abordagens de proteção de culturas, alinhadas com os princípios da agricultura sustentável e regenerativa. Economicamente, embora não tenha havido aumento significativo na produtividade de grãos de soja, a pesquisa fornece insights valiosos para métodos de controle de pragas potencialmente mais eficientes e econômicos, podendo resultar em redução de custos com inseticidas químicos para os agricultores. Socialmente, a implementação dessas tecnologias pode contribuir para a saúde dos trabalhadores rurais e consumidores, reduzindo a exposição a inseticidas químicos. O estudo impacta diretamente as regiões produtoras de soja no Brasil, beneficiando potencialmente milhares de agricultores e comunidades rurais. Ambientalmente, a redução no uso de insumos químicos promove a preservação da biodiversidade e a sustentabilidade dos agroecossistemas. Além disso, a pesquisa alinha-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, particularmente o ODS 2 (Fome zero e agricultura sustentável), e ODS 12 (Consumo e produção responsáveis). Culturalmente, a promoção do manejo integrado de pragas com foco em soluções biológicas pode contribuir para uma mudança gradual no setor agrícola, valorizando práticas sustentáveis. Em conclusão, este estudo apresenta avanços significativos no entendimento dos mecanismos de defesa induzida em soja, oferecendo perspectivas promissoras para o desenvolvimento de estratégias de manejo de pragas mais sustentáveis e eficientes, com potencial para impactar positivamente a produção agrícola, a saúde pública e o meio ambiente em escala nacional.

IMPACT INDICATORS

The research on the induction of resistance in soybean plants against *Spodoptera frugiperda*, using the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, and the phytohormone methyl jasmonate (MeJA), presents significant impacts in the technological, economic, social, and environmental spheres. The study aimed to evaluate and characterize the effects of these elicitors in inducing resistance in soybeans, with a focus on developing sustainable pest management strategies. The results demonstrated that *B. bassiana* and *M. anisopliae* can induce resistance in soybean plants, affecting the development of *S. frugiperda*, while methyl jasmonate proved effective in reducing leaf consumption by the pest. Technologically, these findings pave the way for the development of new crop protection approaches aligned with the principles of sustainable and regenerative agriculture. Economically, although there was no significant increase in soybean grain yield, the research provides valuable insights for potentially more efficient and cost-effective pest control methods, which could result in reduced chemical insecticide costs for farmers. Socially, the implementation of these technologies could contribute to the health of rural workers and consumers by reducing exposure to chemical insecticides. The study directly impacts soybean-producing regions in Brazil, potentially benefiting thousands of farmers and rural communities. Environmentally, the reduction in chemical inputs promotes biodiversity preservation and the sustainability of agroecosystems. The research aligns with the United Nations Sustainable Development Goals, particularly SDG 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture), and SDG 12 (Responsible Consumption and Production). Culturally, the promotion of integrated pest management focusing on biological solutions can contribute to a gradual shift in the agricultural sector, valuing sustainable practices. In conclusion, this study presents significant advancements in understanding the mechanisms of induced defense in soybeans, offering promising perspectives for the development of more sustainable and efficient pest management strategies, with the potential to positively impact agricultural production, public health, and the environment on a national scale.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estilos de vida de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> e suas interações multitróficas	26
Figura 2	Médias mensais da variação climática de temperatura, precipitação e umidade relativa registrada durante o período de avaliação em campo	27
Figura 3	Etapas na condução do bioensaio em laboratório	32
Figura 4	Sequência na avaliação de estresse oxidativo e atividade enzimática.	35
Figura 5	Etapas para avaliação de produtividade da cultura da soja	36
Figura 6	Etapas de condução do experimento para avaliação do crescimento das plantas e avaliação do estresse oxidativo e enzimas antioxidantes	37
Figura 7	Etapas de condução do experimento de isolamento de fungos	38
Figura 8	Avaliação do desempenho biológico de lagartas de <i>S. frugiperda</i> em relação ao consumo foliar e o ganho de peso em discos foliares de soja tratadas em campo e avaliado em laboratório	39
Figura 9	A) Efeitos da interação de elicitores x herbivoria na concentração de H ₂ O ₂ . B) Efeitos da interação de elicitores x herbivoria na concentração de MDA	40
Figura 10	Médias de produtividade (kg ha ⁻¹) de plantas de soja tratadas com os elicitores em condições de campo	41
Figura 11	Médias de massa seca consumida e ganho de peso de lagartas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com discos foliares de soja tratadas com elicitores.	42
Figura 12	Efeitos da interação de elicitores x herbivoria na concentração de H ₂ O ₂	43
Figura 13	Efeitos da interação de elicitores x herbivoria na concentração de MDA	44
Figura 14	Atividade enzimática de superóxido dismutase (SOD)	44
Figura 15	Atividade enzimática de catalase (CAT) em função do efeito dos elicitores	45
Figura 16	Atividade enzimática de catalase (CAT) em função do efeito da injúria	46
Figura 17	Atividade enzimática de ascorbato peroxidase (APX)	47
Figura 18	Características morfológicas de <i>Nigrospora</i> sp. em meio de cultura à base de extrato de malte. A) Colônia sobre meio de cultura; B) Conídio; C) Hifa e células conidiogênicas.	50
Figura 19	Características morfológicas de <i>Colletotrichum</i> sp. em meio de cultura à base de extrato de malte. A) Colônia sobre meio de cultura; B) Presença de setas; C) Apressório e conídios.	50

Figura 20	Características morfológicas de <i>Fusarium</i> sp. em meio de cultura à base de extrato de malte. A) Colônia sobre meio de cultura; B) Presença de hifa e microconídios; C) Macroconídio.	51
Figura 21	Características morfológicas de <i>Chaetomium</i> sp. em meio de cultura à base de extrato de malte. A) Colônia sobre meio de cultura; B) Parede ascomatal e setas; C) Ascósporos.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Produtos e doses utilizadas nos tratamentos avaliados nos experimentos de campo e casa de vegetação.	30
Tabela 2	Tratamentos avaliados no experimento de campo.	30
Tabela 3	Tratamentos avaliados no experimento de casa de vegetação.	31
Tabela 4	Médias e erro padrão para o número de vagens, peso de vagens, pesos de grãos e peso de 100 grãos de soja tratadas com os elicitores <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> e MeJA.	41
Tabela 5	Medias e erro padrão dos tratamentos com elicitores e injúria de <i>S. frugiperda</i> sobre parâmetros de crescimento em plantas de soja	48
Tabela 6	Frequência de recuperação de fungos endofíticos isolados das plantas de soja em casa de vegetação.	49

SUMARIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	OBJETIVOS.....	17
2.1.	Objetivo geral.....	17
2.2.	Objetivos específicos.....	17
3	HIPÓTESE.....	18
4	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
4.1.	Cultura da Soja, <i>Glycine max</i> (L.) Merrill.....	19
4.2.	Lagarta-militar, <i>Spodoptera frugiperda</i>	20
4.3.	Resistencia induzida.....	22
4.4.	Fungos entomopatogênicos endofíticos.....	24
5.	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
5.1.	Local e condições do experimento.....	27
5.2.	Plantas de soja.....	28
5.3	Lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	29
5.4.	Formulações dos produtos, tratamentos e concentrações.....	29
5.5.	Desempenho biológico de <i>S. frugiperda</i> em discos foliares de soja.....	31
5.6	Análise das concentrações de peróxido de hidrogênio, malondialdeído e atividades de enzimas antioxidantes.....	33
5.7.	Avaliação da produtividade de plantas de soja tratadas com produtos à base de <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> e jasmonato de metila na produção de grãos	35
5.8.	Avaliação do crescimento de plantas de soja tratadas com elicitores e infestadas ou não por lagartas de <i>S. frugiperda</i>	36
5.9.	Recuperação dos fungos das plantas e isolamento em meio de cultura.....	37
5.10.	Análise estatística.....	38
6.	RESULTADOS.....	36
6.1	Desempenho biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i> em discos foliares de soja.....	39
6.1.1.	Análise das concentrações de peróxido de hidrogênio e malondialdeído....	40
6.1.2.	Avaliação da produtividade de plantas de soja tratadas à base de <i>B. bassiana</i> , <i>M. anisopliae</i> e MeJA na produção de grãos:.....	40
6.2.	Condução de experimentos em casa de vegetação.....	41
6.2.1.	Desempenho biológico de <i>S. frugiperda</i> em discos foliares de soja.....	41
6.2.2.	Análise das concentrações de peróxido de hidrogênio, malondialdeído e atividades de enzimas antioxidantes.....	42

6.2.3	Avaliação do crescimento de plantas de soja tratadas e infestadas ou não por lagartas de <i>S. frugiperda</i>	47
6.2.4.	Recuperação dos fungos das plantas e isolamento em meio de cultura.....	48
7	DISCUSSÃO	52
8.	CONCLUSÕES	59
9.	REFERÊNCIAS	60

1. INTRODUÇÃO

A produtividade de culturas agrícolas de importância econômica como a soja, *Glycine max* (L.) Merrill, é frequentemente afetada por fatores bióticos em todos os estágios fenológicos, com destaque para a infestação de insetos-praga (BENNETT et al., 2012; LIANG; KIRK; GREENE, 2018; WANG et al., 2013). Entre os principais insetos-praga que comprometem o potencial produtivo da soja, destaca-se um complexo de lagartas desfolhadoras, que também podem atacar vagens e grãos, particularmente no Brasil e na América do Sul (BATISTELA et al., 2012; PANIZZI; OLIVEIRA, 1998). A lagarta-militar *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das mais importantes pragas do milho, algodão e soja, com importância crescente em regiões produtoras e exportadoras devido à sua ampla gama de plantas hospedeiras (DOS SANTOS et al., 2009; HARDKE; LORENZ; LEONARD, 2015; MACHADO et al., 2020; MARUTHADURAI; RAMESH, 2020).

O controle de *S. frugiperda* é dificultado pela sua capacidade de dispersão, alto potencial reprodutivo e ocorrência em diversas fases de desenvolvimento das plantas hospedeiras cultivadas em diferentes épocas do ano em lavouras adjacentes ou em rotação/sucessão, facilitando a movimentação dos adultos entre as plantações (MACHADO et al., 2020). Especificamente na cultura da soja, o evento transgênico mais utilizado ainda hoje expressa a proteína Cry1Ac, que não confere proteção eficiente contra as principais espécies de *Spodoptera* no Brasil (BERNARDI et al., 2014). Frequentemente são realizadas aplicações de inseticidas após a constatação de desfolha, o que aumenta os custos de controle, o risco de resistência aos inseticidas e os impactos negativos ao meio ambiente e aos operadores de campo (BATISTA PEREIRA et al., 2002; DOS SANTOS et al., 2009; FATORETTO et al., 2017; YU; NGUYEN; ABO-ELGHAR, 2003).

Diante desses desafios, a procura por novas estratégias de manejo eficientes e sustentáveis é essencial para o manejo de *S. frugiperda* nos sistemas de produção onde ocorre em infestações elevadas. O uso de elicitores de resistência, também chamados em alguns casos de bioativadores ou bioestimulantes, pode ser uma alternativa viável, pois atuam no metabolismo primário e secundário das plantas, aumentando a resistência a estresses bióticos e abióticos, estimulando a absorção de nutrientes e resultando em maior produtividade e qualidade dos produtos agrícolas (YAKHIN et al., 2017). O interesse por esses produtos vem crescendo a cada ano, e segundo dados da Markets and Markets 2024, o mercado global de bioestimulantes, deverá atingir US\$ 7,6 bilhões até 2029 de US\$ 4,3 bilhões até 2024,

mostrando-se um mercado promissor e com grande potencial para o uso desses produtos na agricultura.

Os fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metchn.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Hypocreales: Cordycipitaceae) têm sido estudados como alternativas complementares para o controle de lepidópteros-praga, incluindo *S. frugiperda* (DANNON et al., 2020; ISLAM et al., 2023). Além disso, o fitormônio jasmonato de metila (MeJA), apesar de pouco utilizado em estratégias de manejo de pragas, é conhecido por atuar como um regulador do crescimento vegetal e como um sinalizador de respostas de defesa contra herbivoria de insetos desfolhadores, infecção de patógenos necrotróficos e estresses abióticos (HANAKA; NURZYŃSKA-WIERDAK, 2019). Diversos estudos têm demonstrado que MeJA pode induzir resistência em plantas contra insetos, levando à produção de compostos de defesa contra a herbivoria e alterações morfológicas e fisiológicas nas plantas que dificultam a alimentação e o desenvolvimento dos insetos-praga (LU et al., 2015; PUENTES et al., 2021).

Além dos efeitos diretos na infecção de insetos-alvo, alguns estudos demonstraram que os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana* podem atuar como endofíticos em plantas, induzindo respostas de defesa e afetando o desenvolvimento e fecundidade de insetos-praga, além de poder estimular o crescimento vegetal em alguns casos (ALTAF et al., 2023a; LIRA; MASCARIN; DELALIBERA JÚNIOR, 2020; LIU; YANG; WANG, 2022; MWAMBURI, 2021). No entanto, a maioria dos estudos que avaliaram esses efeitos utilizaram a inoculação dos fungos nas sementes ou no solo. Há uma carência de informações sobre a capacidade desses fungos em atuarem como endofíticos quando aplicados via foliar na indução de respostas de defesa em plantas de soja, uma das leguminosas mais importantes em todo o mundo e o produto mais importante do agronegócio brasileiro (ABRAHAM et al., 2020; BUENO et al., 2017; CAO et al., 2018; EDWARDS MOLINA et al., 2022; GUO et al., 2022) contra o ataque de *S. frugiperda*.

Nesse contexto, esta pesquisa busca preencher essa lacuna do conhecimento, avaliando e caracterizando os efeitos de indução de resistência pela aplicação foliar de formulações à base dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, e do fitormônio jasmonato de metila, ao ataque de *S. frugiperda*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar e caracterizar os efeitos de indução de resistência pela aplicação foliar de formulações à base dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, e do fitormônio jasmonato de metila sobre plantas de soja a *S. frugiperda*.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Avaliar os efeitos da aplicação foliar de produtos à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e jasmonato de metila na indução de resistência a *S. frugiperda* em folhas de soja tratadas e coletadas do campo e casa de vegetação e avaliadas em laboratório;
- ✓ Quantificar o estresse oxidativo em plantas de soja infestadas ou não por lagartas de *S. frugiperda* em campo e casa de vegetação com a aplicação foliar de produtos à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e jasmonato de metila;
- ✓ Avaliar os efeitos da aplicação foliar de produtos à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e jasmonato de metila na produção de grãos de soja em campo;
- ✓ Avaliar os efeitos da aplicação foliar de produtos à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e jasmonato de metila no crescimento de plantas de soja em vasos em casa de vegetação na presença e ausência de herbivoria de *S. frugiperda*;
- ✓ Avaliar a capacidade de colonização endofítica dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* em plantas de soja através do isolamento dos tecidos foliares em meio de cultura.

3. HIPÓTESES

H1: A aplicação foliar de produtos à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e jasmonato de metila induzem resistência a *S. frugiperda* nas folhas de soja em comparação com as plantas não tratadas;

H2: A aplicação foliar de produtos à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e jasmonato de metila alteram os níveis de estresse oxidativo em plantas de soja, com efeitos distintos entre plantas com e sem infestação por *S. frugiperda*;

H3: A aplicação foliar de produtos à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e jasmonato de metila aumenta a produção de grãos de soja em campo, pela combinação de efeitos de indução de resistência a *S. frugiperda* e à promoção do crescimento das plantas;

H4: As plantas de soja tratadas com produtos à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e jasmonato de metila apresentam maior crescimento em condições de casa de vegetação na presença de herbivoria por *S. frugiperda* devido à indução de mecanismos de defesa e possíveis efeitos promotores do crescimento;

H5: Os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* são capazes de colonizar endofiticamente os tecidos foliares das plantas de soja pela aplicação foliar.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1. Cultura da soja

A soja, *Glycine max* (L.) Merrill, é uma planta herbácea anual dicotiledônea que pertence à família Fabaceae, também conhecida como leguminosas. Ela completa seu ciclo de vida em uma única temporada de cultivo, dividindo-se seu ciclo fenológico em duas fases de desenvolvimento, a fase vegetativa e a fase reprodutiva, que podem durar de 90 a 150 dias, dependendo da variedade e das condições ambientais (NEUMAIER et al., 2000).

No contexto mundial e nacional, a soja está inserida economicamente como uma das principais culturas. No Brasil, o primeiro relato sobre o surgimento da soja através de seu cultivo data de 1882 no estado da Bahia (BLACK, 2000). Posteriormente, foi levada por imigrantes japoneses para São Paulo e, finalmente, em 1914 a soja foi introduzida no estado do Rio Grande do Sul, onde as variedades trazidas dos Estados Unidos melhor se adaptaram às condições edafoclimáticas, principalmente em relação ao fotoperíodo (BONETTI, 1981).

A soja pode ser considerada a cultura responsável por provocar importantes mudanças na produção brasileira a partir da década de 1960. Com a consolidação da cultura na região do Cerrado, o Brasil se tornou um dos maiores produtores. Em 40 anos de cultivo de soja nessa região, a produção cresceu quase sete vezes, enquanto a área cultivada aumentou quatro vezes (BEZZERA et al., 2022).

Atualmente, o Brasil é o maior produtor de soja do mundo, seguido pelos Estados Unidos e Argentina, responsável por 39% da produção mundial com 156 milhões de toneladas (USDA, 2023). Para a safra 2023/2024, estima-se uma produtividade de soja de 3.229 kg/ha em média, representando um decréscimo de 7,9% em relação à safra 2022/2023 e uma produção de 147,68 milhões de toneladas. As lavouras de soja ocupam 45,7 milhões de hectares, um aumento de 3,8% em comparação com a área cultivada no ano passado (CONAB, 2024).

Embora a soja não seja considerada mundialmente como um alimento básico, é uma das culturas mais importantes do mundo, principalmente como fonte de proteína e óleo vegetal. Essas características a tornam uma importante matéria-prima, sendo utilizada como adubo verde, forragem e na produção de biodiesel. O farelo de soja é essencial na alimentação animal (BEZZERA et al., 2022; CAO et al., 2018). Em 2023, dos mais de 7,5 milhões de metros cúbicos de biodiesel produzidos, 69% foram obtidos a partir de óleo de soja, 8% de gorduras animais, 1% de óleo de algodão e os 19% restantes de outras matérias-primas. Essa produção teve grande importância na economia nacional, com uma exportação de seus derivados (grão,

farinha e óleo) de cerca de 126 milhões de toneladas e uma arrecadação de mais de US\$ 67 bilhões (ABIOVE, 2024).

Porém, fatores bióticos como a infestação de insetos-praga, que podem ocorrer em todos os estádios fenológicos da cultura, é um fator que limita o potencial produtivo da soja. As pragas mais importantes incluem lagartas da ordem Lepidoptera. Entre elas, a lagarta-militar *Spodoptera frugiperda*, tem recentemente aumentado sua presença nas plantações de soja (HARDKE; LORENZ; LEONARD, 2015; MARUTHADURAI; RAMESH, 2020; PITRE; HOGG, 1983)

4.2. Lagarta-militar, *Spodoptera frugiperda*

A lagarta-militar, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga de importância econômica nas Américas, com uma ampla distribuição e gama de plantas hospedeiras. Originária das regiões tropicais da América, esta espécie se espalhou por zonas temperadas e quentes da América do Norte, América Central, América do Sul e, mais recentemente, invadiu regiões da África, Ásia e Europa (NAGOSHI et al., 2018; WESTBROOK et al., 2016).

É uma das principais pragas do milho e algodão no Brasil. Além dessas culturas, *S. frugiperda* recentemente tem aumentado sua presença nas plantações de soja, com importância crescente em regiões produtoras e exportadoras de produtos gerados em sistemas de produção com milho, algodão, sorgo, arroz e soja (HARDKE; LORENZ; LEONARD, 2015; MACHADO et al., 2020; MARUTHADURAI; RAMESH, 2020; PITRE; HOGG, 1983). Devido à sua alta capacidade de multiplicação e dispersão, a praga disseminou-se por todo o mundo, principalmente em regiões de clima tropical. Devido à sua ampla gama de plantas hospedeiras, representa uma ameaça para diversos cultivos anuais nessas regiões (DOS SANTOS et al., 2009; MARUTHADURAI; RAMESH, 2020).

Spodoptera frugiperda é um lepidóptero holometábolo, cujo ciclo de vida compreende quatro fases: ovo, larva, pupa e adulto (HARDKE; LORENZ; LEONARD, 2015). O ciclo de vida geralmente ocorre em torno de 22 a 63 dias, podendo variar devido a fatores como temperatura, umidade e alimentação (CAPINERA, 2017; PITRE; HOGG, 1983). As fêmeas depositam seus ovos em massas, as quais são cobertas por escamas das asas. Os adultos são mariposas de cor acinzentada a marrom, com envergadura das asas de aproximadamente 35 mm. Cada fêmea pode depositar um número variável de posturas durante a fase adulta, alcançando até 13 massas de ovos por fêmea (CRUZ, 1995).

As larvas recém-eclodidas são de cor verde clara, e à medida que avançam em seu desenvolvimento adquirem coloração que varia do verde escuro ao marrom escuro, com cápsula cefálica de cor laranja (PITRE; HOGG, 1983). Morfologicamente, as lagartas podem medir entre 35 e 40 mm de comprimento, com coloração variável de marrom escuro a verde ou preto, com um “Y” invertido na cápsula cefálica, característica da espécie. Seu corpo é cilíndrico, com três pares de pernas verdadeiras, quatro pares de falsas pernas abdominais e um par de falsas pernas anais (CAPINERA, 2017).

A ocorrência de *S. frugiperda* em lavouras de soja pode ser explicada pela capacidade de dispersão dos adultos, alto potencial reprodutivo que permite múltiplas gerações por ano e pelo tipo de sistema de produção agrícola brasileiro baseado em monoculturas com rotação de plantas das quais é considerada praga importante (MACHADO et al., 2020). Seu controle é dificultado devido às variações na fenologia das plantas hospedeiras cultivadas em diferentes épocas do ano em lavouras próximas umas das outras ou em rotação/sucessão, facilitando a movimentação dos adultos entre as plantações. Esse fator pode explicar a ocorrência mais frequente dessa praga em lavouras onde anteriormente era considerada esporádica ou secundária (BARROS et al., 2010).

No caso da soja, as lagartas de *S. frugiperda* podem atacar folhas, caules, vagens e grãos. As lagartas são mais frequentes nas plantas recém-emergidas, apresentando um comportamento de corte da haste próximo ao solo, devido à sua presença na palhada (ARAÚJO et al., 2023). Esse tipo de ataque é mais comum em áreas de cultivo situadas no bioma Cerrado, geralmente associado a períodos ou anos com baixos índices pluviométricos.

Para o controle de *S. frugiperda*, frequentemente são realizadas aplicações de inseticidas após a constatação de desfolha nas plantas hospedeiras, o que aumenta o custo de controle da praga e ao mesmo tempo proporciona potencial de evolução da resistência aos inseticidas (FATORETTO et al., 2017; YU; NGUYEN; ABO-ELGHAR, 2003). Também é frequente o uso de plantas transgênicas que expressam proteínas Bt no manejo integrado de lagartas na soja. No entanto, o controle não é eficiente na cultura da soja, uma vez que o evento transgênico mais utilizado atualmente expressa a proteína Cry1Ac, que não confere proteção efetiva contra as principais espécies de *Spodoptera* no Brasil devido à baixa especificidade da proteína Cry1Ac às lagartas (BERNARDI et al., 2014).

Desse modo, a procura por novas estratégias de manejo que sejam eficientes e sustentáveis é essencial para o manejo de *S. frugiperda* nos sistemas de produção onde ocorre em infestações elevadas. O uso de produtos elicitores de resistência, em alguns casos também chamados de bioativadores ou bioestimulantes, pode ser uma alternativa viável no manejo

integrado de pragas em sistemas agrícolas, pois atuam no metabolismo primário e secundário das plantas, aumentando a resistência a estresses bióticos e abióticos, estimula a absorção de nutrientes, resultando em maior produtividade e qualidade dos produtos agrícolas (YAKHIN et al., 2017).

4.3. Resistência induzida

As plantas desenvolvem estratégias de defesa contra o ataque de herbívoros, que podem ser constitutivas ou induzidas. As defesas induzidas são ativadas em resposta à injúria por herbivoria ou pela aplicação de elicitores, isto é, compostos químicos ou biológicos que desencadeiam respostas de defesa nas plantas. Essas defesas podem afetar diretamente os herbívoros ou atrair inimigos naturais (STOUT; BERNAOLA; ACEVEDO, 2024; WAR et al., 2012).

A resistência induzida contra estresses bióticos em plantas pode ser desencadeada inicialmente após o reconhecimento molecular dos elicitores. As plantas possuem receptores denominados de receptores de reconhecimento de padrões moleculares capazes de perceber moléculas derivadas de patógenos, conhecidas como PAMPs (Padrões Moleculares Associados a Patógenos). Além desses elicitores, os receptores também identificam moléculas liberadas pelos tecidos vegetais danificados durante o ataque de insetos herbívoros, chamadas de DAMPs (Padrões Moleculares Associados a Danos) e HAMPs (Padrões Moleculares Associados a Herbívoros) (MAFFEI; ARIMURA; MITHÖFER, 2012). Essa detecção de padrões moleculares desencadeia a ativação de uma complexa rede de vias de transdução de sinais e respostas de defesa nas plantas, conferindo resistência induzida contra os estresses (BIGEARD; COLCOMBET; HIRT, 2015).

A resistência induzida é uma resposta temporária frente a estresses bióticos ou abióticos, permitindo que a planta conserve recursos na ausência do ataque de herbívoros, por exemplo, e adapte sua resposta ao tipo específico de estresse (BALDIN; VENDRAMIM; LOURENÇÃO, 2019). Quando o inseto se alimenta das plantas, moléculas de sua saliva, secreções ou fluidos são reconhecidas como elicitores, desencadeando vias de sinalização do metabolismo secundário como resposta de defesa. Esses sinais são transmitidos por vias que envolvem fluxos iônicos, cascatas de fosforilação, acúmulo de espécies reativas de oxigênio e vias mediadas por fitormônios como ácido jasmônico, ácido salicílico e etileno (FÜRSTENBERG-HÄGG; ZAGROBELNY; BAK, 2013; HOWE; JANDER, 2008). Esses fitormônios podem atuar de forma individual, sinérgica ou antagônica, dependendo do tipo de estresse (WAR et al., 2012).

Os jasmonatos, um grupo de compostos que inclui o ácido jasmônico (JA) e suas moléculas precursoras e derivadas, pertencem à classe das oxilipinas. Eles são essenciais para os mecanismos de defesa adaptativa das plantas, incluindo o JA e seus metabólitos relacionados, como OPDA, MeJA e JA-Ile. Além disso, os jasmonatos atuam como fitormônios fundamentais nas vias de sinalização e no sistema imunológico das plantas (CHEN et al., 2019; HAN, 2016).

Um composto derivado do JA é o jasmonato de metila (MeJA), um regulador de crescimento de plantas que tem um papel importante como molécula sinalizadora que medeia as respostas de defesa das plantas, incluindo sistemas antioxidantes (CREELMAN; MULLET, 1997). O MeJA apresenta uma forma volátil que desempenha um papel crucial na comunicação entre plantas, pode se difundir através dos espaços intercelulares e ser liberado no ar, permitindo que alcance partes distantes da mesma planta ou até mesmo plantas vizinhas (HANAKA; NURZYŃSKA-WIERDAK, 2019). Esse mecanismo permite uma comunicação aérea entre plantas, onde uma planta atacada por herbívoros é capaz de alertar plantas vizinhas sobre estresses iminentes. Tal fenômeno, conhecido como *priming*, possibilita a ativação e o aumento das respostas de defesa vegetal, participando ativamente na expressão gênica e na produção de novos compostos voláteis e não voláteis (FROST et al., 2008; RIAHI et al., 2022).

As plantas que recebem o sinal de MeJA não ativam completamente seus mecanismos de defesa, o que seria dispendioso em termos de recursos, porém, proporcionam alterações que permitem responder de forma mais rápida e eficiente quando atacadas. As respostas podem incluir alterações epigenéticas que facilitam a expressão gênica mais célere ou o acúmulo de proteínas de sinalização inativas, passíveis de rápida ativação. As defesas induzidas conferem plasticidade fenotípica às plantas, diminuindo assim as chances de adaptação dos insetos herbívoros aos compostos químicos de defesa (FROST et al., 2008; PINTO-ZEVALLOS et al., 2013).

O desenvolvimento de estratégias de manejo que utilizam os mecanismos induzidos de defesa das plantas é uma abordagem promissora para uso em culturas agrícolas, permitindo que as plantas modulem suas respostas de defesa contra insetos-praga (STENBERG et al., 2015). Algumas pesquisas apresentam informações sobre compostos elicitores e mecanismos moleculares envolvidos na ativação dessas respostas induzidas de defesa (HUFFAKER et al., 2013; STEINBRENNER et al., 2020). Esses conhecimentos abrem oportunidades para explorar características relacionadas ao *priming* e resistência induzida em programas de melhoramento genético de plantas (FROST et al., 2008; STENBERG et al., 2015).

Diante da demanda por sistemas agrícolas sustentáveis, aproveitar a defesa natural das plantas ao ataque de pragas é uma alternativa viável e promissora. A indução de resistência das plantas pode ser incluída em programas de manejo integrado de pragas a fim de aumentar a produtividade de forma ecológica e econômica, contribuindo para uma agricultura mais sustentável.

4.4. Fungos entomopatogênicos endofíticos

Os fungos entomopatogênicos são importantes para o controle biológico de algumas pragas em plantas cultivadas. A capacidade desses fungos de se estabelecerem como endófitos benéficos fornece uma oportunidade para seu uso na produção e proteção de culturas agrícolas. Ao colonizarem internamente os tecidos vegetais, esses microrganismos podem atuar no controle de insetos-praga, reduzindo a necessidade de aplicação de inseticidas químicos (SHAHID et al., 2012). Espécies como *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* têm alcançado aplicação em escala comercial em países como Brasil, China e México. Além de sua aplicação prática, esses fungos são importantes para estudos de interação patógeno-hospedeiro (Figura 1). Assim, os fungos entomopatogênicos representam uma tecnologia em ascensão, consolidando-se como opção promissora no manejo integrado de pragas (SCHRANK; VAINSTEIN, 2010a).

O fungo *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) é um entomopatogênico cosmopolita, amplamente distribuído em todo o mundo e conhecido por sua capacidade de infectar e controlar diversas espécies de insetos-praga. Esse microrganismo foi originalmente descrito em 1835 pelo naturalista italiano Agostino Bassi, após sua descoberta em larvas de bichos-da-seda infectados (REHNER et al., 2011). O fungo pode ser encontrado em diferentes tipos de solo e estar associado a uma ampla gama de hospedeiros, incluindo insetos, ácaros e outros artrópodes (ZIMMERMANN, 2007a). Sua distribuição global é atribuída à capacidade de produzir estruturas de resistência, chamadas conídios, que podem ser dispersas pelo vento, água ou insetos vetores (MASCARIN; JARONSKI, 2016).

Beauveria bassiana inicia seu ciclo de vida patogênico pela adesão dos conídios (esporos) à cutícula do inseto hospedeiro, por meio de forças físicas. Em seguida, os conídios germinam e penetram nas camadas cuticulares com o auxílio de enzimas, pressão mecânica e outros fatores (ORTIZ-URQUIZA; KEYHANI, 2013). Ao atingir a hemolinfa do hospedeiro rica em nutrientes, o fungo é capaz de se multiplicar rapidamente em estruturas semelhantes a leveduras, chamadas blastósporos ou corpos de hifas. Essas estruturas especializadas permitem

a colonização dos tecidos internos do inseto e a evasão do seu sistema imune (HUMBER, 2008). Durante esse processo, o fungo esgota os nutrientes da hemolinfa e do tecido gorduroso do inseto, resultando na morte do hospedeiro (ZIMMERMANN, 2007).

Embora *B. bassiana* seja reconhecido como um fungo entomopatogênico, sua habilidade de colonizar plantas endofiticamente só foi demonstrada em 1991. Os autores comprovaram que esse fungo foi capaz de colonizar endofiticamente plantas de milho (*Zea mays* L.) (BING; LEWIS, 1991). Estudos posteriores têm demonstrado o comportamento endofítico de *B. bassiana* em outras espécies vegetais (DARSOU EI; KARIMI; STELINSKI, 2024; OWNLEY et al., 2008; RAJAB; AHMAD; GAZAL, 2020; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2018). Essa característica é particularmente interessante, pois os fungos endofíticos podem conferir benefícios às plantas hospedeiras, como a promoção do crescimento e a indução de resistência contra estresses bióticos e abióticos (AHSAN et al., 2024; GOWTHAM et al., 2024).

A espécie *M. anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) foi originalmente descrita por Metschnikoff (1879) como *Entomophthora anisopliae* e posteriormente foi transferida para o novo gênero *Metarhizium* por Sorokin (1883) (ZIMMERMANN, 2007b). *Metarhizium anisopliae* está amplamente difundido na natureza e é encontrado no solo, na rizosfera de plantas ou cadáveres de artrópodes como saprófito, infectando uma ampla gama de insetos e carrapatos hospedeiros (SCHRANK; VAINSTEIN, 2010b; ZIMMERMANN, 2007b).

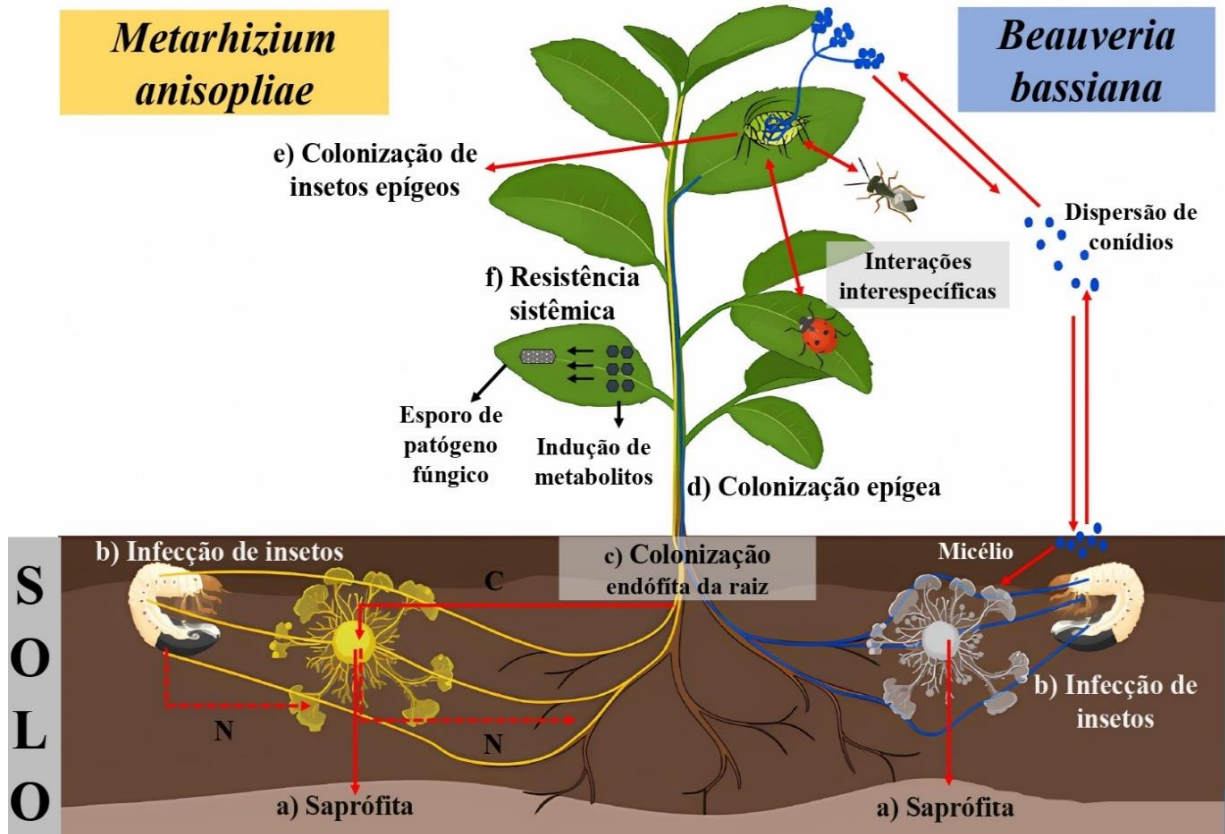
No Brasil, um dos programas de controle biológico mais bem sucedidos do mundo envolve o tratamento de milhões de hectares de cana-de-açúcar com *M. anisopliae* para controlar espécies de cigarrinhas (IWANICKI et al., 2019). No entanto, esse fungo também demonstrou ser eficaz contra importantes pragas agrícolas, como a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), a mosca-branca (*Bemisia tabaci*), o bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) e a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) (ABDEL-RAZEK et al., 2016; DE LA ROSA et al., 2000; PAVA-RIPOLL et al., 2008; RAMOS et al., 2020a).

O processo infeccioso começa quando os esporos fúngicos (conídios) se depositam na superfície exterior da cutícula do organismo hospedeiro. Uma vez aderidos, e se as condições de umidade e temperatura forem propícias, os esporos germinam. A adesão é uma etapa crucial para o início da infecção, pois implica em interações de natureza hidrofóbica entre as proteínas presentes na superfície dos esporos, como as hidrofobinas, e a cutícula do hospedeiro (FANG; PEI; BIDOCHKA, 2007).

Além de seu papel como agente de controle biológico de insetos, *M. anisopliae* tem sido reconhecido como um fungo endófito capaz de colonizar internamente os tecidos de diferentes

espécies de plantas. Desde então, alguns estudos corroboraram a habilidade endofítica de *M. anisopliae* em diferentes culturas, como a soja (KHAN et al., 2012; RUSSO et al., 2019), tomate (MWAMBURI, 2021), trigo (HAO et al., 2021) e milho (AHMAD et al., 2020; RAMOS et al., 2020b).

Figura 1 - Estilos de vida de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e suas interações multitróficas. **a)** vida saprófita no solo; **b)** infecção de insetos que habitam o solo; **c)** colonização endofítica da raiz, onde ocorre transferência de nitrogênio do fungo para a planta e em troca a planta oferta carbono para o fungo; **d)** se tiver capacidade endofítica, podem colonizar de baixo para cima os tecidos aéreos da planta, incluindo caules, folhas e sementes; **e)** insetos epígeos podem ser infectados por esporos do fungo provenientes de cadáveres esporulados, esporos transportados pelo ar ou talvez por colonização endofítica (condição específica de *B. bassiana*); **f)** ativação de defesas da planta através da indução de resistência ou por antagonismo direto (antibiose ou competição de nutrientes).



Fonte: Adaptado de Mascarin e Jaronski (2016); Stone e Bidochka, (2020).

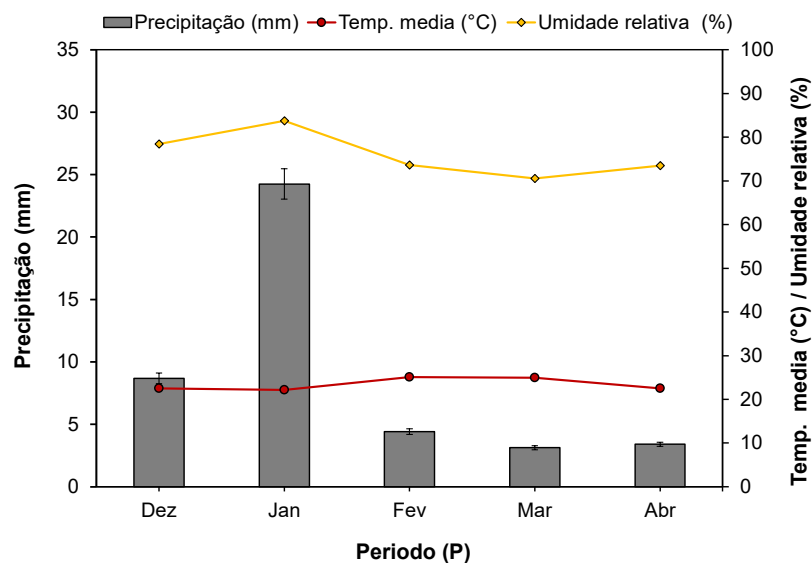
5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Local e condições do experimento

O experimento foi conduzido em duas etapas de implantação. Na primeira etapa, realizada em campo, foi efetuado o plantio de soja no final de dezembro de 2022 em uma área experimental na Fazenda Muquém, pertencente à Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG, Brasil. A área experimental estava localizada entre as coordenadas geográficas 21°11'42''S e 44°59'21''W, e a região apresenta clima subtropical úmido (Cwa) temperado chuvoso (mesotérmico), com invernos secos e verões chuvosos. As temperaturas máxima e média mensais atingem 22 e 19,9 °C, respectivamente, com pluviosidade média anual de 1486 mm (ALVARES et al., 2013).

Durante a fase de campo, o clima apresentou um pico pluviométrico e de precipitação em janeiro (24,25 mm e 83,75%, respectivamente), enquanto a temperatura mais elevada foi registrada em fevereiro, com um valor de 25,12 °C (Figura 2). Destaca-se a importância dessas condições climáticas, visto que a amostragem do material vegetal para avaliação dos indicadores de estresse foi realizada em janeiro, enquanto a coleta destinada ao bioensaio ocorreu em fevereiro, conforme descrito na fenologia da planta (item 5.3). O solo da área experimental foi classificado como latossolo vermelho-amarelo, segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SILVA et al., 2014)

Figura 2 - Médias mensais da variação climática de temperatura, precipitação e umidade relativa registrada durante o período de avaliação em campo.



Fonte: Do autor (2024).

Na segunda etapa, em outubro de 2023, foi estabelecido um cultivo de soja em casa de vegetação do Laboratório de Resistência de Plantas e Manejo Integrado de Pragas (LARP-MIP), do Departamento de Entomologia da UFLA. A casa de vegetação apresentou condições de temperatura controlada ($27 \pm 5^{\circ}\text{C}$), com luminosidade e umidade relativa do ambiente.

5.2. Plantas de soja

Para todos os experimentos, foi utilizada uma cultivar de soja transgênica Bt que expressa a proteína Cry1Ac (evento MON87701 x MON89788, Intacta RR 2 Pro®) e apresenta tolerância ao herbicida glifosato. A escolha da cultivar transgênica P95R90 IPRO para o experimento se deve à ampla adoção dessa tecnologia transgênica nas lavouras de soja no Brasil e recomendação para cultivo no estado de Minas Gerais (CUNHA; ESPÍNDOLA, 2015).

No experimento de campo, a semeadura foi realizada mecanicamente em 16 linhas de 60 m de comprimento, com espaçamento de 0,5 m entre si, totalizando uma área de 480 m². Durante a semeadura foi aplicado inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*) no sulco de plantio na dose proporcional a 40 L ha⁻¹. Cada parcela experimental foi composta por 4 linhas de 5 m de comprimento, sendo as 2 linhas externas utilizadas como bordadura e as 2 linhas centrais destinadas às avaliações e coleta de amostras.

Na casa de vegetação, as sementes de soja foram semeadas em vasos de 3 L, com um substrato composto por solo (latossolo vermelho escuro eutrófico), esterco bovino curtido e areia na proporção de 2:1:1. O solo foi previamente esterilizado para garantir a taxa de germinação das sementes e eliminar o efeito de fungos patogênicos do solo. Posteriormente, o solo foi fertilizado com 5 g de NPK 10-10-10, conforme as proporções recomendadas para a cultura da soja. Os vasos foram dispostos sobre bancadas elevadas, livres do ataque de insetos e de infecções por agentes patogênicos. Foram utilizadas cinco sementes por vaso e, após a germinação, foi realizado o desbaste, deixando-se apenas uma planta por vaso. A irrigação das plantas foi realizada manualmente sempre que necessário, utilizando o mesmo volume de água para todas as plantas.

Os estágios de crescimento das plantas de soja (FEHR; CAVINESS, 1977) considerados no experimento de campo para aplicação dos tratamentos foram V2 e V3 (segunda e terceira folhas trifolioladas completamente expandidas) e no estágio V5 (quinta folha trifoliolada completamente expandida) foram coletadas folhas para o bioensaio em laboratório. Na casa de vegetação foram considerados os estágios V1 e V2 (primeira e segunda folhas trifolioladas

completamente expandidas) para aplicação dos tratamentos e estágio V4 (quarta folha trifoliolada completamente expandida) para coleta de folhas e condução do bioensaio em laboratório.

5.3. Lagartas de *Spodoptera frugiperda*

As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas no experimento foram obtidas da colônia de criação em laboratório, estabelecida há aproximadamente cinco anos, com a introdução anual de indivíduos coletados de plantas de milho no campo para assegurar a variabilidade genética da linhagem. A colônia é mantida sob condições ambientais controladas (temperatura de 26 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12C:12E h). Durante a fase larval, os insetos são alimentados com dieta artificial, enquanto na fase adulta são alimentados com solução aquosa de mel a 10% (GREENE et al., 1976).

5.4. Formulações dos produtos, tratamentos e concentrações

Nos experimentos realizados foram avaliados os efeitos indiretos dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* e do derivado de fitormônio MeJA no desempenho larval de *S. frugiperda* através da indução de resistência em plantas de soja. Para os experimentos, foram utilizados os seguintes tratamentos: controle negativo (água), *B. bassiana* (BV1318), *M. anisopliae* (BV12) e MeJA (1mM), utilizado como controle positivo. Os produtos comerciais à base dos fungos foram fornecidos pela empresa Vittia (São Joaquim da Barra, SP, Brasil) e o produto técnico MeJA foi adquirido pela empresa Sigma-Aldrich. O derivado de fitormônios MeJA neste experimento foi utilizado como controle positivo por causar indução de resistência a insetos. Todos os tratamentos foram aplicados com a adição de adjuvante (Naft[®], Vittia, São Joaquim da Barra, SP, Brasil). As doses de fungos aplicadas foram ajustadas conforme as recomendações do fabricante. Foram utilizadas concentrações de $6,15E+08$ UFC/mL para *Beauveria bassiana* (BV1318) e $5,50E+05$ UFC/mL para *Metarhizium anisopliae* (BV12). Por outro lado, a concentração de MeJA foi selecionada com base em estudos prévios documentados na literatura, os quais demonstraram sua eficácia na indução de resistência a insetos. Os detalhes específicos dos produtos e as doses empregadas nos experimentos encontram-se detalhados na Tabela 1.

Tabela 1 - Produtos e doses utilizadas nos tratamentos avaliados nos experimentos de campo e casa de vegetação.

Produtos utilizados	Produto comercial	Dose recomendada	Dose campo	Dose casa de vegetação
Água destilada	Água destilada	200 L ha ⁻¹	200 L ha ⁻¹	0,3L
Adjuvante	Naft	1%	1%	166,7µl / 0,3 L
<i>Beauveria bassiana</i>	Código BV1318	500 ml/200L	500 ml/200L	750µl / 0,3 L
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Código BV12	1000 ml/200L	1000 ml/200L	1500µl / 0,3 L
MeJA	Jasmonato de metila	1mM (0,001 mol L ⁻¹)	1mM (0,001 mol L ⁻¹)	67,29µl / 0,3 L

Em condições de campo, as plantas foram dispostas em delineamento experimental de blocos casualizados, com quatro tratamentos e oito blocos como repetições. Os quatro tratamentos avaliados no experimento de campo foram constituídos pelo controle (água), *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA, com as mesmas concentrações e características dos produtos aplicados em casa de vegetação (Tabela 2).

Tabela 2 - Tratamentos avaliados no experimento de campo.

Tratamentos	Produtos
T1	Água (Controle negativo)
T2	<i>Beauveria bassiana</i> (BV1318)
T3	<i>Metarhizium anisopliae</i> (BV12)
T4	Jasmonato de metila (MeJA)

As aplicações dos tratamentos foram realizadas utilizando-se um pulverizador costal pressurizado com CO₂, com pressão de 3 kgf cm⁻², pontas de pulverização do tipo cone vazio e volume de calda proporcional a 200 L ha⁻¹. A pulverização foliar dos tratamentos foi efetuada quando as plantas estavam no estágio vegetativo V2 (primeira aplicação), sendo repetida a pulverização dos mesmos tratamentos no estágio V3. As aplicações foram realizadas no período da manhã, entre 07:00 e 08:00, até ponto de escorrimento.

No experimento de casa de vegetação, o delineamento foi em blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 2, incluindo os tratamentos já especificados na presença e ausência de herbivoria por *S. frugiperda*, totalizando 8 tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Tratamentos avaliados no experimento de casa de vegetação.

Tratamentos	Produtos e herbivoria
T1	Água (Controle negativo)
T2	<i>Beauveria bassiana</i> (BV1318)
T3	<i>Metarhizium anisopliae</i> (BV12)
T4	Jasmonato de metila (MeJA)
T5	Água + infestação de <i>S. frugiperda</i>
T6	<i>B. bassiana</i> + infestação de <i>S. frugiperda</i>
T7	<i>M. anisopliae</i> + infestação de <i>S. frugiperda</i>
T8	MeJA + infestação de <i>S. frugiperda</i>

Duas pulverizações foliares dos produtos foram realizadas, começando no estágio V1, repetindo-se cerca de 7 dias depois no estágio V2. Este procedimento foi executado fora da casa de vegetação, sempre no período da manhã (7:00-08:00), utilizando um pulverizador manual (1 L), aplicando-se ~3,5 ml da solução por planta até ponto de escorrimento (5 borrifadas). No momento da aplicação, o solo foi coberto com folhas de papel para evitar escorrimento da suspensão. Após a secagem das soluções sobre as plantas, os vasos foram transferidos de volta para a casa de vegetação.

5.5. Desempenho biológico de *S. frugiperda* em discos foliares de soja

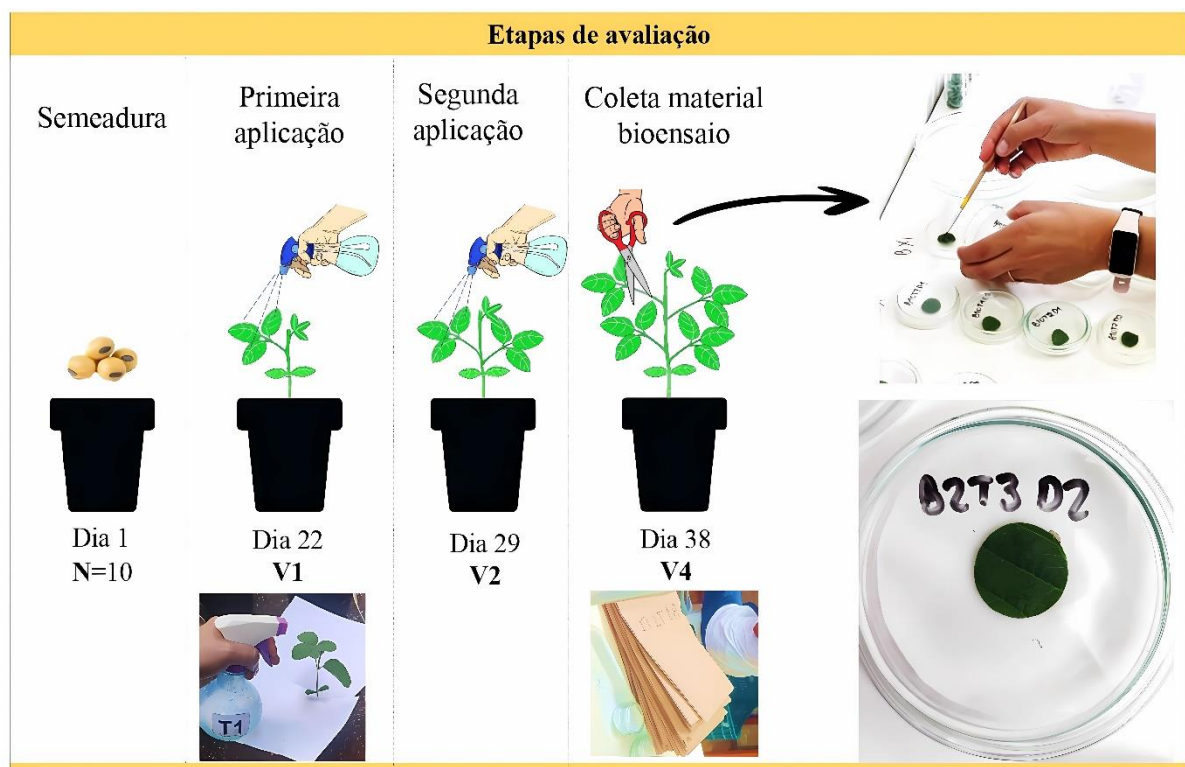
No campo, quando as plantas atingiram o estágio vegetativo V4, coletou-se material para realizar o bioensaio em laboratório. Este experimento compreendeu um total de 80 plantas (4 tratamentos, 20 plantas por tratamento, 2 discos por folíolo), e para cada tratamento foram utilizadas 12 repetições, sendo cada repetição composta por 4 placas individuais com discos foliares da mesma planta. Em casa de vegetação, cultivaram-se 40 plantas no total (4 tratamentos, 10 plantas por tratamento) até o estágio V4 (Figura 3). De maneira similar, o material foi coletado e transportado ao laboratório para a montagem do bioensaio. No total, foram utilizadas 20 unidades experimentais (placas) para cada tratamento, as quais estiveram dispostas em delineamento inteiramente casualizado. Para cada tratamento foram utilizadas 10 repetições, sendo que cada repetição foi composta por 2 placas individuais.

No laboratório, discos foliares (2 cm de diâmetro) foram preparados por meio de um vazador metálico, sendo um disco por cada folíolo do respectivo trifólio. Um disco de cada

folíolo externo da folha foi transferido individualmente para placas de Petri (5 cm diâmetro), e o terceiro disco foliar, retirado do folíolo central, foi utilizado como alíquota (disco intacto).

Os discos foliares foram esterilizados por meio da imersão em solução de hipoclorito de sódio a 5% para eliminar os resíduos contaminantes, e depois foram lavados com água estéril para garantir maior assepsia. Em seguida, foi retirado o excesso de água com um papel toalha. Os discos foram transferidos para placas de Petri forradas com papel de filtro umedecido com 500 µl de água destilada, onde foram liberadas lagartas neonatas (<24 h de idade) de *S. frugiperda* na razão de uma lagarta por placa.

Figura 3 - Etapas na condução do bioensaio em laboratório.



Fonte: Do autor (2024).

Após 5 dias de alimentação das lagartas, o bioensaio foi encerrado. Os discos foliares intactos (alíquotas) e os discos remanescentes da alimentação das lagartas foram levados a estufa para secar a 50°C por 48h para obtenção da massa seca. Posteriormente, os discos foram pesados em balança analítica de precisão, e os valores obtidos dos discos oferecidos às lagartas foram subtraídos dos valores das alíquotas, obtendo-se as médias da massa seca foliar consumida. O peso fresco das lagartas sobreviventes foi mensurado em balança analítica de precisão.

5.6. Análise das concentrações de peróxido de hidrogênio, malondialdeído e atividades de enzimas antioxidantes

No experimento de campo, quando as plantas atingiram o estágio vegetativo V4, após as aplicações dos produtos em V2 e V3, cinco plantas por parcela de cada tratamento em 4 dos 8 blocos das repetições foram infestadas artificialmente com lagartas de quarto/quinto ínstar de *S. frugiperda* oriundas da colônia de criação. As lagartas foram confinadas no trifólio mais velho das plantas em gaiolas de tecido *voile* (10 x 15 cm), presas no folíolo com um grampo de torcer. Foi utilizada uma lagarta de terceiro ínstar por planta. A infestação foi realizada para avaliar se os produtos aplicados em condições de campo poderiam atenuar o estresse causado pela herbivoria. As lagartas permaneceram nas plantas até o estágio V5 da planta, durante 7 dias, quando as gaiolas e lagartas foram removidas. As plantas dos outros blocos que foram atribuídos aos tratamentos sem infestação só receberam as gaiolas para padronização. Selecionaram-se cinco plantas por tratamento (40 plantas no total) para realizar análises químicas das concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malondialdeído (MDA).

No experimento em casa de vegetação, após as aplicações em V1 e V2, as plantas foram infestadas com lagartas de *S. frugiperda* quando as plantas atingiram o estágio V3. As lagartas foram confinadas dentro de gaiolas de tecido *voile* (10 x 15 cm), cuidadosamente fixadas com um grampo no pecíolo do trifólio, de modo a que tivessem livre acesso aos três folíolos envolto pela gaiola. Foi utilizada uma lagarta de quarto/quinto ínstar por planta. As lagartas permaneceram no trifólio por 48 h, até atingir desfolha de pelo menos 50%. Para o grupo de tratamento sem infestação, os folíolos receberam apenas as gaiolas. No estágio V4, foram escolhidas 4 plantas por tratamento (32 plantas no total) para análises químicas de H_2O_2 , MDA e das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (Figura 4)

Após 48 horas da retirada das lagartas de *S. frugiperda* das plantas em ambos os experimentos, foi coletado o trifólio mais novo do ápice de cada planta. As folhas foram cuidadosamente retiradas com uma tesoura esterilizada, acondicionadas em envelopes de papel alumínio e colocadas em uma caixa de isopor com nitrogênio líquido. Após a coleta das folhas, imediatamente foram maceradas com nitrogênio líquido e PVPP (polivinilpolipirrolidona), e posteriormente armazenadas em freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises.

As análises de concentrações de H_2O_2 e MDA foram avaliadas como indicadores de estresse oxidativo nas plantas. A extração do material vegetal para análise de peroxidação lipídica (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi realizada seguindo o protocolo de Buege

e Aust (1978). Macerou-se 200 mg de material vegetal com nitrogênio líquido e PVPP (polivinilpolipirrolidona), homogeneizando-os em 1500 µl de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%, sendo posteriormente centrifugados a 12000 g durante 15 minutos a 4°C. Em seguida, coletou-se o sobrenadante e procedeu-se à análise. A quantificação da peroxidação lipídica pelo método TBARS (ácido tiobarbitúrico) foi determinada utilizando o protocolo de Buege e Aust (1978), onde alíquotas do sobrenadante foram adicionadas ao meio de reação (0,5% de ácido tiobarbitúrico – TBA e 10% de ácido tricloroacético – TCA) e aquecidas em banho-maria a 95°C durante 30 minutos. Posteriormente, interrompeu-se a reação por resfriamento rápido sobre gelo, e foi lida a absorbância do sobrenadante em espectrofotômetro a 535 nm e 600 nm.

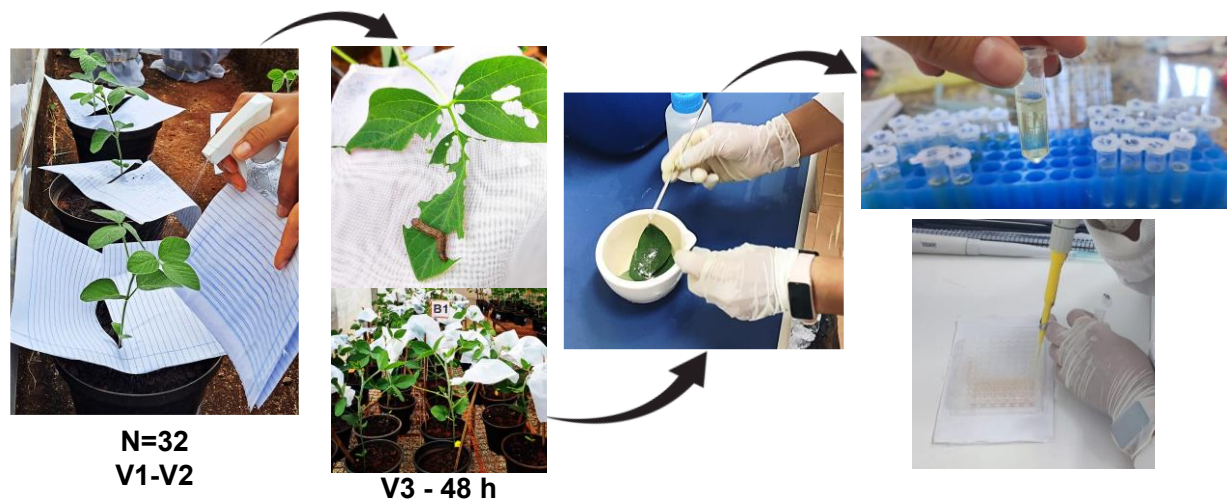
Foi calculada a concentração de malondialdeído (MDA) utilizando o coeficiente de extinção molar de 155 mM⁻¹ cm⁻¹, expressando os resultados em nmol MDA g⁻¹ MF. A quantificação do peróxido de hidrogênio foi determinada pelo protocolo de Velikova et al. (2000), no qual adicionaram-se alíquotas do sobrenadante ao tampão de incubação (fosfato de potássio 10 mM, pH 7,0 e iodeto de potássio 1 M). Posteriormente, distribuíram-se o meio de incubação e as amostras em branco em placas de Elisa, lendo a absorbância a 390 nm em espectrofotômetro. A concentração de H₂O₂ foi calculada de acordo com a curva padrão, expressando os resultados em mmol H₂O₂ g⁻¹ MF.

A análise das atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (AP_x) foi realizada para verificar o efeito antioxidante da aplicação de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA na presença e ausência de herbivoria por *S. frugiperda* em plantas de soja. O método de extração para análise das atividades das enzimas SOD, CAT e APX foi baseado no protocolo estabelecido por Biemelt, Keetman e Albrecht (1998). Foram macerados 200 mg de material vegetal em nitrogênio líquido com 50% de PVPP, e realizou-se uma homogeneização em 1500 µL de tampão de extração. Posteriormente, o material foi centrifugado a 13000 g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante foi coletado em novos tubos do tipo eppendorf.

A atividade da enzima SOD foi avaliada conforme descrito por Giannopolitis e Ries (1977). Na placa de Elisa foi distribuído nos primeiros 3 poços 10 µL de branco (água) e nos seguintes poços, alíquotas de 10 µL de amostras em triplicatas. Adicionou-se 190 µL de solução tampão de incubação, e a placa foi iluminada durante 7 minutos com luz UV. Finalmente foi feita a leitura em espectrofotômetro a 560 nm. A atividade enzimática da CAT foi realizada conforme o protocolo proposto por Havir e McHale (1987). Na placa de Elisa foram pipetados 9 µL das amostras, sendo que os três primeiros poços serviram como controles. Em seguida, foram adicionados 180 µL do tampão de extração, previamente incubado em banho-maria a

30°C. As leituras foram realizadas a 240 nm durante 3 minutos, com intervalos de 15 segundos entre cada medição. A atividade enzimática da APX foi avaliada conforme a metodologia descrita por Nakano e Asada (1981). Nos três primeiros poços da placa foram pipetados os controles, e nos poços subsequentes, 9 µL de amostras. Em seguida, foram adicionados 180 µL do tampão de extração, previamente incubado em banho-maria a 30°C. As leituras foram realizadas a 240 nm durante 3 minutos, com intervalos de 15 segundos, utilizando um coeficiente de extinção molar de 2,8 mM cm⁻¹.

Figura 4 - Sequência na avaliação de estresse oxidativo e atividade enzimática.



Fonte: Do autor (2024).

5.7. Avaliação da produtividade de plantas de soja tratadas com produtos à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e jasmonato de metila na produção de grãos

Ao final da maturação fisiológica das plantas em campo, foram colhidos 2 m lineares de plantas das duas linhas centrais de cada parcela experimental para avaliação de componentes de produção (Figura 5). As plantas foram levadas ao laboratório, onde foi avaliado os seguintes parâmetros: número total de vagens; peso das vagens; peso total de grãos; e o peso de 100 grãos. Com base nos valores de peso total de grãos foi estimada a produtividade da cultura, expressa em kg ha⁻¹.

Figura 5 - Etapas para avaliação de produtividade da cultura da soja.



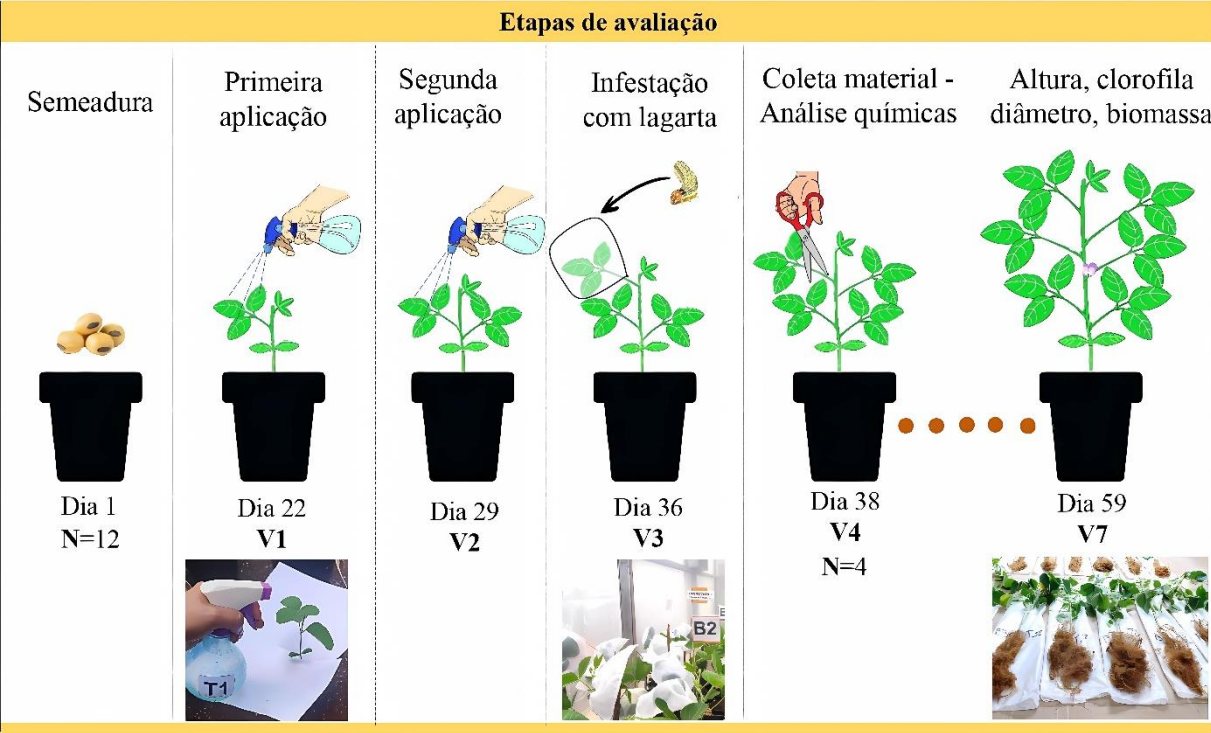
Fonte: Do autor (2024).

5.8. Avaliação do crescimento de plantas de soja tratadas com elicitores e infestadas ou não por lagartas de *S. frugiperda*

As plantas de soja foram cultivadas em casa de vegetação e os tratamentos aplicados, conforme previamente descrito na Tabela 3. Utilizou-se um conjunto de 96 plantas para avaliação dos 8 tratamentos, com 12 repetições por tratamento (Figura 6). Nas unidades experimentais submetidas aos tratamentos com infestação de *S. frugiperda*, uma lagarta nos estágios quarto/quinto proveniente da criação em laboratório foi cuidadosamente transferida para as plantas conforme descrito no item 5.6 durante 48 horas, até causarem ~50% de desfolha. Quanto ao grupo de tratamento sem infestação, apenas as gaiolas foram instaladas nos folíolos, sem a introdução de lagartas.

Ao final do experimento (estádio V7), foram avaliados parâmetros de crescimento das plantas. A altura das plantas foi medida com uma fita métrica desde a base até o ápice do trifólio mais expandido. O diâmetro do caule foi avaliado a 2 cm da base das plantas, com auxílio de um paquímetro. O teor relativo de clorofila foi avaliado com o equipamento m SPAD-502 (Konica Minolta) nos três trifólios mais novos, utilizando-se a média das três leituras por planta. Em seguida, as plantas foram retiradas dos vasos com o solo bem úmido para evitar a quebra das raízes e cortadas na região rente ao solo. O material vegetal foi transferido para uma estufa a 60°C por 48 horas para secar (parte aérea e raiz), e posteriormente foi pesado em uma balança para registro da biomassa seca da parte aérea e raiz.

Figura 6 - Etapas de condução do experimento para avaliação do crescimento das plantas e avaliação do estresse oxidativo e enzimas antioxidantes.



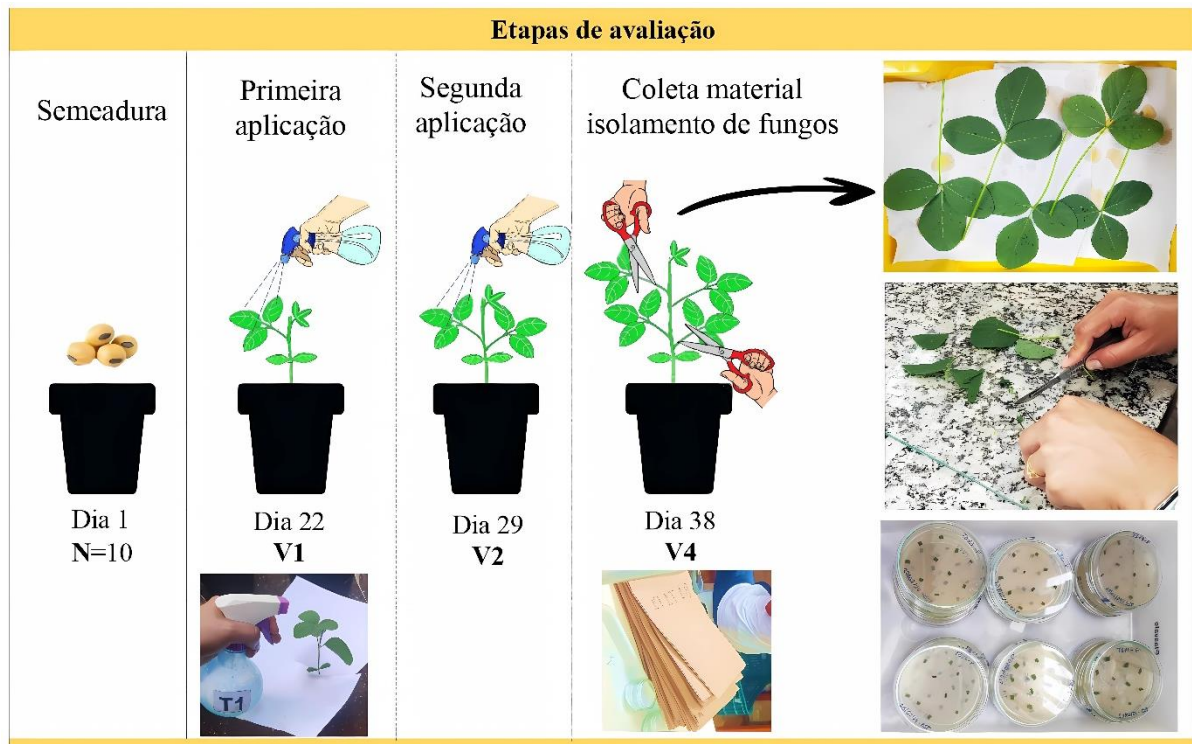
Fonte: Do autor (2024).

5.9.Recuperação dos fungos das plantas e isolamento em meio de cultura

Para avaliar o potencial dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* para colonizar endofiticamente as plantas de soja, foi estabelecido um lote de 30 plantas no total, e aplicação dos tratamentos Testemunha, *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sendo 10 plantas/tratamento (Figura 7). As plantas foram conduzidas até o estágio V4, das quais foram coletadas duas amostras por planta: uma amostra de folha foi coletada da primeira folha emitida em V1, isto é, uma folha que recebeu diretamente duas aplicações dos produtos; e uma segunda amostra foi coletada do trifólio emitido em V3, o qual foi emitido após as aplicações, sem ter recebido diretamente os produtos.

A metodologia utilizada para a recuperação dos fungos foi a de Abreu et al., (2010), com algumas adaptações. No laboratório, o material vegetal foi lavado com água corrente, desinfetado em álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio a 1,5% por quatro minutos, lavado com água esterilizada e colocado para secar em papel de filtro esterilizado.

Figura 7 - Etapas de condução do experimento de isolamento de fungos.



Fonte: Do autor (2024).

Posteriormente, as folhas foram cortadas em fragmentos de 3-5 mm e transferidos na razão de 7 fragmentos por placa de 90 mm com meio de cultura MA 2% (extrato de malte) seletivo com amoxicilina e sulfato de estreptomicina. As placas foram conservadas em sala climatizada a 26°C durante 10 dias, realizando-se observações diárias para evidenciar o crescimento de fungos. Após o período de incubação, foi realizada a caracterização morfológica das colônias dos fungos presentes a fim de diferenciar os grupos recuperados das plantas de soja em casa de vegetação.

5.10. Análise estatística

As variáveis analisadas em cada experimento foram submetidas aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett para verificar os pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, respectivamente. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância. No caso dos experimentos que avaliaram os fatores elicitores e herbivoria, os dados foram submetidos à ANOVA fatorial para verificar os efeitos principais da aplicação dos elicitores *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA, da herbivoria, e a interação entre os fatores. As médias dos

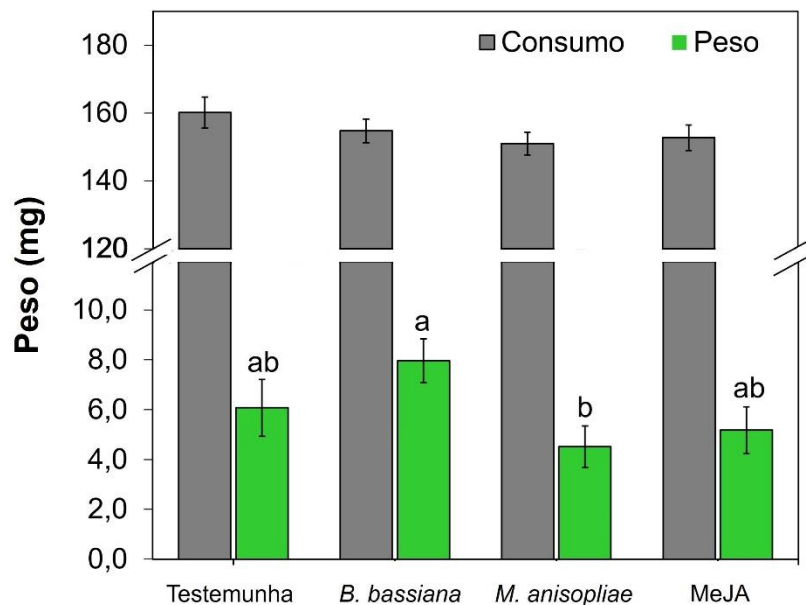
tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$) quando houve diferença significativa. As análises foram realizadas no software Statistica v.7 (STATSOFT, 2004).

6. RESULTADOS

6.1. Desempenho biológico de *S. frugiperda* em discos foliares de soja

Neste bioensaio, buscou-se avaliar os efeitos induzidos de defesa em soja proporcionados pelos elicitores *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA em *S. frugiperda* alimentada com discos foliares oriundos de plantas tratadas em campo. Em relação ao consumo foliar, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$). De modo geral, as médias variaram entre 155 e 160 mg de tecido foliar seco consumido. Quanto ao ganho de peso larval, houve diferenças significativas entre os tratamentos ($F_{3, 72} = 3,32$; $P = 0,0244$). As lagartas alimentadas com discos foliares tratados com *B. bassiana* apresentaram maior ganho de peso (7,95 mg), enquanto aquelas alimentadas com discos foliares tratados com *M. anisopliae* obtiveram o menor peso (4,51 mg) (Figura 8).

Figura 8 - Avaliação do desempenho biológico de lagartas de *S. frugiperda* em relação ao consumo foliar e o ganho de peso em discos foliares de soja tratadas em campo e avaliado em laboratório. Barras com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).



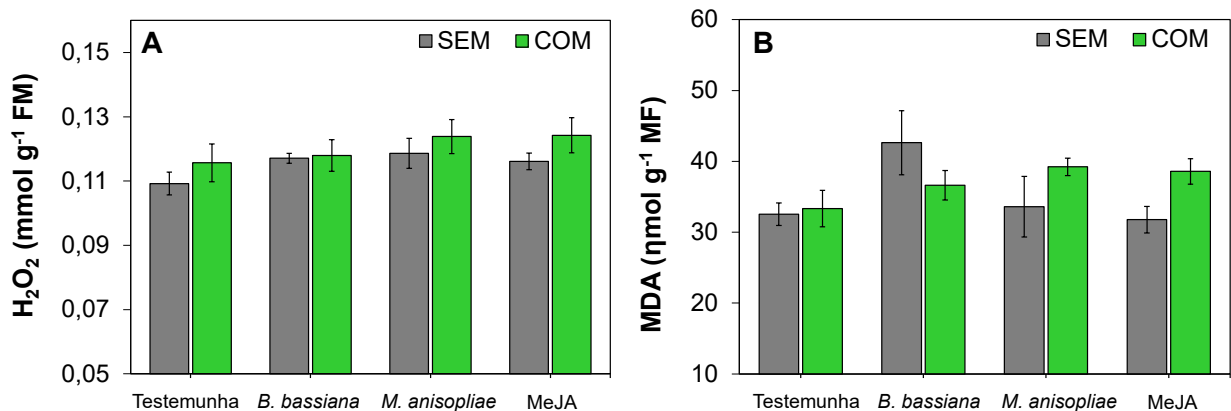
Fonte: Do autor (2024).

6.1.1. Análise das concentrações de peróxido de hidrogênio e malondialdeído

As concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malondialdeído (MDA) não revelaram diferenças significativas entre os tratamentos avaliados em campo. Para a concentração de H_2O_2 , não houve diferenças significativas para os efeitos do elicitor ($F_{3, 24}=1,55$; $P=0,2263$), injúria ($F_{1, 24}=2,66$; $P=0,1155$), nem para a interação elicitor x injúria ($F_{3, 24}=0,24$; $P=0,8670$). (Figura 9A).

A peroxidação lipídica, avaliada pelo teor de malondialdeído (MDA), não apresentou diferenças significativas para os efeitos de elicitor ($F_{3, 24}=2,06$; $P=0,1313$), injúria ($F_{1, 24}=0,86$; $P=0,3609$), nem para interação elicitor x injúria ($F_{3, 24}=2,24$; $P=0,1088$) (Figura 9B).

Figura 9 - A) Efeitos da interação de elicitores x herbivoria na concentração de H_2O_2 . B) Efeitos da interação de elicitores x herbivoria na concentração de MDA. As barras representam o erro padrão da média.



Fonte: Do autor (2024).

6.1.2. Avaliação da produtividade de plantas de soja tratadas à base de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA na produção de grãos

Os resultados obtidos na avaliação de produtividade da cultura de soja tratada com os elicitores *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$). Foi observado de maneira geral que MeJA e *B. bassiana* alcançaram numericamente os maiores valores para número de vagens (1185,13 e 1129,88 unidades), peso de vagens (490,53 e 463,85 g) e peso de grãos (329,63 e 310,86 g). Para a variável peso de 100 grãos, a maior média numérica foi obtida por *M. anisopliae* (13,06 g), seguido de *B. bassiana* (12,88 g), MeJA (12,84 g) e, finalmente, o controle 12,74 g (Tabela 4). A produtividade das plantas de

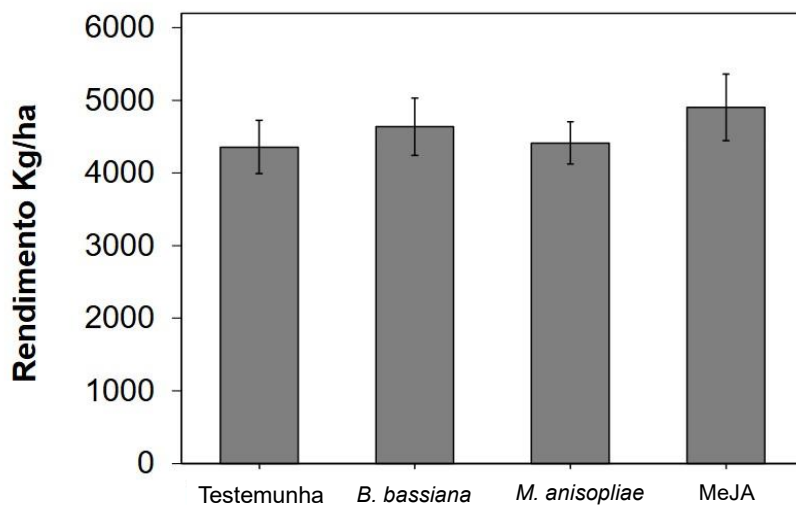
soja tratadas com os elicitores não apresentaram diferenças significativas ($F_{3, 28}=0,42$; $P=0,7393$). Os valores médios de rendimento oscilaram entre 4358 e 4905,25 kg/há (Figura 10).

Tabela 4 - Médias e erro padrão para o número de vagens, peso de vagens, pesos de grãos e peso de 100 grãos de soja tratadas com os elicitores *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA.

Tratamentos	Vagens (n)	Peso vagens (g)	Peso grãos (g)	Peso 100 grãos (g)
Controle (água)	1080,13 ± 88,60 a	435,80 ± 36,70 a	291,26 ± 25,07 a	12,74 ± 0,25 a
<i>B. bassiana</i>	1129,88 ± 105,34 a	463,85 ± 39,59 a	310,86 ± 25,96 a	12,88 ± 0,31 a
<i>M. anisopliae</i>	1060,88 ± 72,30 a	441,55 ± 28,99 a	295,13 ± 20,15 a	13,06 ± 0,14 a
MeJA	1185,13 ± 110,90 a	490,53 ± 46,04 a	329,63 ± 30,80 a	12,84 ± 0,16 a
F	$F_{3,28}=0,34$	$F_{3,28}=0,42$	$F_{3,28}=0,46$	$F_{3,28}=0,37$
p-valor	$P=0,7971$	$P=0,7393$	$P=0,7130$	$P=0,7786$

Médias seguidas com a mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Figura 10 - Médias de produtividade (kg ha^{-1}) de plantas de soja tratadas com os elicitores em condições de campo (Teste de Tukey, $P<0,05$).



Fonte: Do autor (2024).

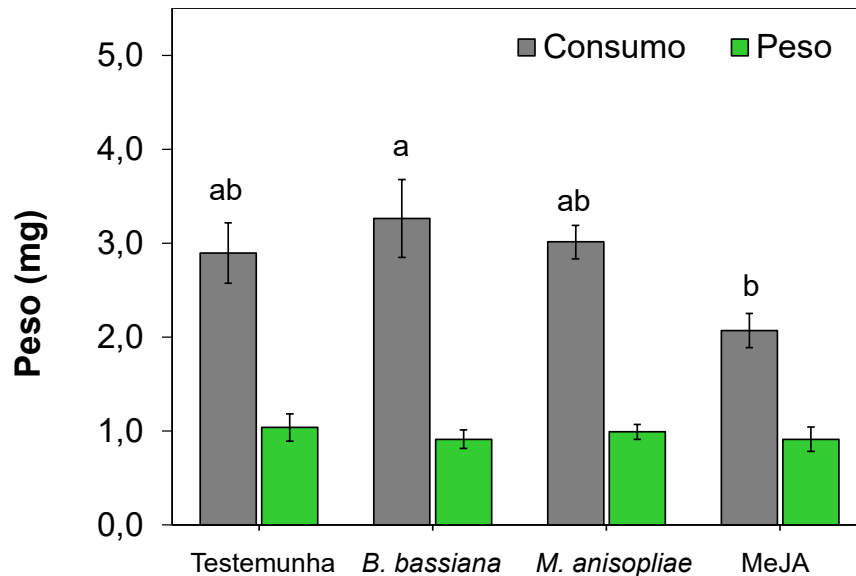
6.2. Condução dos experimentos em casa de vegetação

6.2.1. Desempenho biológico de *S. frugiperda* em discos foliares de soja

Em relação ao consumo foliar, houve diferenças significativas entre os tratamentos avaliados ($F_{3, 32}=3,25$; $P=0,0346$). O maior consumo foliar foi observado nas lagartas alimentadas com discos foliares tratados com *B. bassiana*, alcançando uma média de 3,26 mg,

diferindo significativamente daquelas alimentadas com folhas tratadas com MeJA, que apresentaram a menor média de consumo (2,07 mg). Quanto ao ganho de peso, os resultados não mostraram efeito significativo dos tratamentos ($F_{3,32}=0,29$; $P=0,8335$) (Figura 11).

Figura 11 - Médias de massa seca consumida e ganho de peso de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com discos foliares de soja tratadas com elicitores. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

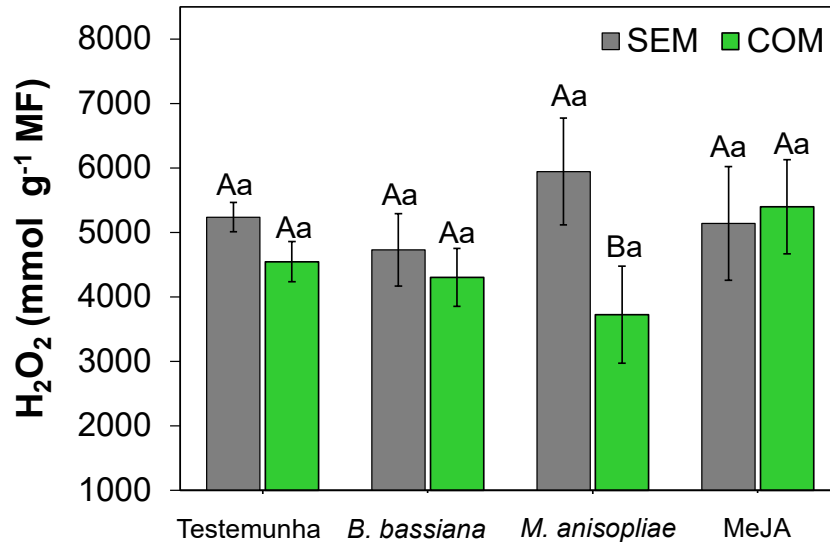


Fonte: Do autor (2024).

6.2.2. Análise das concentrações de peróxido de hidrogênio, malondialdeído e atividades de enzimas antioxidantes

Houve diferenças significativas nas concentrações de H_2O_2 em função da injúria por *S. frugiperda* ($F_{1,16} = 5,68$; $P = 0,0272$). No entanto, não foram observadas diferenças significativas para a aplicação dos elicitores ($F_{3,16} = 0,94$; $P = 0,4437$) nem para a interação entre elicitor e injúria ($F_{3, 16} = 2,71$; $P = 0,0595$). Os resultados mostraram que os níveis de H_2O_2 foram maiores com a aplicação de *M. anisopliae* sozinho, mas, quando as plantas foram tratadas com o elicitor e sofreram injúria, houve uma redução nos níveis de H_2O_2 (Figura 12).

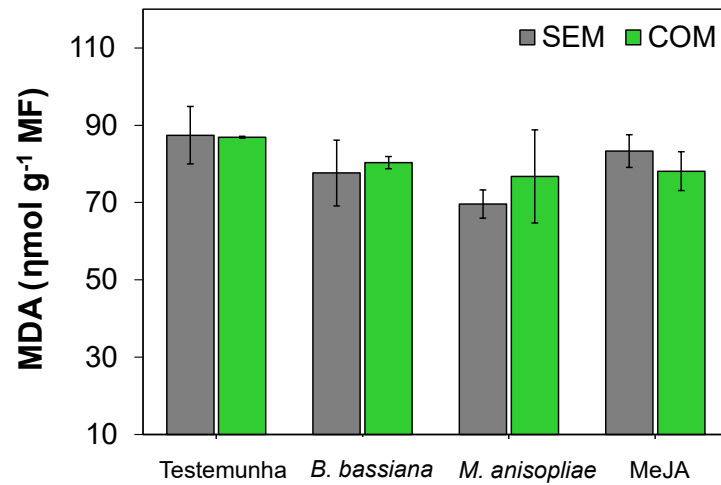
Figura 12 - Efeitos da interação de elicitores x herbivoria na concentração de H_2O_2 . As barras representam o erro padrão da média. Letras maiúsculas distintas sobre as barras indicam diferenças estatísticas entre condições de injúria, e letras minúsculas distintas indica diferença entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).



Fonte: Do autor (2024).

A peroxidação lipídica (MDA) não apresentou diferença significativa para o efeito do elicitador ($F_{3,16} = 3,19$; $P = 0,0521$). Também não foram observadas diferenças significativas para a injúria ($F_{1,16} = 0,10$; $P = 0,7531$), nem para a interação entre elicitador e injúria ($F_{3,16} = 0,65$; $P = 0,5928$). Ao analisar as plantas tratadas com elicitores na ausência de herbivoria por *S. frugiperda*, observou-se que *M. anisopliae* e *B. bassiana* resultaram em menores níveis de MDA, com médias de 73,20 e 79,01 nmol g⁻¹ MF, respectivamente. Em contraste, o controle e o MeJA apresentaram os maiores níveis de MDA (87,17 e 80,71 nmol g⁻¹ MF). Nos tratamentos com herbivoria, *S. frugiperda* aumentou a peroxidação lipídica nas plantas tratadas com *B. bassiana* e *M. anisopliae*, enquanto as concentrações de MDA foram reduzidas com MeJA. No controle, os níveis de MDA foram semelhantes nas condições com e sem herbivoria (Figura 13)

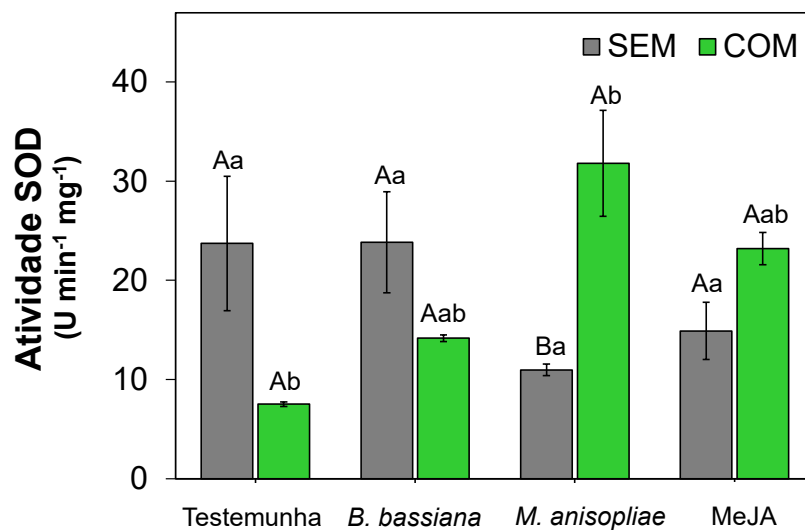
Figura 13 - Efeitos da interação de elicitores x herbivoria na concentração de MDA.



Fonte: Do autor (2024).

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) não apresentou diferenças significativas entre os elicitores ($F_{3, 16}=0,31$; $P=0,8179$). No entanto, houve interação significativa para elicitor x injúria ($F_{3, 16}=3,92$; $P=0,0284$). Quando analisadas as plantas sem injúria, foi observado que o tratamento com *M. anisopliae* resultou em menor atividade da SOD ($10,97 \text{ U min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$) em comparação ao controle e os demais elicitores. Por outro lado, nas plantas submetidas à injúria, o tratamento com *M. anisopliae* apresentou a maior atividade de SOD ($31,81 \text{ U min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$), diferindo significativamente do controle. Os demais tratamentos não diferiram entre si, independentemente da presença ou ausência da injúria. A injúria isoladamente não influenciou a atividade da SOD ($F_{1, 16}=0,04$; $P=0,8511$) (Figura 14).

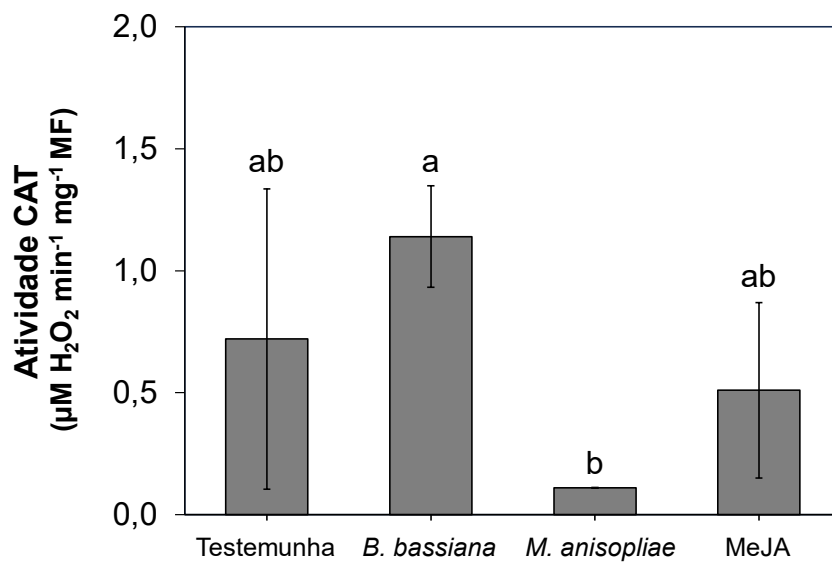
Figura 14 - Atividade enzimática de superóxido dismutase (SOD). Letras maiúsculas distintas sobre as barras indicam diferenças estatísticas entre condições de injúria, e letras minúsculas distintas indica diferença entre tratamentos. (Teste de Tukey, $P<0,05$).



Fonte: Do autor (2024).

A atividade da enzima catalase (CAT) foi significativamente influenciada pelos tratamentos com elicitores ($F_{3, 16}=4,74$; $P=0,0150$) (Figura 15). O tratamento com *B. bassiana* apresentou a maior atividade de CAT ($1,14 \mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$), diferindo do tratamento com *M. anisopliae*, que exibiu a menor atividade ($0,11 \mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$). Os tratamentos testemunha e MeJA não diferiram significativamente entre si, nem dos demais tratamentos.

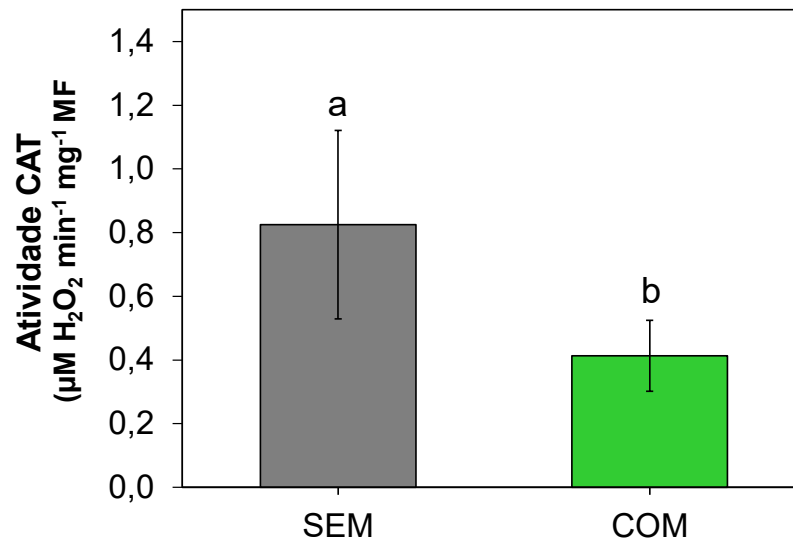
Figura 15 - Atividade enzimática de catalase (CAT) em função do efeito dos elicitores. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, ($P<0,05$).



Fonte: Do autor (2024).

A injúria por *S. frugiperda* afetou marginalmente ($F_{1, 16}=4,35$; $P=0,0533$) a atividade da CAT (Figura 16), de modo que as plantas infestadas apresentaram menor atividade ($0,41 \mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$) em comparação com as plantas não infestadas ($0,83 \mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$). Não houve interação significativa entre os fatores elicitores e injúria ($F_{3, 16}=2,39$; $P=0,1070$).

Figura 16 - Atividade enzimática de catalase (CAT) em função do efeito da injúria. Barras seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, ($P < 0,05$).

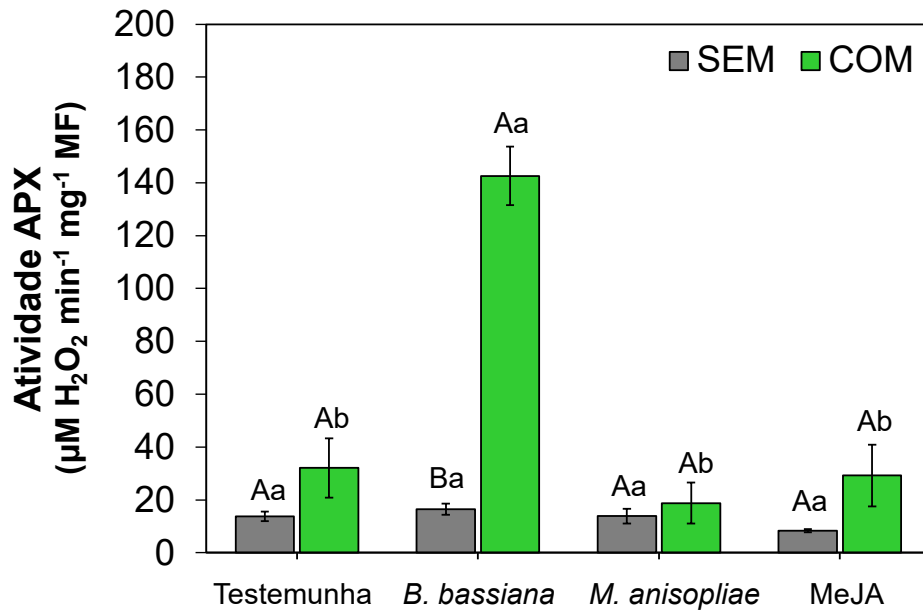


Fonte: Do autor (2024).

Em relação à atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX), constatou-se uma interação significativa entre elicitor e injúria ($F_{3, 16}=40,99$; $P=0,0001$), denotando que a influência dos elicitores sobre APX dependeu da ocorrência da herbivoria por *S. frugiperda*. Houve efeito significativo dos elicitores ($F_{3, 16}=47,46$; $P=0,0001$). Nas plantas não infestadas, não foram observadas diferenças entre os tratamentos. Porém, quando ocorreu injúria por *S. frugiperda*, o tratamento com *B. bassiana* induziu maior atividade de APX ($142,60 \mu\text{M H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$), diferindo estatisticamente dos demais.

O fator injúria apresentou, isoladamente, um impacto significativo na atividade da APX ($F_{1, 16}=94,27$; $P=0,0001$). Plantas infestadas por *S. frugiperda* exibiram atividades superiores às não infestadas (Figura 17).

Figura 17 - Atividade enzimática de ascorbato peroxidase (APX). Letras maiúsculas distintas sobre as barras indicam diferenças estatísticas entre condições de injúria, e letras minúsculas distintas indica diferença entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).



Fonte: Do autor (2024).

6.2.3. Avaliação do crescimento de plantas de soja tratadas com elicitores e infestadas ou não por lagartas de *S. frugiperda*

O presente experimento avaliou os potenciais efeitos de indução de resistência promovidos pela aplicação dos elicitores *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA em plantas de soja na ausência e presença de injúrias causadas por lagartas de *S. frugiperda*. Os resultados obtidos na avaliação do crescimento das plantas de soja não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos parâmetros medidos para os efeitos de elicitor, injúria e interação elicitor x injúria, respectivamente: altura ($E = F_{3,88} = 0,28$; $P = 0,8399$; $I = F_{1,88} = 0,43$; $P = 0,5151$; $I \times E = F_{3,88} = 0,12$; $P = 0,9474$), diâmetro ($E = F_{3,88} = 0,96$; $P = 0,4157$; $I = F_{1,88} = 3,49$; $P = 0,0649$; $I \times E = F_{3,88} = 0,38$; $P = 0,7658$), clorofila ($E = F_{3,88} = 0,49$; $P = 0,6895$; $I = F_{1,88} = 0,81$; $P = 0,3719$; $I \times E = F_{3,88} = 0,80$; $P = 0,4971$), peso seco foliar ($E = F_{3,88} = 0,59$; $P = 0,6243$; $I = F_{1,88} = 0,53$; $P = 0,4672$; $I \times E = F_{3,88} = 0,24$; $P = 0,8694$), e peso seco da raiz ($E = F_{3,88} = 0,24$; $P = 0,8705$; $I = F_{1,88} = 3,51$; $P = 0,0643$; $I \times E = F_{3,88} = 0,38$; $P = 0,7688$). No entanto, observou-se uma tendência de redução nas médias de alguns parâmetros sob condições de herbivoria. Especificamente, o diâmetro do caule e o peso seco da raiz apresentaram médias ligeiramente menores na presença de herbivoria, com valores de 0,94 cm e 0,90 g, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias e erro padrão dos tratamentos com elicitores e injúria de *S. frugiperda* sobre parâmetros de crescimento em plantas de soja.

Injúria	Elicitor	Altura (cm)	Diâmetro haste (cm)	Clorofila (SPAD)	Peso seco foliar (g)	Peso seco raiz (g)
Sem infestação	Testemunha	48,21 ± 5,62 a	0,96 ± 0,11 a	35,63 ± 0,69 a	5,78 ± 0,32 a	0,96 ± 0,08 a
	<i>B. bassiana</i>	42,82 ± 4,07 a	1,03 ± 0,08 a	35,34 ± 0,58 a	5,75 ± 0,18 a	0,96 ± 0,06 a
	<i>M. anisopliae</i>	48,11 ± 5,84 a	1,10 ± 0,06 a	36,02 ± 0,37 a	5,38 ± 0,71 a	1,05 ± 0,07 a
	MeJA	44,03 ± 4,77 a	1,13 ± 0,12 a	35,93 ± 0,54 a	6,0 ± 0,24 a	1,02 ± 0,08 a
Com infestação	Testemunha	42,18 ± 5,80 a	0,85 ± 0,09 a	36,04 ± 0,36 a	5,32 ± 0,46 a	0,88 ± 0,08 a
	<i>B. bassiana</i>	42,98 ± 4,85 a	1,01 ± 0,06 a	35,29 ± 0,52 a	5,85 ± 0,31 a	0,93 ± 0,06 a
	<i>M. anisopliae</i>	46,07 ± 5,19 a	0,98 ± 0,05 a	35,43 ± 0,52 a	5,33 ± 0,13 a	0,87 ± 0,08 a
	MeJA	42,20 ± 5,76 a	0,92 ± 0,12 a	34,87 ± 0,39 a	5,60 ± 0,48 a	0,93 ± 0,07 a

Médias com a mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ($P>0,05$).

6.2.4. Recuperação dos fungos das plantas e isolamento em meio de cultura

Este experimento foi conduzido para avaliar a capacidade de colonização endofítica de plantas de soja pelos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, aplicados via foliar. Diversos estudos têm demonstrado o potencial desses fungos como endofíticos, capazes de induzir resistência em plantas contra pragas (HAO et al., 2021; MWAMBURI, 2021). No entanto, neste experimento não foi possível detectar a presença desses fungos obtidos por meio de fragmentos foliares dos tratamentos correspondentes em meio de cultura específico. Assim, para este experimento foi rejeitada a hipótese de que os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* podem colonizar de forma endofítica em plantas de soja quando pulverizados nas plantas via foliar.

Embora os fungos entomopatogênicos alvo não tenham sido encontrados no isolamento, foi realizada uma breve caracterização dos fungos mais representativos encontrados (Tabela 6). Foram isolados 4 fungos endofíticos do tecido foliar das plantas de soja, os quais foram agrupados com base nas características morfológicas. A identificação do gênero foi realizada por meio de observação microscópica das estruturas reprodutivas.

Tabela 6 - Frequência de recuperação de fungos endofíticos isolados das plantas de soja em casa de vegetação.

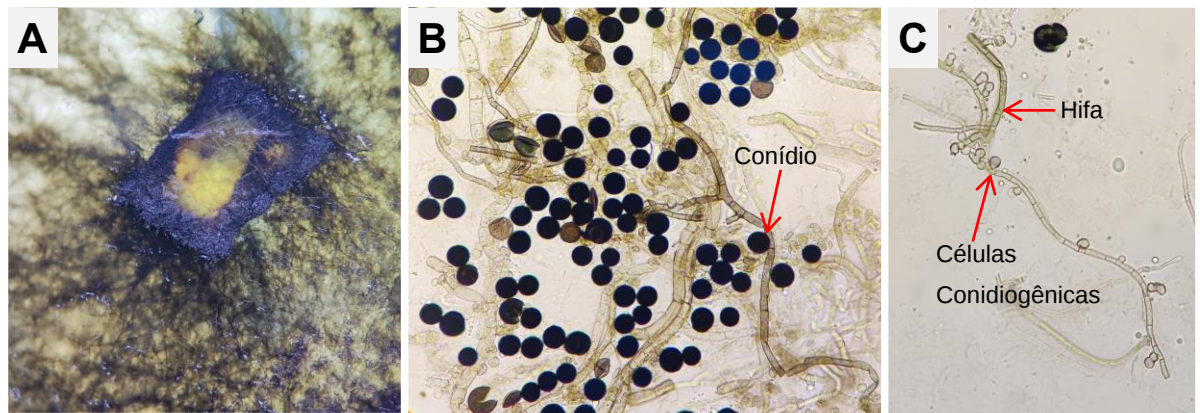
Gênero	Frequência	
	Total	(%)
<i>Nigrospora</i> sp.	3	20,0
<i>Colletotrichum</i> sp.	6	40,0
<i>Fusarium</i> sp.	5	33,3
<i>Chaetomium</i> sp.	10	66,6

A maior frequência de ocorrência dos diferentes gêneros de fungos revelou que o gênero *Chaetomium* sp. apresentou a maior frequência relativa, com 66,6% de presença nas amostras analisadas. Em seguida, o gênero *Colletotrichum* sp. foi observado em 40% das amostras, sendo o segundo gênero mais frequente. O gênero *Fusarium* sp. esteve presente em 33,3% das amostras, ocupando a terceira posição em termos de frequência relativa. Por fim, o gênero *Nigrospora* sp. foi o menos frequente sendo detectado em apenas 20% das amostras analisadas.

***Nigrospora* sp.**

Trata-se de um fungo saprófito amplamente disseminado, colonizando sementes de diversas espécies vegetais, com destaque para sua ocorrência frequente em sementes de soja. Inicialmente, as colônias apresentam micélio de coloração branca, contrastando com os esporos negros e brilhantes. Com o avanço do desenvolvimento fúngico, as colônias adquirem uma tonalidade negra intensa devido à abundante esporulação (Figura 18). A estrutura reprodutiva é caracterizada por conidióforos curtos, nos quais um único conídio terminal é produzido a partir de uma célula intercalar. Os conídios exibem formato esférico ou ovoide, superfície lisa e brilhante, com dimensões médias de 14 µm a 10 µm de diâmetro (GOULAR, 2018).

Figura 18 - Características morfológicas de *Nigrospora* sp. em meio de cultura à base de extrato de malte. **A)** Colônia sobre meio de cultura; **B)** Conídio; **C)** Hifa e células conidiogênicas.

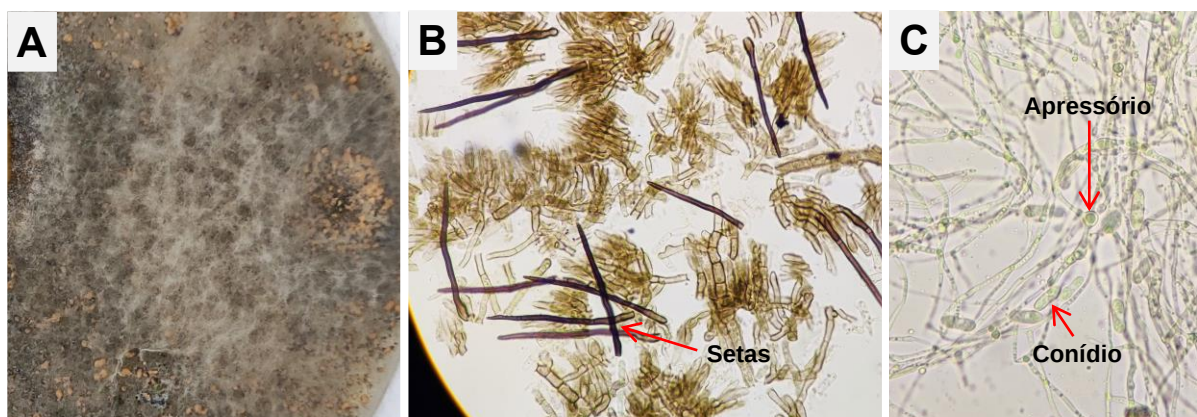


Fonte: Do autor (2024).

Colletotrichum sp.

O gênero *Colletotrichum* é composto por várias espécies de fungos fitopatogênicos responsáveis por causar antracnose em diversas plantas. Na cultura da soja, o agente causal é *Colletotrichum truncatum*, o qual é encontrado em todas as regiões produtoras de soja no país (Figura 19). Este fungo causa problemas especialmente em áreas com maior volume de chuvas e temperaturas entre 28° e 34 °C. Os sintomas incluem tombamento em pré e pós-emergência e manchas necróticas nas folhas (TASIOR; RUTHES, 2022). O fungo pode causar deterioração da semente, morte de plântulas e infecção sistêmica em plantas. As sementes representam a forma mais eficiente de disseminação (GOULAR, 2018).

Figura 19 - Características morfológicas de *Colletotrichum* sp. em meio de cultura à base de extrato de malte. **A)** Colônia sobre meio de cultura; **B)** Presença de setas; **C)** Apressório e conídios.

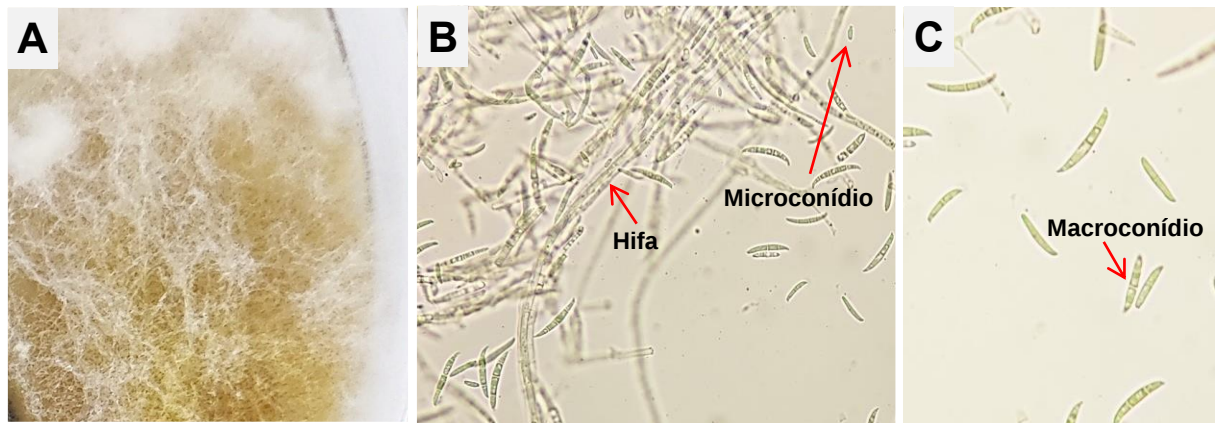


Fonte: Do autor (2024).

Fusarium sp.

Entre as espécies do gênero *Fusarium*, a mais frequente encontrado em sementes de soja (98% ou mais) é *Fusarium semitectum*. O fungo é considerado patogênico, podendo causar problemas de germinação nas sementes infectadas. Está associado a sementes colhidas tardiamente ou deterioradas pela umidade em campo. Caracteriza-se por apresentar micélio denso e cottonoso, variando de branco a marrom, e por apresentar estruturas reprodutivas como macroconídios e clamidósporos (Figura 20) (GOULAR, 2018).

Figura 20 - Características morfológicas de *Fusarium* sp. em meio de cultura à base de extrato de malte. **A)** Colônia sobre meio de cultura; **B)** Presença de hifas e microconídios; **C)** Macroconídios.

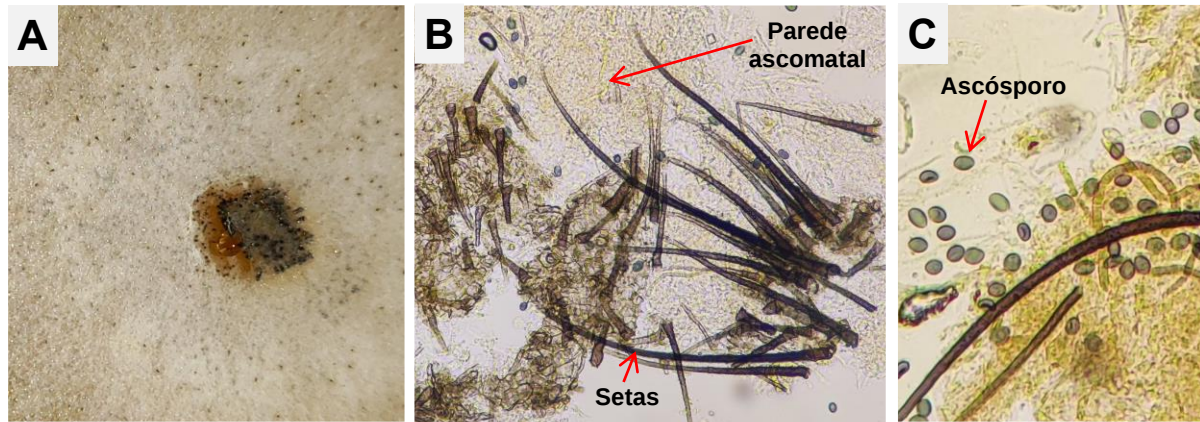


Fonte: Do autor (2024).

Chaetomium sp.

O gênero *Chaetomium* sp. incluem fungos filamentosos encontrados no solo, ar e resíduos vegetais. Infectam várias espécies vegetais no Brasil, incluindo a soja (Figura 21). Estão associados na maioria de vezes às sementes, e em condições muito especiais podem causar prejuízos em sementes e grãos armazenados com alta umidade. Morfologicamente apresentam formação de peritécios que são esféricos ou piriformes, e podem apresentar-se isolados ou aglomerados, cobertos por numerosas setas, geralmente longas, escuras e não ramificadas. Apresentam ostíolo circular bem definido na parte apical do peritécio, com parede formada por células poliédricas; ascas cilíndricas, de parede evanescente, com dois, seis ou oito ascósporos contínuos, limoniformes, com membrana lisa e delgada (GOULAR, 2018; RAO; RAO; ZHAO, 2023).

Figura 21 - Características morfológicas de *Chaetomium* sp. em meio de cultura à base de extrato de malte. **A)** Colônia sobre meio de cultura; **B)** Parede ascomatal e setas; **C)** Ascósporos.



Fonte: Do autor (2024).

7. DISCUSSÃO

Este estudo avaliou os efeitos induzidos de resistência pelos elicitores *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA pulverizados em plantas de soja contra a herbivoria de *S. frugiperda*, crescimento e produtividade das plantas, bem como se os fungos entomopatogênicos apresentam ação endofítica quando aplicados via foliar. Essas informações são importantes para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de manejo integrado de pragas na cultura da soja à herbivoria de importantes pragas desfolhadoras, como *S. frugiperda*.

No experimento de desempenho biológico de *S. frugiperda* em laboratório, conduzido com folhas provenientes de plantas de soja tratadas via foliar em campo com os elicitores, observou-se efeito significativos no ganho de peso das lagartas, mas não no consumo foliar. Lagartas alimentadas com discos foliares tratados com *M. anisopliae* apresentaram menor ganho de peso em relação a *B. bassiana*. Em casa de vegetação, houve menor consumo foliar das lagartas com MeJA em comparação com *B. bassiana*. Esses resultados sugerem que os elicitores MeJA e *M. anisopliae* induziram mudanças na qualidade nutricional e/ou na composição química das folhas, afetando o crescimento larval. O desempenho biológico dos insetos pode ser afetado por uma ampla variedade de compostos de defesa que podem repelir ou impedir a alimentação, como também causar efeitos tóxicos diretos e antinutricionais que conduzem à inibição do crescimento, o que pode resultar na morte dos insetos (DIVEKAR et al., 2022).

O menor consumo de folhas tratadas com MeJA concorda com estudos anteriores sobre os efeitos deste derivado do fitormônio ácido jasmônico na defesa das plantas a insetos. O

composto MeJA atua na ativação de vias de sinalização que levam à produção de compostos de defesa nas plantas, os quais podem alterar a palatabilidade das folhas, tornando-as menos atrativas para os insetos herbívoros (WAR et al., 2012). O papel das enzimas de defesa induzidas por MeJA, como a polifenol oxidase e os inibidores de tripsina, é crucial neste contexto. Tan et al. (2011) destacam que essas enzimas podem diminuir significativamente a qualidade nutricional das folhas para os insetos, com efeitos particularmente pronunciados em certas espécies de noctuídeos. É importante reconhecer a complexidade das interações planta-inseto nesses sistemas, já que as respostas das plantas e dos herbívoros são altamente variáveis e dependem de múltiplos fatores (ERB; REYMOND, 2019). Isso aponta para a necessidade de investigar mais profundamente as mudanças na composição química e nutricional das folhas tratadas com os elicitores, bem como avaliar outros parâmetros relacionados ao desempenho biológico dos insetos, como o tempo de desenvolvimento e a fecundidade.

Os resultados obtidos em campo com *M. anisopliae* no desempenho de *S. frugiperda* corroboram estudos prévios que demonstraram o potencial desse fungo contra lepidópteros, incluindo *S. frugiperda*, através de efeitos via planta nos insetos. A inoculação dos fungos modula a fotossíntese e o metabolismo energético como respostas ao estresse, o que estimula o aumento da resistência e melhora a proteção das plantas hospedeiras contra insetos-praga e patógenos (GÓMEZ-VIDAL et al., 2009; GUPTA; BAR, 2020). Foi demonstrado que fungos endofíticos dos gêneros *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Metarhizium* e *Beauveria* induzem resistência em várias espécies vegetais (BAHADUR, 2023; GUPTA; BAR, 2020; PITTNER et al., 2019). Altaf et al. (2023) encontraram que os estágios larval e pupal de *S. frugiperda* foram impactados negativamente quando as lagartas se alimentaram de folhas inoculadas por pulverização foliar com fungos entomopatogênicos, particularmente *M. anisopliae*. Mwamburi (2021), relatou que larvas de *S. frugiperda* alimentadas com plantas de tomate tratadas via imersão das raízes em suspensão com *M. anisopliae* apresentaram redução de peso de 59%, e 45% com *B. bassiana*.

Diversos métodos de inoculação artificial de fungos entomopatogênicos em culturas foram estudados, incluindo aplicação foliar, injeção no caule, encharcamento do solo e tratamento de sementes (POSADA et al., 2007; QUESADA-MORAGA et al., 2006; TEFERA; VIDAL, 2009). Porém observaram-se variações no sucesso, extensão da colonização e ocorrência de doenças sistêmicas. Apesar dos avanços, os mecanismos de penetração e colonização endofítica dos fungos endófitos ainda não são totalmente compreendidos.

A ausência de mudanças significativas nas concentrações de H_2O_2 e MDA com a aplicação dos elicitores em campo provavelmente se deve à sobreposição dos efeitos causados

pelo estresse abiótico nas plantas com e sem herbivoria de *S. frugiperda*. O estresse biótico e abiótico em plantas provoca a acumulação de espécies reativas de oxigênio (ERO) como H_2O_2 , que conduz ao dano em macromoléculas, como lipídios de membranas, proteínas e ácidos nucleicos, e, em última instância, desencadeia estresse oxidativo e morte celular (CHAKI; BEGARA-MORALES; BARROSO, 2020). A resposta das plantas ao estresse oxidativo e ativação de seus mecanismos de defesa dependem da interação complexa entre os fatores bióticos (como os elicitores) e abióticos (como as condições climáticas) (REJEB; PASTOR; MAUCH-MANI, 2014). Além disso, a intensidade e a duração do estresse abiótico podem modular a eficácia dos elicitores na ativação das respostas de defesa (AKULA; RAVISHANKAR, 2011). De acordo com os dados climáticos apresentados no período de condução do experimento de campo, o mês de janeiro registrou o pico máximo de precipitação (24,25 mm) e umidade relativa (83,75%), enquanto a temperatura mais alta foi registrada em fevereiro (25,12°C), período em que a aplicação dos elicitores e a coleta das amostras de folhas para as análises químicas ocorreram. Essas condições de alta umidade e precipitação, somadas a temperaturas elevadas, podem gerar estresse abiótico nas plantas, o que pode influenciar sua resposta ao tratamento com elicitores.

Também não foram observadas diferenças na produtividade da cultura da soja em campo tratada com os elicitores. Apesar da ausência de diferenças significativas, de maneira geral MeJA e *B. bassiana* alcançaram numericamente os maiores valores para número de vagens, peso de vagens e peso de grãos. Estes resultados se alinham com pesquisas prévias que avaliaram o efeito de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, no rendimento e produção da soja, sem diferenças nos pesos das plantas e de 100 sementes entre os tratamentos, porém, o tratamento combinado *Beauveria* + *Metarhizium* em diferentes doses resultou em variáveis de produção superiores às da testemunha (PHAVISETH; PHOMMALATH; THAVONESACK, 2023). A infestação artificial de *S. frugiperda* apenas no início de desenvolvimento das plantas, provavelmente contribuiu para a ausência de variações na produtividade de soja em função dos elicitores.

A quantificação de MDA é frequentemente utilizada como marcador de estresse pela peroxidação dos lipídios das membranas, e sua concentração representa o grau de dano desses lipídios (MORALES; MUNNÉ-BOSCH, 2019). Neste estudo, os níveis de H_2O_2 e MDA em condições de campo não apresentaram mudanças significativas entre as plantas de soja tratadas e não tratadas com os elicitores. Resultados similares foram obtidos em plantas de pepino inoculadas com *B. bassiana*, onde o conteúdo de MDA não diferiu significativamente do controle, sugerindo que a colonização endofítica não estressou as plantas

(HOMAYOONZADEH et al., 2022). Em casa de vegetação o conteúdo de H_2O_2 foi maior quando foram aplicados só os elicitores, com um aumento significativo em *M. anisopliae*. Em contraste, o conteúdo de MDA foi menor com a aplicação de *M. anisopliae* em comparação com o controle, sem influência significativa da herbivoria, indicado baixa degradação lipídica.

Embora os fungos entomopatogênicos aplicados via foliar em soja não tenham sido recuperados dos tecidos foliares, o que indica ausência de ação endofítica, eles não precisam estar necessariamente no interior das plantas para induzir resistência. As plantas podem reconhecer microrganismos através de características específicas denominadas de padrões moleculares associadas a microrganismos (microbe-associated molecular patterns, MAMPs). Esses padrões moleculares, como a presença de quitina e β -glucanos (BOLLER; FELIX, 2009; MAUCH-MANI et al., 2017), podem estar presentes tanto em microrganismos patogênicos como benéficos (PIETERSE et al., 2014). Sabe-se que *B. bassiana* pode induzir respostas de defesa sistêmica nas plantas mediante o reconhecimento por receptores de reconhecimento de padrões (OWNLEY; GWINN; VEGA, 2010). Assim, as plantas induzidas com microrganismos benéficos modificam seus compostos metabólicos para reduzir ou inibir a alimentação dos insetos fitófagos (HOKKANEN; MENZLER-HOKKANEN, 2017; MENJIVAR et al., 2012).

Quando *B. bassiana* é aplicado em plantas, produz metabólitos secundários como beauvericina, bassianolídeos, oosporeína, ciclosporina A e ácido oxálico. Estes compostos têm efeitos negativos sobre insetos herbívoros e patógenos devido às suas atividades citotóxicas, antibacterianas e antifúngicas (OWNLEY; GWINN; VEGA, 2010; WANG; XU, 2012). Um exemplo deste efeito foi observado em plantas de tomate inoculadas com *M. brunneum*, *B. bassiana* e *Trichoderma harzianum*, onde houve menor infestação e danos causados pela mosca-branca *Bemisia tabaci* (GUPTA et al., 2022).

Adicionalmente como mecanismos de defesa, as plantas ativam enzimas antioxidantes, incluindo a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e ascorbato peroxidase (APX). Essas enzimas controlam os níveis tóxicos das espécies reativas de oxigênio (ERO), convertendo o H_2O_2 em substâncias não nocivas, protegendo assim a planta dos efeitos do estresse oxidativo e mantendo a homeostase nas células vegetais (DUMANOVIC et al., 2021). As enzimas antioxidantes também facilitam a distinção pelas plantas entre microrganismos endofíticos e patogênicos mediante a transmissão de estímulos de estresse (SAHU et al., 2022). Os fungos endofíticos podem influenciar a produção de enzimas antioxidantes nas plantas quando expostas a estresses (HAMILTON et al., 2012), as quais também podem ser afetadas por inoculações dos fungos isoladamente ou em combinação com herbívoros. Portanto, a atividade

aprimorada do sistema antioxidante pode refletir o potencial das plantas em resistir o ataque de insetos-praga com a inoculação dos fungos (RASOOL et al., 2024).

Entre as enzimas antioxidantes, a atividade da SOD foi maior nas plantas expostas à herbivoria com aplicação de *M. anisopliae*. A SOD é considerada a primeira enzima ativada na linha de defesa contra o dano oxidativo induzido por ERO em quase todas as células vivas (SAHU et al., 2022). Uma alta produção dessa enzima em plantas geralmente se correlaciona com a tolerância ao estresse oxidativo (ALSCHER, 2002). O aumento da atividade da SOD em plantas tratadas com *M. anisopliae* e expostas à herbivoria sugere uma resposta adaptativa ao estresse oxidativo induzido pelo ataque de *S. frugiperda*. Este fenômeno também foi observado em outros estudos, onde a atividade da SOD aumentou em resposta a diversos estresses bióticos, incluindo o ataque de insetos (WAR et al., 2012). Isso está de acordo com os resultados encontrados por Rasool et al. (2024), que relataram que a atividade da SOD foi maior em plantas tratadas com *Metarhizium* sp. na presença de pulgões (*Rhopalosiphum padi*) em comparação com outros tratamentos, sugerindo que isso tenha contribuído para a resistência aos pulgões, provavelmente pela produção elevada de H_2O_2 .

Os resultados do presente trabalho indicam que a atividade da CAT foi influenciada pelos tratamentos sem interação com a herbivoria, onde *B. bassiana* apresentou a maior atividade e *M. anisopliae* a menor. Isso demonstra que *B. bassiana* aplicada em folhas de soja ajuda a eliminar as ERO e prevenir o estresse oxidativo nas células vegetais. Por outro lado, a atividade da APX foi fortemente correlacionada com a herbivoria por *S. frugiperda*, sendo o elicitor *B. bassiana* o que induziu maior atividade de APX.

As catalases estão presentes nos peroxissomos, cloroplastos, citosol e mitocôndrias, normalmente metabolizando o peróxido de hidrogênio sem requerer nenhum equivalente redutor celular, convertendo duas moléculas de H_2O_2 em água e O_2 (OMOARELOJIE et al., 2021)

Os resultados do presente trabalho não se alinham com os reportados por Proietti et al. (2023), que informaram que quando plantas de tomate infectadas com o patógeno *Botrytis cinerea* foram posteriormente colonizadas por *B. bassiana*, as atividades de APX e CAT diminuíram. Os autores sugerem que *B. bassiana* poderia implementar estratégias moleculares para melhorar a resistência da planta. Por outro lado, Rasool et al. (2024), observaram aumento na atividade da CAT em folhas de trigo após tratar as sementes com o fungo *M. brunneum*. Considerando a importante atividade da CAT nas plantas tratadas com *M. brunneum*, os autores levantam a hipótese de que o aumento na produção de CAT elimina o H_2O_2 , convertendo-o em compostos não tóxicos, o que poderia tornar a planta um hospedeiro mais adequado para os pulgões

avaliados, contribuindo assim para um maior crescimento da sua população. Levando em consideração essa hipótese, a acentuada atividade da APX observada com a aplicação foliar de *B. bassiana* combinada com a herbivoria poderia sugerir que o fungo torna a soja mais suscetível para o ataque de *S. frugiperda*.

Diversas pesquisas têm documentado os benefícios dos fungos endofíticos no crescimento e desenvolvimento de culturas agrícolas, incluindo o algodão (LOPEZ; SWORD, 2015), tomate (PRABHUKARTHIKEYAN; SARAVANAKUMAR; RAGUCHANDER, 2014), café (POSADA; VEGA, 2006), milho (RUSSO et al., 2019) e tabaco (QIN et al., 2021). Esses microrganismos demonstram capacidade de controlar pragas e doenças fúngicas, desencadeando mecanismos fisiológicos que promovem a absorção de nutrientes e o crescimento das plantas, além de aumentar a tolerância ao estresse abiótico (GUPTA et al., 2022). Porém, no presente estudo com plantas de soja, não foram evidentes diferenças nos parâmetros de crescimento avaliados em casa de vegetação.

A recuperação dos isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* a partir de fragmentos foliares inoculados com os produtos BV1318 e BV12 não foi bem-sucedida no presente estudo. Esta observação pode ser contextualizada com os resultados de Russo et al. (2019), que relataram taxas variáveis de recuperação entre 10 e 80% de isolados de *B. bassiana*, e entre 0 e 52% para *Metarhizium* spp. A ocorrência endofítica de *B. bassiana* em tecidos vegetais foi avaliada por PCR após 6 semanas em plantas de milho, mas *B. bassiana* não foi documentada em nenhum dos tecidos vegetais acima do solo (TALL; MEYLING, 2018). Outro estudo avaliou o estabelecimento endofítico de *B. bassiana* e *M. anisopliae* inoculados no solo em milho, e seu efeito no controle de larvas de *S. frugiperda*, e foi relatado que *B. bassiana* colonizou raízes, caule e folhas de milho, com maior ocorrência nas raízes, enquanto *M. anisopliae* foi recuperado apenas das raízes (RAMOS et al., 2020a). Esses dados corroboram a hipótese de que a eficiência de recuperação é influenciada pela espécie de fungo, isolado, intervalo pós-inoculação, forma de inoculação, formulação, bem como por fatores ambientais que possam ter ação deletéria sobre as estruturas infectivas.

Considerando esses aspectos, infere-se que condições microclimáticas favoráveis, caracterizadas por exposição solar reduzida, temperaturas moderadas e umidade adequada, são cruciais para otimizar a eficácia dos conídios. No contexto do presente estudo realizado em condições ambientais semi-controladas em casa de vegetação, a impossibilidade de recuperação dos isolados alvo pode ser atribuída à aplicação foliar dos fungos, onde para *M. anisopliae* na maioria de relatos está associado ao solo e rizosfera. No caso de *B. bassiana*, que tem um amplo espectro de colonização, gera outros possíveis cenários que impediram o sucesso na

recuperação como à espécie da planta hospedeira, isolado do fungo, ou talvez poder ser atribuído ao momento da aplicação matutina dos tratamentos, resultando em exposição prolongada às condições térmicas máximas diurnas.

Com o interesse de identificar os fungos obtidos em maior proporção nos fragmentos foliares de soja, foram caracterizados morfológicamente aqueles mais representativos. Assim, no presente estudo foram encontrados como fungos endofíticos os gêneros *Colletotrichum* sp., *Nigrospora* sp., *Fusarium* sp. e *Chaetomium* sp., este como o gênero mais prevalente detectado nos tecidos foliares. A alta frequência de isolamento de *Chaetomium* sp. sugere que era o membro dominante da comunidade endofítica da soja. Os fungos aqui encontrados foram relatados em um estudo de Fernandes et al. (2015) isolados como endófitos em folhas de soja. Entre os fungos endofíticos isolados de diferentes culturas, espécies notoriamente patogênicas são comumente isoladas (FERNANDES et al., 2015). Outro estudo relata o encontro de *Fusarium* sp. e *Nigrospora* sp. como endófitos de soja isolado de raízes, caules e folhas (FAROUK; ATTIA; EL-KATATNY, 2019). Gêneros de *Fusarium* são normalmente encontrados como parasitas causadores doenças em plantas, mas foram isolados como endófito, sem causar danos aparentes à planta, o que comprova que podem viver uma parte de seu ciclo como endofítico (WENSEL, 2012). A composição e a ocorrência de fungos endofíticos em plantas de soja pode ser afetada por várias condições, incluindo o estágio de desenvolvimento da planta. Dalal et al. (2013), observaram que há diferenças significativas na comunidade fúngica endofítica entre as fases vegetativa e reprodutiva da soja. Além disso, Pimentel et al. (2006) destacaram que fatores como a maturidade da planta e o ambiente de cultivo exercem influência sobre a diversidade desses microrganismos.

Avaliar interações planta-microrganismo-inseto é um grande desafio, pois ocorrem múltiplas interações complexas que requerem levar em consideração muitos fatores na avaliação. É necessário aumentar os esforços colaborativos entre biólogos, entomologistas e micologistas para poder elucidar sobre as interações multitróficas e assim identificar o potencial promissor de biocontrole destas associações interespecíficas.

8. CONCLUSÕES

- Os elicitores *B. bassiana* e *M. anisopliae* podem induzir resistência nas plantas de soja, gerando alterações no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*, verificado no ganho de peso de lagartas. No entanto, o MeJA influencia melhor respostas de consumo foliar, a traves de mudanças nas características bioquímicas dos tecidos vegetais;
- A aplicação de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA aumentou o H_2O_2 , sinalizando estresse oxidativo e atenuando a herbivoria. APX aumentou com herbivoria, SOD com *M. anisopliae* e MeJA sob herbivoria, e CAT foi maior sem herbivoria, especialmente com *B. bassiana*;
- A produtividade de grãos de soja não apresentou aumentos significativos com a aplicação dos elicitores *B. bassiana*, *M. anisopliae* e MeJA;
- O crescimento das plantas sem diferenças sugere maior tempo de exposição a herbivoria para poder ter respostas mais claras de indução de resistência;
- A aplicação foliar dos elicitores não resultou em colonização endofítica, mas ativou respostas de defesa via percepção de MAMPs.

9. REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAZEK, A. S. et al. Original Article. An evaluation of some eco-friendly biopesticides against *Bemisia tabaci* on two greenhouse tomato varieties in Egypt. **Journal of Plant Protection Research**, v. 57, n. 1, p. 9–17, 1 ago. 2016.
- ABRAHAM, E. R. et al. Time Series Prediction with Artificial Neural Networks: An Analysis Using Brazilian Soybean Production. **Agriculture**, v. 10, n. 10, p. 475, 15 out. 2020.
- AHMAD, I. et al. Endophytic *Metarhizium robertsii* promotes maize growth, suppresses insect growth, and alters plant defense gene expression. **Biological Control**, v. 144, p. 104167, maio 2020.
- AHSAN, S. M. et al. Plant–Entomopathogenic Fungi Interaction: Recent Progress and Future Prospects on Endophytism-Mediated Growth Promotion and Biocontrol. **Plants**, v. 13, n. 10, p. 1420, 20 maio 2024.
- AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720–1731, 31 nov. 2011.
- ALTAF, N. et al. Endophytic Colonization by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Maize Plants Affects the Fitness of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1067, 19 abr. 2023a.
- ALTAF, N. et al. Endophytic Colonization by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Maize Plants Affects the Fitness of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Microorganisms**, v. 11, n. 4, p. 1067, 19 abr. 2023b.
- ARAÚJO, W. A. DE et al. Cut off Behavior of *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) Seedlings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, 2023.
- BAHADUR, A. The potential of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* to manage insect pests and diseases. **Natural Resources Conservation and Research**, v. 6, n. 2, p. 2543, 18 dez. 2023.
- BALDIN, E. L. L.; VENDRAMIM, J. D.; LOURENÇÃO, A. LUIZ. **Resistência de plantas a insetos: fundamentos e aplicações**. . [s.l.: s.n.]. v. 1, 2019.
- BARROS, E. M. et al. Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 137, n. 3, p. 237–245, 11 dez. 2010.
- BATISTA PEREIRA, L. G. et al. Biological activity of astilbin from *Dimorphandra mollis* against *Anticarsia gemmatilis* and *Spodoptera frugiperda*. **Pest Management Science**, v. 58, n. 5, p. 503–507, 1 maio 2002.

- BATISTELA, M. J. et al. Re-evaluation of leaf-lamina consumer thresholds for IPM decisions in short-season soybeans using artificial defoliation. **Crop Protection**, v. 32, p. 7–11, 1 fev. 2012.
- BENNETT, A. J. et al. Meeting the demand for crop production: the challenge of yield decline in crops grown in short rotations. **Biological Reviews**, v. 87, n. 1, p. 52–71, 1 fev. 2012.
- BERNARDI, O. et al. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, v. 58, p. 33–40, 1 abr. 2014.
- BIGEARD, J.; COLCOMBET, J.; HIRT, H. Signaling Mechanisms in Pattern-Triggered Immunity (PTI). **Molecular Plant**, v. 8, n. 4, p. 521–539, abr. 2015.
- BING, L. A.; LEWIS, L. C. Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. **Environmental Entomology**, v. 20, n. 4, p. 1207–1211, 1 ago. 1991.
- BOLLER, T.; FELIX, G. A Renaissance of Elicitors: Perception of Microbe-Associated Molecular Patterns and Danger Signals by Pattern-Recognition Receptors. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, n. 1, p. 379–406, 1 jun. 2009.
- BUENO, R. C. O. F. et al. Integrated Management of Soybean Pests: The Example of Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v. 28, n. 4, p. 149–153, 1 ago. 2017.
- CAO, D. et al. Adaptive Mechanisms of Soybean Grown on Salt-Affected Soils. **Land Degradation & Development**, v. 29, n. 4, p. 1054–1064, 10 abr. 2018.
- CHAKI, M.; BEGARA-MORALES, J. C.; BARROSO, J. B. Oxidative Stress in Plants. **Antioxidants**, v. 9, n. 6, p. 481, 3 jun. 2020.
- CHEN, X. et al. Plant Specialized Metabolism Regulated by Jasmonate Signaling. **Plant and Cell Physiology**, v. 60, n. 12, p. 2638–2647, 1 dez. 2019.
- CREELMAN, R. A.; MULLET, J. E. Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. **The Plant Cell**, v. 9, n. 7, p. 1211–1223, jul. 1997.
- CUNHA, R. C.; ESPÍNDOLA, C. J. A dinâmica geoeconômica recente da cadeia produtiva da soja no Brasil e no mundo. **GeoTextos**, v. 11, n. 1, 10 jul. 2015.
- DALAL, J.; KULKARNI, N. Population Dynamics and Diversity of Endophytic Bacteria Associated with Soybean (*Glycine max* (L) Merril). **British Microbiology Research Journal**, v. 3, n. 1, p. 96–105, 10 jan. 2013.
- DANNON, H. F. et al. Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. **Journal of Cotton Research**, v. 3, n. 1, p. 24, 30 dez. 2020.

DARSOUËI, R.; KARIMI, J.; STELINSKI, L. L. Endophytic colonization of sugar beet by *Beauveria varroae* and *Beauveria bassiana* reduces performance and host preference in army worm, *Spodoptera littoralis*. **Crop Protection**, v. 175, p. 106441, jan. 2024.

DE LA ROSA, W. et al. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) under field conditions **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 5, p. 1409–1414, 1 out. 2000.

DIVEKAR, P. A. et al. Plant Secondary Metabolites as Defense Tools against Herbivores for Sustainable Crop Protection. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 5, p. 2690, 28 fev. 2022.

DOS SANTOS, K. B. et al. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, v. 50, n. 2, p. 157–163, 1 ago. 2009.

DUMANOVIĆ, J. et al. The Significance of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense System in Plants: A Concise Overview. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 6 jan. 2021.

EDWARDS MOLINA, J. P. et al. Soybean target spot caused by *Corynespora cassiicola*: a resurgent disease in the Americas. **Tropical Plant Pathology**, v. 47, n. 3, p. 315–331, 1 jun. 2022.

ERB, M.; REYMOND, P. Molecular Interactions Between Plants and Insect Herbivores. **Annual Review of Plant Biology**, v. 70, n. 1, p. 527–557, 29 abr. 2019.

FANG, W.; PEI, Y.; BIDOCHKA, M. J. A regulator of a G protein signalling (RGS) gene, *cag8*, from the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* is involved in conidiation, virulence and hydrophobin synthesis. **Microbiology**, v. 153, n. 4, p. 1017–1025, 1 abr. 2007.

FAROUK, H.; ATTIA, E.; EL-KATATNY, M. Hydrolytic enzyme production of endophytic fungi isolated from soybean (*Glycine max*). **Journal of Modern Research**, v. 0, n. 0, p. 0–0, 15 set. 2019.

FATORETTO, J. C. et al. Adaptive Potential of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Limits Bt Trait Durability in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 8, n. 1, p. 17, 1 jan. 2017.

FERNANDES, E. G. et al. Diversity of endophytic fungi in *Glycine max*. **Microbiological Research**, v. 181, p. 84–92, dez. 2015.

FROST, C. J. et al. Plant Defense Priming against Herbivores: Getting Ready for a Different Battle. **Plant Physiology**, v. 146, n. 3, p. 818–824, 3 mar. 2008.

FÜRSTENBERG-HÄGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant Defense against Insect Herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10242–10297, 16 maio 2013.

GÓMEZ-VIDAL, S. et al. Proteomic analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L) responses to endophytic colonization by entomopathogenic fungi. **ELECTROPHORESIS**, v. 30, n. 17, p. 2996–3005, 26 set. 2009.

GOWTHAM, H. G. et al. Fungal Endophytes as Mitigators against Biotic and Abiotic Stresses in Crop Plants. **Journal of Fungi**, v. 10, n. 2, p. 116, 30 jan. 2024.

GUO, B. et al. Soybean genetic resources contributing to sustainable protein production. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 135, n. 11, p. 4095–4121, 14 nov. 2022.

GUPTA, R. et al. The Entomopathogenic Fungi *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana* Promote Systemic Immunity and Confer Resistance to a Broad Range of Pests and Pathogens in Tomato. **Phytopathology®**, v. 112, n. 4, p. 784–793, abr. 2022.

GUPTA, R.; BAR, M. Plant Immunity, Priming, and Systemic Resistance as Mechanisms for *Trichoderma* spp. Biocontrol. Em: [s.l: s.n.]. p. 81–110.

HAMILTON, C. E. et al. Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: a review. **Fungal Diversity**, v. 54, n. 1, p. 1–10, 23 maio 2012.

HAN, G.-Z. Evolution of jasmonate biosynthesis and signaling mechanisms. **Journal of Experimental Botany**, p. erw470, 21 dez. 2016.

HANAKA, A.; NURZYŃSKA-WIERDAK, R. Methyl jasmonato: a multifunctional molecule throughout the whole plant life. **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, v. 18, n. 2, 18 abr. 2019.

HAO, Q. et al. Endophytic *Metarhizium anisopliae* is a potential biocontrol agent against wheat Fusarium head blight caused by *Fusarium graminearum*. **Journal of Plant Pathology**, v. 103, n. 3, p. 875–885, 6 ago. 2021.

HARDKE, J. T.; LORENZ, G. M.; LEONARD, B. R. Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Ecology in Southeastern Cotton. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 6, n. 1, p. 10–10, 1 jun. 2015.

HOMAYOONZADEH, M. et al. Inoculation of cucumber plants with *Beauveria bassiana* enhances resistance to *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and increases aphid susceptibility to pirimicarb. **European Journal of Entomology**, v. 119, p. 1–11, 7 jan. 2022.

HOWE, G. A.; JANDER, G. Plant Immunity to Insect Herbivores. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, n. 1, p. 41–66, 1 jun. 2008.

HUFFAKER, A. et al. Plant elicitor peptides are conserved signals regulating direct and indirect antiherbivore defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 14, p. 5707–5712, 2 abr. 2013.

HUMBER, R. A. Evolution of entomopathogenicity in fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, n. 3, p. 262–266, jul. 2008.

- ISLAM, S. M. N. et al. Biocontrol potential of native isolates of *Beauveria bassiana* against cotton leafworm *Spodoptera litura* (Fabricius). **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 8331, 23 maio 2023.
- IWANICKI, N. S. et al. Monitoring of the field application of *Metarhizium anisopliae* in Brazil revealed high molecular diversity of *Metarhizium* spp in insects, soil and sugarcane roots. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 4443, 14 mar. 2019.
- KHAN, A. L. et al. Pure culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 reprograms soybean to higher growth and mitigates salt stress. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1483–1494, 22 abr. 2012.
- LIANG, W. ZHEN; KIRK, K. R.; GREENE, J. K. Estimation of soybean leaf area, edge, and defoliation using color image analysis. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 150, p. 41–51, 1 jul. 2018.
- LIRA, A. C. DE; MASCARIN, G. M.; DELALIBERA JÚNIOR, Í. Microsclerotia production of *Metarhizium* spp. for dual role as plant biostimulant and control of *Spodoptera frugiperda* through corn seed coating. **Fungal Biology**, v. 124, n. 8, p. 689–699, ago. 2020.
- LIU, Y.; YANG, Y.; WANG, B. Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* play roles of maize (*Zea mays*) growth promoter. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 15706, 20 set. 2022.
- LOPEZ, D. C.; SWORD, G. A. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). **Biological Control**, v. 89, p. 53–60, out. 2015.
- LU, J. et al. Induced Jasmonate Signaling Leads to Contrasting Effects on Root Damage and Herbivore Performance. **Plant Physiology**, v. 167, n. 3, p. 1100–1116, 27 fev. 2015.
- MACHADO, E. P. et al. Cross-crop resistance of *Spodoptera frugiperda* selected on Bt maize to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins in Brazil. **Scientific Reports 2020 10:1**, v. 10, n. 1, p. 1–9, 22 jun. 2020.
- MAFFEI, M. E.; ARIMURA, G.-I.; MITHÖFER, A. Natural elicitors, effectors and modulators of plant responses. **Natural Product Reports**, v. 29, n. 11, p. 1288, 2012.
- MARUTHADURAI, R.; RAMESH, R. Occurrence, damage pattern and biology of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on fodder crops and green amaranth in Goa, India. **Phytoparasitica**, v. 48, n. 1, p. 15–23, 9 fev. 2020.
- MASCARIN, G. M.; JARONSKI, S. T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 177, 15 nov. 2016.
- MAUCH-MANI, B. et al. Defense Priming: An Adaptive Part of Induced Resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 68, n. 1, p. 485–512, 28 abr. 2017.

MENJIVAR, R. D. et al. Induction of metabolite organic compounds by mutualistic endophytic fungi to reduce the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) infection on tomato. **Plant and Soil**, v. 352, n. 1–2, p. 233–241, 1 mar. 2012.

MORALES, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Malondialdehyde: Facts and Artifacts. **Plant Physiology**, v. 180, n. 3, p. 1246–1250, 28 jul. 2019.

MWAMBURI, L. A. Endophytic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, confer control of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), in two tomato varieties. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, n. 1, p. 7, 5 dez. 2021.

NAGOSHI, R. N. et al. Analysis of strain distribution, migratory potential, and invasion history of fall armyworm populations in northern Sub-Saharan Africa. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 3710, 27 fev. 2018.

OMOARELOJIE, L. O. et al. Biostimulants and the modulation of plant antioxidant systems and properties. Em: **Biostimulants for Crops from Seed Germination to Plant Development**. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 333–363.

ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N. Action on the Surface: Entomopathogenic Fungi versus the Insect Cuticle. **Insects**, v. 4, n. 3, p. 357–374, 16 jul. 2013.

OWNLEY, B. H. et al. *Beauveria bassiana*: Endophytic colonization and plant disease control. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, n. 3, p. 267–270, jul. 2008.

OWNLEY, B. H.; GWINN, K. D.; VEGA, F. E. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. **BioControl**, v. 55, n. 1, p. 113–128, 28 fev. 2010.

PANIZZI, A. R.; OLIVEIRA, É. D. M. Performance and seasonal abundance of the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* nymphs and adults on a novel food plant (pigeonpea) and soybean. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 88, n. 2, p. 169–175, 1 ago. 1998.

PAVA-RIPOLL, M. et al. Increased pathogenicity against coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) by *Metarhizium anisopliae* expressing the scorpion toxin (AaIT) gene. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 99, n. 2, p. 220–226, out. 2008.

PHAVISETH, K.; PHOMMALATH, S.; THAVONESACK, T. Controlling Soybean Insect Pests and Yield Losses with Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **International Journal of Agricultural Economics**, 28 dez. 2023.

PIMENTEL, I. C. et al. Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 5, p. 705–711, set. 2006.

PINTO-ZEVALLOS, D. M. et al. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, v. 36, n. 9, p. 1395–1405, 2013.

PITRE; HOGG. **Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn [Spodoptera frugiperda]**. Disponível em: <<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19840041695>>. Acesso em: 9 jun. 2023.

PITTNER, E. et al. Defense responses of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) against brown spot as a result of possible elicitors application. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, 2019.

POSADA, F. et al. Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). **Mycological Research**, v. 111, n. 6, p. 748–757, jun. 2007.

POSADA, F.; VEGA, F. E. Inoculation and colonization of coffee seedlings (*Coffea arabica* L.) with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). **Mycoscience**, v. 47, n. 5, p. 284–289, out. 2006.

PRABHUKARTHIKEYAN, R.; SARAVANAKUMAR, D.; RAGUCHANDER, T. Combination of endophytic *Bacillus* and *Beauveria* for the management of *Fusarium* wilt and fruit borer in tomato. **Pest Management Science**, v. 70, n. 11, p. 1742–1750, nov. 2014.

PROIETTI, S. et al. *Beauveria bassiana* rewires molecular mechanisms related to growth and defense in tomato. **Journal of Experimental Botany**, v. 74, n. 14, p. 4225–4243, 3 ago. 2023.

PUENTES, A. et al. Variation in Methyl Jasmonate-Induced Defense Among Norway Spruce Clones and Trade-Offs in Resistance Against a Fungal and an Insect Pest. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 24 maio 2021.

QIN, X. et al. Pest management via endophytic colonization of tobacco seedlings by the insect fungal pathogen *Beauveria bassiana*. **Pest Management Science**, v. 77, n. 4, p. 2007–2018, 12 abr. 2021.

QUESADA-MORAGA, E. et al. Endophytic Colonisation of Opium Poppy, *Papaver somniferum*, by an Entomopathogenic *Beauveria bassiana* Strain. **Mycopathologia**, v. 161, n. 5, p. 323–329, maio 2006.

RAJAB, L.; AHMAD, M.; GAZAL, I. Endophytic establishment of the fungal entomopathogen, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil., in cucumber plants. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, p. 143, 30 dez. 2020.

RAMOS, Y. et al. Endophytic establishment of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in maize plants and its effect against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, p. 20, 2 dez. 2020a.

RAMOS, Y. et al. Endophytic establishment of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in maize plants and its effect against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, p. 20, 2 dez. 2020b.

- RAO, Q.-R.; RAO, J.-B.; ZHAO, M. Chemical diversity and biological activities of specialized metabolites from the genus *Chaetomium*: 2013–2022. **Phytochemistry**, v. 210, p. 113653, jun. 2023.
- RASOOL, S. et al. Enzyme regulation patterns in fungal inoculated wheat may reflect resistance and tolerance towards an insect herbivore. **Journal of Plant Physiology**, v. 300, p. 154298, set. 2024.
- REHNER, S. A. et al. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. **Mycologia**, v. 103, n. 5, p. 1055–1073, 20 set. 2011.
- REJEB, I.; PASTOR, V.; MAUCH-MANI, B. Plant Responses to Simultaneous Biotic and Abiotic Stress: Molecular Mechanisms. **Plants**, v. 3, n. 4, p. 458–475, 15 out. 2014.
- RIAHI, C. et al. Eliciting Plant Defenses Through Herbivore-Induced Plant Volatiles' Exposure in Sweet Peppers. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 9, 4 jan. 2022.
- RUSSO, M. L. et al. Effect of endophytic entomopathogenic fungi on soybean *Glycine max* (L.) Merr. growth and yield. **Journal of King Saud University - Science**, v. 31, n. 4, p. 728–736, out. 2019.
- SAHU, P. K. et al. ROS generated from biotic stress: Effects on plants and alleviation by endophytic microbes. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 24 out. 2022.
- SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, A. R. et al. An endophytic *Beauveria bassiana* strain increases spike production in bread and durum wheat plants and effectively controls cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) larvae. **Biological Control**, v. 116, p. 90–102, jan. 2018.
- SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M. H. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. **Toxicon**, v. 56, n. 7, p. 1267–1274, dez. 2010a.
- SHAHID, A. et al. Entomopathogenic fungi as biological controllers: New insights into their virulence and pathogenicity. **Archives of Biological Sciences**, v. 64, n. 1, p. 21–42, 2012.
- STEINBRENNER, A. D. et al. A receptor-like protein mediates plant immune responses to herbivore-associated molecular patterns. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 49, p. 31510–31518, 8 dez. 2020.
- STENBERG, J. A. et al. Optimizing Crops for Biocontrol of Pests and Disease. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 11, p. 698–712, nov. 2015.
- STOUT, M. J.; BERNAOLA, L.; ACEVEDO, F. Recent history and future trends in host–plant resistance. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 117, n. 3, p. 139–149, 17 maio 2024.
- TALL, S.; MEYLING, N. V. Probiotics for Plants? Growth Promotion by the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Depends on Nutrient Availability. **Microbial Ecology**, v. 76, n. 4, p. 1002–1008, 28 nov. 2018.

- TAN, C.-W. et al. Methyl jasmonate induced responses in four plant species and its effect on *Spodoptera litura* Fab. performance. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 14, n. 3, p. 263–269, set. 2011.
- TASIOR, D.; RUTHES, E. Método rápido de detecção molecular de *Colletotrichum* sp. Em sementes de soja e feijão / Rapid molecular detection method of *Colletotrichum* sp. In soybean and bean seeds. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 5, n. 2, p. 1902–1911, 5 maio 2022.
- TEFERA, T.; VIDAL, S. Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **BioControl**, v. 54, n. 5, p. 663–669, 24 out. 2009.
- WANG, M. et al. The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response. **International Journal of Molecular Sciences** 2013, Vol. 14, Pages 7370-7390, v. 14, n. 4, p. 7370–7390, 2 abr. 2013.
- WANG, Q.; XU, L. Beauvericin, a Bioactive Compound Produced by Fungi: A Short Review. **Molecules**, v. 17, n. 3, p. 2367–2377, 24 fev. 2012.
- WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306–1320, 31 out. 2012.
- WESTBROOK, J. K. et al. Modeling seasonal migration of fall armyworm moths. **International Journal of Biometeorology**, v. 60, n. 2, p. 255–267, 5 fev. 2016.
- YAKHIN, O. I. et al. Biostimulants in plant science: A global perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 238366, 26 jan. 2017.
- YU, S. J.; NGUYEN, S. N.; ABO-ELGHAR, G. E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 77, n. 1, p. 1–11, 1 set. 2003.
- ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, n. 6, p. 553–596, 5 jun. 2007a.
- ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, n. 9, p. 879–920, 26 out. 2007b.