**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Potencial da inoculação de fungos entomopatogênicos no plantio da soja
para o manejo de pragas**

Fernando Belezini Vinha

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2018**

Fernando Belezini Vinha
Graduação em Engenharia Agrônoma

**Potencial da inoculação de fungos entomopatogênicos no plantio da soja
para o manejo de pragas**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

Prof. Dr. **ITALO DELALIBERA JUNIOR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

Piracicaba
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Vinha, Fernando Belezini

Potencial da inoculação de fungos
entomopatogênicos no plantio da soja para o manejo de
pragas / Fernando Belezini Vinha. - - versão revisada
de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - -
Piracicaba, 2018.

96 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Soja 2. Fungos entomopatogênicos 3. Inoculação;
Mortalidade 4. Mortalidade I. Título

DEDICATÓRIA

A **Deus**, por ser essencial em minha vida e que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.

Aos meus pais **Sirlei** e **Adriano** que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

A minha companheira **Andressa**, que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades.

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) e a Universidade de São Paulo (USP) pelo acolhimento e qualificação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos concedida;

Ao Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, principalmente aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia pelos ensinamentos prestados;

Ao Prof. Dr. Italo Delalibera Junior, pela orientação, pela partilha de conhecimento, paciência, incentivos e pela atenção no período final de elaboração desta dissertação;

Aos amigos do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos da ESALQ-USP, pelo aprendizado, amizade e colaboração com as tarefas, em especial à Celeste P. D’Alessandro, Ana Carolina O. Siqueira e Ana Beatriz R. Zanardo;

A todos os estagiários que contribuíram para o desenvolvimento dos experimentos de minha pesquisa, em especial ao Vitor;

Aos amigos que fiz durante as disciplinas do Mestrado, pelo apoio nos trabalhos, principalmente ao Murilo, Vitor, Laís e Caio;

À Neide Graciano Zério, pelo apoio e diversas vezes ter cedido lagartas para o desenvolvimento de todos experimentos desse trabalho;

À Prof. Dra. Clarisse Gracia B. Demétrio e ao aluno Eduardo Elias R. Junior pelo auxílio nas análises estatísticas do experimento 3.6 desta dissertação;

À minha família e amigos pelo apoio, incentivo e carinho durante toda minha jornada;

*A curiosidade do espírito na busca de princípios certos,
é o primeiro passo para a conquista da sabedoria.*

Sócrates

Se, a princípio, a ideia não é absurda, então não há esperança para ela.

Albert Einstein

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Teresa de Calcuta

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT.....	9
1.INTRODUÇÃO.....	11
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 A cultura da soja	13
2.2. Principais pragas da cultura da soja	14
2.2.1 <i>Chrysodeixis includens</i>	15
2.2.2 <i>Helicoverpa armigera</i>	17
2.2.3 <i>Bemisia tabaci</i>	18
2.3 Fungos entomopatogênicos e relação endofítica com plantas	20
2.4 Fungos entomopatogênicos endofíticos e seu potencial no controle biológico de pragas	23
3.MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1 Preparo dos fungos entomopatogênicos.....	29
3.2 Inoculação dos fungos entomopatogênicos em sementes de soja e substrato.....	30
3.3 Obtenção dos insetos.....	31
3.4 Parâmetros biológicos e consumo foliar de <i>Chrysodeixis includens</i> e <i>Helicoverpa armigera</i> alimentadas com discos de folha de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos.....	32
3.5 Parâmetros biológicos de <i>Chrysodeixis includens</i> e <i>Helicoverpa armigera</i> alimentadas em plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos	33
3.6 Preferência alimentar das lagartas de <i>Chrysodeixis includens</i> e <i>Helicoverpa armigera</i> alimentadas com discos de folha de soja	34
3.7 Avaliação da preferência de oviposição de <i>Bemisia tabaci</i> por plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos.....	35
3.8 Efeitos da inoculação de fungos entomopatogênicos em plantas de soja no desenvolvimento de <i>Bemisia tabaci</i> raça B	37
3.9 Conteúdo nutricional das folhas de plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos.....	37
3.10 Colonização e persistência dos fungos entomopatogênicos em plantas de soja e no substrato	38
3.11 Análises estatísticas.....	39
4. RESULTADOS.....	43
4.1 Parâmetros biológicos e consumo foliar de <i>Chrysodeixis includens</i> e <i>Helicoverpa armigera</i> alimentadas com discos de folha de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos.....	43
4.1.1 Ganho de peso e consumo foliar de <i>C. includens</i> e <i>H. armigera</i> alimentadas com discos de folha de soja	43
4.1.2 Sobrevivência de <i>C. includens</i> e <i>H. armigera</i> alimentadas com discos de folha de soja.....	48

4.1.3 Período de desenvolvimento e peso de pupas de <i>C. includens</i> e <i>H. armigera</i> alimentadas com discos de folha de soja.....	51
4.2 Parâmetros biológicos de <i>Chrysodeixis includens</i> e <i>Helicoverpa armigera</i> alimentadas em plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos.....	55
4.2.1 Ganho de peso de <i>C. includens</i> e <i>H. armigera</i> em plantas de soja.....	55
4.2.2 Sobrevivência de <i>C. includens</i> e <i>H. armigera</i> em plantas de soja.....	58
4.2.3 Período de desenvolvimento e peso de pupas de <i>C. includens</i> e <i>H. armigera</i> alimentadas com plantas de soja.....	61
4.3 Preferência alimentar das lagartas de <i>Chrysodeixis includens</i> e <i>Helicoverpa armigera</i> alimentadas com discos de folha de soja provenientes de plantas inoculadas com fungos..	65
4.4 Avaliação da preferência para alimentação e postura de ovos de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B em plantas de soja	67
4.5 Efeitos no desenvolvimento de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B em plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos	68
4.6 Análise foliar de plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos.....	69
4.7 Colonização e persistência dos fungos entomopatogênicos em plantas de soja e no substrato.....	70
5. DISCUSSÃO	73
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS.	80

RESUMO

Potencial da inoculação de fungos entomopatogênicos no plantio da soja para o manejo de pragas

Estudos recentes têm demonstrado que os fungos entomopatogênicos podem ter efeitos benéficos para as plantas como promotores de crescimento, antagonistas de fitopatógenos e agentes de proteção contra herbivoria. O potencial da associação dos fungos entomopatogênicos com a cultura da soja ainda não foi revelado. Nesse sentido, objetivou-se com este estudo, determinar a efeitos de fungos entomopatogênicos no desenvolvimento de pragas importantes da soja inoculados durante o plantio desta cultura. Avaliou-se os efeitos de três fungos entomopatogênicos, *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 e *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422, no desenvolvimento e preferência alimentar de lagartas de *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera*, e adultos e ninfas da mosca-branca *Bemisia tabaci*, após a inoculação em plantas de soja BRS 232 em casa-de-vegetação. A mortalidade e os parâmetros biológicos das pragas foram avaliados nos indivíduos alimentados com discos de folhas e em plantas inteiras de soja que foram inoculadas com os fungos. Além disto, foi investigado a persistência dos fungos entomopatogênicos nas plantas de soja e no substrato, e o diagnóstico nutricional realizado através da análise foliar das plantas. As mortalidades observadas em lagartas de *C. includens* que se alimentaram de discos de folhas das plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos foram significativamente maiores (33% - 65%) do que no controle (12% - 13%). Os resultados de mortalidade no experimento com plantas inteiras foram semelhantes aos de discos de folhas, mas as diferenças foram estatisticamente significativas em apenas um dos dois experimentos. As mortalidades de *H. armigera* nas plantas inoculadas com fungos variaram de 36% a 60% enquanto no controle foi inferior a 16%, tanto com folhas quanto em plantas inteiras, mas estas diferenças não foram estatisticamente significativas. Em geral, as lagartas que se alimentaram de plantas inoculadas com fungos apresentaram menor consumo foliar e tanto as lagartas quanto as pupas atingiram pesos menores do que aquelas criadas em plantas não inoculadas. O período de lagartas a pupa foi igual ou maior nos tratamentos com os fungos. Nos testes de múltipla escolha as lagartas *C. includens* e *H. armigera*, em geral, preferiram se alimentar de folhas inoculadas com os fungos especialmente *B. bassiana*. Por outro lado, *B. tabaci* preferiu as plantas não inoculadas, onde foram observados maiores números de ninfas geradas. A inoculação das plantas de soja com os fungos não alterou o conteúdo nutricional das folhas em relação as plantas não inoculadas. Os fungos permaneceram em elevadas concentrações no substrato por 45 dias, e após 60 dias a densidade de *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 era superior aos dos demais fungos. Estes resultados revelam que os fungos entomopatogênicos apresentam potencial para serem utilizados via inoculação no substrato durante o plantio.

Palavras-chave: Soja; Fungos entomopatogênicos; Inoculação; Mortalidade

ABSTRACT

Potential of the inoculation of entomopathogenic fungi in soybean planting for pest management

Recent studies have shown that entomopathogenic fungi may have beneficial effects on plants such as growth promoters, phytopathogen antagonists and herbivory protection agents. The potential of the association of entomopathogenic fungi with soybean cultivation has not been revealed. In this sense, the objective of this study was to determine the effects of entomopathogenic fungi on the development of important soybean pests inoculated during planting of this crop. The effects of three entomopathogenic fungi, *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 and *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422, in the development and feeding preference of caterpillars *Chrysodeixis includens* and *Helicoverpa armigera*, and whitefly *Bemisia tabaci* adults and nymphs, after inoculation in soybean plants BRS 232 in a greenhouse. Mortality and biological parameters of the pests were evaluated in individuals fed on leaf discs and in whole soybean plants that were inoculated with the fungi. In addition, we investigated the persistence of entomopathogenic fungi in soybean plants and substrate, and the nutritional status carried out through leaf analysis of plants. The mortalities observed in *C. includens* caterpillars that fed leaf discs of the plants inoculated with the entomopathogenic fungi were significantly higher (33% - 65%) than in the control (12% - 13%). Mortality results in the whole plant experiment were similar to leaf discs, but the differences were statistically significant in only one of the two experiments. The *H. armigera* mortalities in fungi-inoculated plants varied from 36% to 60% while in the control it was less than 16%, both with leaves and whole plants, but these differences were not statistically significant. In general, caterpillars that fed on fungus inoculated plants had lower leaf consumption and both caterpillars or pupae reached lower weights than those reared on uninoculated plants. The period of caterpillars to pupae was equal to or greater in treatments with fungi. In the multiple choice tests, *C. includens* and *H. armigera* larvae, in general, preferred to feed on leaves inoculated with the fungi, especially with *B. bassiana*. On the other hand, *B. tabaci* preferred the uninoculated plants, where larger numbers of nymphs were observed. The inoculation of the soybean plants with the fungi did not alter the nutritional content of the leaves in relation to the uninoculated plants. The fungi remained in high concentrations in the substrate for 45 days, and after 60 days the density of *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 was superior to the other fungi. These results reveal that the entomopathogenic fungi present potential to be used via substrate inoculation during planting.

Keywords: Soybean; Entomopathogenic fungi; Inoculation; Mortality

1. INTRODUÇÃO

A soja *Glycine max.* (L.) é uma das principais culturas no mundo e o Brasil é o segundo maior produtor do grão (FIESP 2017). A soja é um dos principais produtos exportados pelo Brasil e uma commodity essencial na economia brasileira. No ano de 2017, as exportações de soja do Brasil cresceram cerca de 32 por cento em 2017 em relação a 2016 e o país exportou 68,15 milhões de toneladas da commodity (MDIC, 2017).

No entanto, apesar dos resultados expressivos, a produtividade de grãos de soja está relacionada com a ocorrência de insetos-pragas que causam danos, perdas e aumentam os custos de produção. Dentre as pragas da soja, existem duas importantes espécies de lagartas desfolhadoras *Chrysodeixis includens* (Walker) e *Helicoverpa armigera* (Hübner) que causam grandes danos, e um inseto sugador chamado mosca-branca, *Bemisia tabaci*, que tem causado danos significativos nos últimos anos.

Em plantas de soja, a mosca-branca causa dano direto tanto pelas ninfas como pelos adultos, que ao se estabelecerem na face inferior da folha sugam a seiva, extraindo carboidratos e aminoácidos, podendo causar folhas com manchas cloróticas, murcha e queda, além de ser transmissora do vírus da “necrose-da-haste” e favorecer o desenvolvimento de fumagina. Em sistemas de cultivo intensivo, como é o caso da maioria das lavouras de soja no Brasil, o controle de pragas é realizado essencialmente através do uso de inseticidas químicos (MOSCARDI et al., 2013; ÁVILA; VIVAN e TOMQUESLK, 2013). O uso abusivo de defensivos de amplo espectro de ação tem reduzido populações de inimigos naturais das pragas, levando ao desequilíbrio dos agrossistemas e à surtos populacionais de pragas, antes consideradas como secundárias (BUENO et al., 2007; MOSCARDI et al., 2013).

Desta maneira, se destaca a necessidade da busca por métodos de controle alternativos aos químicos. Os fungos entomopatogênicos podem infectar um amplo numero de insetos pragas e manter a população de pragas em equilíbrio através de epizootias no campo, portanto, são utilizados como agentes de controle biológico de pragas (ALVES, 1998). O uso de fungos entomopatogênicos na agricultura brasileira vem aumentando significativamente nos últimos anos e diversas empresas nacionais e multinacionais vem desenvolvendo biopesticidas a base desses patógenos.

Os biopesticidas geram novas alternativas eficientes para o controle de pragas e com um impacto menor para o agroecossistema. Estudos recentes têm demonstrado que os fungos entomopatogênicos podem ter efeitos benéficos para as plantas sendo promotores de crescimento, antagonistas de fitopatógenos e agentes de proteção contra herbivoria. Alguns desses estudos mostram que os fungos *Metarhizium anisopliae* (Metchinikoff) Sorokin

(Hypocreales: Clavicipitaceae) e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Cordycipitaceae) além de causar mortalidade, também são capazes de colonizar endofiticamente uma ampla variedade de espécies de plantas (AKELLO et al., 2008; GURULINGAPPA et al., 2010; OWNLEY et al., 2010; QUESADA-MORAGA et al., 2009; TEFERA; VIDAL, 2009), proporcionando benefícios no crescimento (SASAN; BIDOCHKA, 2012); na aquisição de nutrientes (BEHIE et al., 2012; BEHIE; BIDOCHKA, 2014; FANG; ST. LEGER, 2010); proteção contra fitopatógenos (SASAN; BIDOCHKA, 2013); herbivoria (PARSA et al., 2013) e; stress abiótico (KHAN et al., 2012).

Poucos estudos foram realizados sobre a colonização de fungos entomopatogênicos na cultura da soja, e ainda são muito incipientes os trabalhos que estudaram os efeitos endofíticos nessa cultura, sendo que também não é conhecido o potencial destes fungos inoculados em soja e suas relações com as pragas.

A incorporação de fungos entomopatogênicos eficazes no controle de pragas e fitopatógenos e ao mesmo tempo capazes de promover o crescimento de plantas representaria uma ferramenta importante para o manejo integrado de pragas em soja. Neste contexto, o presente estudo objetivou analisar as interações endofíticas entre fungos entomopatogênicos dos gêneros *Metarhizium*, *Beauveria* e *Isaria* e as plantas de soja, sobre o desenvolvimento de três importantes pragas da sojicultura: *Chrysodeixis includens*, *Helicoverpa armigera* e *Bemisia tabaci* biótipo B, visando a melhor compreensão das relações entre fungos entomopatogênicos, plantas e pragas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da soja

A soja, oleaginosa típica de países temperados, foi tropicalizada no Brasil e apresenta-se como uma das culturas mais bem estabelecida no território brasileiro. Começou a ser cultivada nos estados do Sul na década de 1970, e atualmente ocupa áreas do Centro-oeste e Sudeste com cerca de 22 milhões de hectares de área plantada no Brasil (MACEDO & NOGUEIRA, 2005), representando em 2017 cerca de 34 milhões de hectares de área plantada e uma produção de aproximadamente 115 milhões de toneladas no Brasil (IBGE, 2017).

A soja, *Glycine max.* (L.), nos últimos 50 anos despertou um aumento no interesse dos produtores pela cultura, devido principalmente à explosão do preço no mercado mundial, isso fez com que a área cultivada no Brasil crescesse de 240 mil ha em 1961 a 35 milhões de ha em 2017/2018 (CONAB, 2018). A crescente demanda mundial por alimentos mantém a soja como umas das principais fontes de proteína vegetal. Componente essencial na fabricação de rações animais e de importância cada vez maior na alimentação humana, a oleaginosa é a cultura agrícola que mais cresceu no Brasil nas últimas décadas, chegando metade da área plantada com grãos no país (MAPA, 2014).

O Brasil é um dos grandes produtores mundiais do grão, com disponibilidade de diversas tecnologias de produção que permitem o aumento da produtividade. Conforme dados da Companhia Nacional de Abastecimento do Brasil (CONAB, 2018), a safra de soja no país, no ciclo 2017/2018, chegou a 114.962 mil toneladas, com a produção liderada pelos estados de Mato Grosso (27,4% da produção); Paraná (16,6%); Rio Grande do Sul (14,4%); Goiás (9,7%); Mato Grosso do Sul (8%) e Bahia (4,5%).

A modernização da agricultura brasileira trouxe consequências sobre o processo produtivo, entre as quais a necessidade de maximizar o uso dos fatores de produção, ou seja, a eficiência produtiva, obtendo maiores níveis de produtividade e rentabilidade. Nesse sentido, a administração rural representa uma alternativa ao identificar os principais obstáculos, dentro dos sistemas produtivos, coletando informações que possam gerar intervenções a fim de aumentar sua eficiência (VIANA; SILVEIRA, 2008).

Paralelamente a esses fatos, ocorreram mudanças altamente significativas de natureza estrutural, tecnológica e mercadológica, vinculada à produção mundial e brasileira. Além disso, percebe-se que, ao longo do tempo, os preços dos insumos apresentaram grande volatilidade (HIRAKURI e LAZZAROTTO, 2010). Neste contexto, o controle, por meio de

ferramentas que consigam mensurar custos e receitas, é essencial para visualizar a rentabilidade do setor.

2.2. Principais pragas da cultura da soja

A soja é hospedeira para vários artrópodes e suas lavouras sofrem pressão por ataque de diferentes pragas durante todo o seu ciclo, o que pode reduzir significativamente o rendimento da cultura. Cerca de 35 insetos-pragas são consideradas como relevantes nas lavouras da oleaginosa e o nível de ocorrência de cada uma pode variar de acordo com fatores regionais, como sistema de cultivo adotado, variações regionais de clima e características do solo (MOSCARDI et al., 2012)

No cenário nacional, a maioria dos artrópodes fitófagos que a soja hospeda são desfolhadores. Dentre os organismos que proporcionam perdas de produtividade na soja, destacam-se as pragas iniciais, que ocorrem durante os primeiros estádios de desenvolvimento da cultura (ÁVILA & GRIGOLLI, 2014) e que podem causar destruição das sementes e/ou de plântulas, consumo de raízes, destruição dos cotilédones ou das folhas unifolioladas, corte dos ponteiros ou dos brotos das folhas trifoliadas, danos esses que podem afetar o rendimento de grãos da cultura (RIBEIRO & COSTA, 2000; HOFFMANN-CAMPO et al., 2012).

Thomas & Costa (1993) afirmaram que a remoção dos cotilédones após a emergência das plantas de soja pode resultar em diminuição do rendimento de grãos. As plantas de soja quando submetidas à desfolha têm normalmente a arquitetura do dossel modificado, o que pode causar redução da área foliar efetiva, diminuição da interceptação da luz e do acúmulo de massa seca e, conseqüentemente, afetar o número de vagens, o número de sementes por vagem e a produtividade da cultura (PARCIANELLO et al., 2004).

Existem vastas informações na literatura sobre a resposta da soja à desfolha causada por pragas desfolhadoras na fase vegetativa e reprodutiva da cultura (GAZZONI & MOSCARDI, 1998; BARROS et al., 2002), porém, pouca informação é disponível sobre a resposta da cultura às injúrias causadas por pragas nos seus estádios iniciais de desenvolvimento (GAZZONI & MOSCARDI 1998). Entre as principais pragas da soja estão as lagartas das espécies *Anticarsia gemmatilis* (Hübner 1818), *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *includens* (Walker 1857), *Rachiplusia nu* (Guenée 1852) e *Helicoverpa armigera* (Hübner) que são de hábito filófago, de grande distribuição no Brasil, desde Rio Grande do Sul até os estados da região centro-oeste (GUEDES et al., 2010).

Vários autores citam que no Estado de Rio Grande do Sul suas populações têm aumentado nos últimos anos (GUEDES et al. 2010; ALEXANDRE, 2010). Esses autores comentam a existência de nova dinâmica em relação a alterações na época de ocorrência, na intensidade e proporção das espécies. Dentre essas espécies a *Chrysodeixis includens* (Walker) e a *Helicoverpa armigera* (Hübner), tem causado danos significativos nos últimos anos.

Durante a safra de soja de 2013/14, na região do cerrado brasileiro, as duas lagartas foram o foco da atenção dos produtores e, somado à instabilidade climática, causaram grandes prejuízos aos sojicultores. De acordo com dados do Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – CEPEA (2016), na safra 2015/16, além das preocupações com controle de lagartas e percevejos, os produtores de soja de Mato Grosso e de Goiás aumentaram seus gastos com inseticidas, pois enfrentaram também o aumento da incidência de *Bemisia tabaci*. Conforme cálculos do Cepea relativos aos dois estados, o dispêndio com inseticidas na safra 2015/16 foi em média 37% maior que na safra anterior.

No Brasil, o número de fitófagos na cultura da soja aumentou exponencialmente ao longo dos anos, passando de menos de 10 espécies relatadas como pragas importantes no final de 1960, para 25 espécies até 1997 (Panizzi & Corrêa-Ferreira 1997). A mosca branca *Bemisia tabaci* (Genn.) Por muito tempo foi considerada praga ocasional em soja no Brasil. Todavia, o biótipo B de *B. tabaci* introduzido no início da década de 90, vem se tornando mais importante a cada safra, provocando sérios danos à cultura da soja (DEGRANDE e VIVAN 2010).

2.2.1 *Chrysodeixis includens*

A lagarta *Chrysodeixis includens*, também conhecida como falsa-medideira, era denominada como *Pseudoplusia includens*. Porém, Goater et al. (2003) reavaliaram o gênero *Pseudoplusia* e essa espécie foi restabelecida para o gênero *Chrysodeixis*. Mas, ainda existem artigos recentes com o nome *P. includens* (MOSCARDI et al., 2012). A espécie *C. includens* está presente no hemisfério ocidental que ocorre do Norte dos Estados Unidos até o sul da América do Sul (KOGAN, 1981; ALFORD & HAMOND, 1982).

Chrysodeixis includens é uma praga polífaga e consegue se desenvolver em 73 espécies de plantas hospedeiras encontradas no Brasil (HERZOG, 1980) e, dentre elas, muitas de importância econômica como soja, algodão, feijão, repolho, quiabo, batata-doce, fumo e tomate (BOTTIMER, 1926; FOLSOM, 1936; WOLCOTT, 1936; HENSLEY et al., 1964). O

consumo médio total de folhas de soja dessa praga na literatura possui variações de 64 cm² a 200 cm² (VAZQUEZ, 1988; TRICHILO; MACK, 1989; SANTOS et al., 2010; BUENO et al., 2011).

Essa praga apresenta uma característica peculiar diferente dos outros noctuideos, ela pertence à subfamília Plusiinae, que apresenta apenas dois pares de pernas abdominais na fase larval. Essa particularidade faz com que essa lagarta durante sua locomoção aparente estar medindo palmo (SOSA-GÓMEZ et al., 2010). Os ovos dessa espécie são globulares, possuem 0,5 mm de diâmetro e coloração creme-clara, mas quando estão próximos de eclodir mudam sua coloração para marrom escura. A eclosão dos ovos ocorre em cerca de 2,5 dias (PETERSON, 1964).

O estágio larval tem duração de 13 a 20 dias, e é composto por seis ínstaes (MITCHELL, 1967). As lagartas após a eclosão apresentam a coloração verde-clara, com pontuações pretas e listras longitudinais brancas. As lagartas atingem de 40 a 45 mm de comprimento no ultimo instar larval. Nos primeiros ínstaes essas lagartas realizam apenas a raspagem das folhas, que é um sintoma característico de ataque desta praga na soja. A partir do terceiro ínstar, elas conseguem perfurar as folhas, porém não consomem as nervuras centrais e laterais, provocando um aspecto de rendilhamento nas folhas atacadas (HERZOG, 1980; SOSA-GÓMEZ et al., 2010). Após o ultimo instar larval, as lagartas tecem uma teia, geralmente, na superfície abaxial das folhas (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

No início as pupas apresentam coloração entre amarelo-pálida e verde-clara e o período pupal possui duração de 7 a 9 dias (VÁZQUEZ, 1988). Com o passar do tempo as pupas começam a adquirir uma coloração mais escura até emergirem os adultos. As mariposas possuem asas de coloração escura e manchas prateadas brilhantes na região central do primeiro par. Quando estão em repouso, as asas ficam dispostas de forma inclinada. As fêmeas de *C. includens* apresentam longevidade de 15 a 18 dias (CANERDAY; ARANT, 1967; MITCHELL, 1967) e podem ovipositar cerca de 600 a 1500 ovos (SOSA-GÓMEZ et al., 2010; JENSEN et al., 1974).

Inicialmente, lagartas de *C. includens* foram observadas atacando as culturas de feijão, repolho, quiabo, batata-doce, fumo e tomate (BOTTIMER, 1926; FOLSOM, 1936; WOLCOTT, 1936). Posteriormente, foi relatado o ataque as culturas de algodão e soja (HENSLEY et al., 1964). Além dessas culturas, essa lagarta também foi observada atacando girassol, alface e couve-flor, entre outras culturas (HERZOG, 1980).

No Brasil, nos últimos anos, a lagarta *C. includens*, tem se tornado um sério problema fitossanitário na cultura da soja, com vários surtos ocorrendo isolados ou associados à lagarta-

da-soja (BERNARDI, 2012). Apesar dessa grande gama de hospedeiros, a lagarta *C. includens* é um inseto com preferência e melhor adaptação à soja, em relação às outras culturas estudadas (BERNARDI, 2012).

2.2.2 *Helicoverpa armigera*

A lagarta *Helicoverpa armigera* é uma espécie orbícola, que ocorre em todos continentes do mundo (ZALUCKI et al., 1986; GUO, 1997) e recentemente no Brasil em culturas como algodão, milho e soja (CZEPAK et al., 2013a; SPECHT et al., 2013). Essa praga é polífaga, atacando cerca de 60 espécies de plantas silvestres e cultivadas (PAWAR et al., 1986; FITT, 1989; POGUE, 2004). Na Ásia, Europa, África e Australásia, essa espécie é considerada a praga com maior impacto na agricultura, gerando danos ao redor de 2 bilhões de dólares por ano em diversas culturas, com exceção dos custos ambientais e socioeconômicos associados ao seu controle (TAY et al., 2013).

O ciclo biológico de *H. armigera* é caracterizado pela fase de ovo, lagarta, pupa e adulto. Os ovos são de coloração branco-amarelada e tornam-se marrom-escuros quando próximos da eclosão das lagartas. A região apical do ovo é lisa e as laterais possuem nervuras longitudinais. A eclosão dos ovos ocorre em 3,3 dias, em média e possuem de 0,42 a 0,60 mm de comprimento e 0,40 a 0,55 mm de largura (ALI et al., 2009). As fêmeas realizam a oviposição no período noturno sobre as folhas ou sobre flores, talos, brotações terminais e frutos (MENSAH, 1996). A fase de lagarta possui seis ínstaes (ÁVILA et al., 2013) e dura de 14 a 23 dias, dependendo da planta hospedeira (LIU et al., 2004). As lagartas de primeiros ínstaes se alimentam das partes e estruturas mais novas e brandas (ÁVILA et al., 2013).

À medida que as lagartas se desenvolvem, elas podem sofrer mudança de coloração, que pode ser influenciada pelo tipo de alimentação (ALI et al., 2009), essa variação de cor pode ser de cor verde clara, amarelada e até tons mais escuros. Quando as lagartas atingem o quarto ínstar, apresentam tubérculos escuros bem visíveis na região dorsal do primeiro segmento abdominal, distribuídos em forma de semicírculo, que é uma característica marcante para a identificação das lagartas de *H. armigera* (MATTHEWS, 1999). Outra característica morfológica nessa espécie é o aspecto coriáceo da textura do tegumento, diferente de outras espécies de Heliothinae presentes no Brasil.

Quando perturbadas, as lagartas de *H. armigera* têm um comportamento de encurvarem a cápsula cefálica em direção ao primeiro par de pernas falsas abdominais, permanecendo retraídas por um curto período de tempo, onde provavelmente este seja um ato

de exibição de defesa dessa lagarta (CZEPAK et al., 2013b). O comprimento das lagartas pode chegar a medir de 30 a 40 mm no último ínstar (EPPO, 1981).

O ataque de *H. armigera* causa danos tanto nas fases vegetativa e reprodutiva das plantas. Porém, quando há presença na planta de botões, inflorescência, frutos e vagens, as lagartas costumam migrar das folhas para estas estruturas (REED, 1965; WANG & LI, 1984; MORAL-GARCIA, 2006; SULLIVAN & MOLET, 2014). A pupa de *H. armigera* é do tipo obtecta com coloração marrom escuro e superfície arredondada nas extremidades, este estágio dura entre 10 a 14 dias (ALI; CHOUDHURY, 2009). Na fase adulta, as fêmeas possuem asas anteriores amareladas e os machos cinza-esverdeadas, enquanto que nas asas posteriores, a de ambos são mais claras (ÁVILA et al., 2013). A longevidade das fêmeas é em média de 11,7 dias, e dos machos é de 9,2 dias (ALI et al., 2009). Cada fêmea pode colocar de 2.200 até 3.000 ovos durante o período de oviposição, que corresponde, em média a 5,3 dias (REED, 1965; NASERI et al., 2011). Os adultos são atraídos por plantas que produzem néctar, interferindo na capacidade de seleção e oviposição dos hospedeiros para a próxima geração (CUNNINGHAM et al., 1999).

No Brasil, *H. armigera* encontra-se vastamente disseminada e é considerada praga em várias culturas, principalmente em soja e algodão no Cerrado (ÁVILA et al. 2013; CZEPAK et al. 2013b; SPECHT et al. 2013). Na região sul do país, essa lagarta está estabelecida como praga de soja, mas também ocorre em plantas de milho e, na entressafra da soja, tem sido encontrada em trigo, canola e linho, além de espécies de plantas espontâneas, como nabo e aveia-preta (GUEDES et al. 2013; ARNE-MANN et al. 2014; SALVADORI & SUZANA, 2014).

2.2.3 *Bemisia tabaci*

A *Bemisia tabaci*, também conhecida como mosca-branca, é um inseto da ordem Hemiptera, família Aleyrodidae, pertencem a subordem Sternorrhyncha. Apresenta reprodução sexuada ou partenogenética. Possuem aparelho bucal picador-sugador, são sugadores de seiva com aparelho digestivo diferenciado em “câmara-filtro” que permite que o excesso de alimento sugado seja excretado como honeydew (GALLO et al, 2002).

Os adultos são pequenos, medindo 1 a 2 mm de comprimento e 0,36 a 0,51 mm de largura, a fêmea é maior que o macho, sendo que ambos possuem o dorso amarelo-pálido e as asas brancas (SOUZA & VENDRAMIM, 2000). A escolha do hospedeiro para oviposição da

B. tabaci está relacionada com a espécie, o estado nutricional, a idade da planta hospedeira e as condições ambientais (CHANG-CHI et al., 1995).

Os ovos são piriformes, com pilosidade moderada, para que fiquem protegidos contra o vento e dessecação, e apresentam coloração amarela nos primeiros dias e vermelhos amarelados a marrom quando próximos à eclosão (EICHELKRAUT & CARDONA, 1989; SIMMONS, 1994). São depositados na parte inferior das folhas mais novas (VENDRAMIM et al., 2009) isoladamente ou em grupos no tecido foliar (VILLAS BÔAS et al., 1997) e presos por uma extensão do córion chamada de pedicelo (BYRNE & BELLOWS JUNIOR, 1991; PAULSON & BEARDSLEY, 1985). Além dessa função, BUCKNER et al., 2002 descreveram que a principal função do pedicelo dos ovos das moscas-brancas possa ser para servir como veículo de absorção de água a partir da planta hospedeira.

As ninfas são translúcidas e apresentam coloração amarela a amarelo-claro. Logo após a eclosão, se locomovem sobre as folhas até um local adequado para sua fixação e iniciarem a sucção da seiva. Após inserirem seu aparelho bucal e atingirem o floema da planta, permanecem imóveis até a emergência dos adultos (BYRNE & BELLOWS JUNIOR, 1991). Quando próximo à emergência dos adultos, através do tegumento das ninfas, podem ser percebidos a forma do adulto e o aparecimento de ocelos vermelhos. A emergência do adulto realiza-se por meio de uma abertura em forma de “T” invertido, na região anterior dorsal do pupário.

A existência de diferentes biótipos de *B. tabaci* foi proposta na década de 1950, a partir da descoberta de populações morfológicamente semelhantes, mas genética e biologicamente diferentes, com hospedeiros distintos e diferente capacidade de transmissão de vírus (BROWN et al., 1995). *B. tabaci* representa um complexo de 41 populações diferentes (PERRING, 2001), separadas por técnicas de caracterização molecular, mas apenas 24 foram divididas em biótipos específicos, enquanto as outras 17 ainda não foram classificadas (PERRING, 2001).

Em 1991, com a descoberta dos biótipos A e B entre populações da mosca-branca *B. tabaci* (BROWN et al., 1995), foram realizados estudos entre estes biótipos, e indicaram haver diferenças entre eles, passando o biótipo B a ser considerada uma nova espécie, denominada *B. argentifolii* (BELLOWS & PERRING, 1994), com o nome popular de mosca-branca da folha prateada (PERRING et al., 1993; BELLOWS et al., 1994). Posteriormente, com base em critérios biológicos e filogenéticos, as evidências sugerem que *B. tabaci* possa constituir, atualmente, um complexo de espécies com numerosos biótipos (BELLOWS et al., 1994; BROWN et al., 1995; PERRING, 2001). O biótipo B se caracteriza, entre outros

fatores, por possuir maior quantidade de plantas hospedeiras, resistência a diversos inseticidas e capacidade de induzir desordens fisiológicas a certos tipos de hospedeiros.

No Brasil, a incidência de *B. tabaci* biótipo B em culturas de expressão econômica em 23 Estados da Federação e Distrito Federal vem causando perdas significativas para a agricultura do país (LIMA et al., 2003). Nas duas últimas décadas, biótipos de *B. tabaci*, passaram de pragas secundárias para primárias, causando impacto econômico e sócio-ambiental, por seus prejuízos diretos e indiretos (LIMA et al., 2002). Atualmente a *B. tabaci* vêm ocorrendo na região Centro-Oeste, onde tem causado danos à cultura da soja nas últimas safras agrícolas (DEGRANDE & VIVAN 2010). Seus danos em geral, decorrem da sucção da seiva, induzindo a formação do fungo fumagina (*Capnodium spp.*, Capnodiaceae) capaz de afetar a fotossíntese, devido a excreção de um honeydew rico em açúcares durante a sucção, que serve de substrato para o desenvolvimento desse fungo. E pela transmissão de fitovirose (LOPEZ et al., 2008; LOURENÇÃO & NAGAI, 1994; BERRY et al., 2004).

Alguns estudos mostram que *B. tabaci* podem infestar mais de 900 espécies de plantas diferentes como hospedeiras, o que caracteriza esse inseto como altamente polífago (OLIVEIRA et al., 2001; PERRING, 2001; BERRY et al., 2004). Entre as culturas de expressão econômica, as infestações ocorrem em soja, feijão, melancia, melão, abóboras, chuchu, pepino, brócolis, repolho, couve, couve-flor, tomate, batata, berinjela, jiló, fumo, algodão, alface, quiabo e diversas ornamentais, entre elas, o crisântemo, bico-de-papagaio, gérbera, entre outras (PERRING, 2001; ARRUDA et al., 1998; LOURENÇÃO & NAGAI, 1994).

Em lavouras de feijão devido à transmissão do vírus do mosaico-dourado por *B. tabaci* biótipo B, as perdas variam entre 40 e 100% (FARIA et al., 1994).

2.3 Fungos entomopatogênicos e relação endofítica com plantas

O termo endofítico foi introduzido por de Bary (1866) e refere-se amplamente a qualquer organismo encontrado em tecidos de autotróficos vivos. Embora muitas outras definições tenham sido usadas desde então, como Arnold e Lewis, 2005 descrevem que os endófitos são organismos (fungos ou bactérias) que colonizam tecidos internos da planta sem causar sintomas aparentes ou danos a seus tecidos.

Embora a maioria das pesquisas de fungos endofíticos tenha sido focado até hoje nos fungos que são transmitidos verticalmente dentro do gênero *Neotyphodium* (Clavicipitaceae), que colonizam sistematicamente as partes superiores de plantas, como algumas gramíneas.

Sabe-se que esses endofíticos clavicipícios são conhecidos por conferir uma série de benefícios às suas plantas hospedeiras (KULDAU e BACON, 2008). Menos atenção tem sido dada aos endófitos não-clavicipícios, que são transmitidos horizontalmente, e são amplamente difundidos na natureza e dominados pelos Ascomycetos (ARNOLD e LUTZONI, 2007); dos quais vários gêneros são fungos entomopatógenos (Ascomycota: Hypocreales).

Após anos de estudos de vários gêneros de fungos entomopatogênicos como “endofíticos” apenas recentemente essa linha de pesquisa começou a ser abordada com mais atenção e estão sendo estudados seus efeitos profundamente em plantas e insetos (VEGA et al., 2008).

Os fungos entomopatogênicos possuem adaptações e habilidades apropriadas que potencializam a ocorrência de epizootias naturais, auxiliando na manutenção do equilíbrio dos níveis populacionais de artrópodes, inclusive o de pragas de plantas cultiváveis. Cadáveres de insetos infectados por fungos liberam estruturas reprodutivas que, ao serem disseminadas através do vento, água ou superfície de hospedeiros, podem dar início a novos ciclos de infecção em outros insetos (HAJEK e St. LEGER, 1994).

Adicionalmente, vários gêneros de fungos entomopatogênicos tem demonstrado recentemente que atuam como endofíticos de plantas em uma grande variedade de plantas hospedeiras, e entre os benefícios dessa interação os fungos podem persistir no solo por longos períodos de tempo (MEYLING e EILENBERG, 2006; MEDO e CAGAN, 2011) e desenvolver associações com as raízes das plantas (St. LEGER, 2008; BRUCK, 2010) ocasionando benefícios no crescimento da planta (KABALUK e ERICSSON, 2007; GARCIA et al., 2011; SASAN e BIDOCHKA, 2012; SASAN e BIDOCHKA, 2012; LIAO et al., 2014; LOPEZ E SWORD, 2015; JABER e ENKERLI, 2016, 2017), na aquisição de nutrientes (HU e ST. LEGER, 2002; St. LEGER, 2008; BRUCK, 2010; FANG e St. LEGER, 2010; PAVARIPOLL et al., 2011; BEHIE et al., 2012; BEHIE e BIDOCHKA, 2014), proteção contra fitopatógenos (GOETTEL et al., 2008; OWNLEY et al., 2008, 2010; SASAN e BIDOCHKA, 2013; JABER e SALEM, 2014; JABER, 2015), herbivoria (PARSA et al., 2013) e estresse abióticos (KHAN et al., 2012).

Além das interações entre os fungos entomopatogênicos e a rizosfera, os fungos entomopatogênicos também podem se associar com a planta através de uma relação endofítica sem efeitos deletérios à planta. Algumas espécies de fungos foram relatadas como de ocorrência natural em plantas, enquanto outras têm sido introduzidas pela aplicação de suspensões de conídios nas sementes ou no solo (VEGA, 2008). O solo é considerado o depósito natural de fungos entomopatogênicos (HAJEK, 1997) e diversas espécies dos

gêneros *Metarhizium*, *Beauveria* e *Isaria* foram encontrados em habitats naturais ou agroecossistemas (MEYLING & EILENBERG, 2007).

Diversos estudos têm relatado recentemente a identificação de diferentes estilos de vida de *Metarhizium* spp., que além de atuar como patógeno de insetos, mantém relações saprofíticas com as raízes e região rizosférica de plantas (HU e St. LEGER, 2002; BRUCK, 2005; BRUCK, 2010). Esta adesão à insetos e plantas está relacionada à expressão de duas proteínas, MAD1 (*Metarhizium* Adhesin-protein 1) e MAD 2 (*Metarhizium* Adhesin-protein 2), que foram identificadas sendo induzidamente expressas de formas diferentes na hemolinfa de insetos e no exsudato de plantas, respectivamente, produzindo um conídio de adesão nestas regiões (WANG; ST. LEGER, 2007; WYREBEK, 2011). Estudos recentes demonstraram uma associação endofítica benéfica dos fungos *M. anisopliae* e *M. robertsii* nas raízes, pecíolos, folhas e caule das plantas (SASAN e BIDOCHKA, 2012; BATTA, 2013).

Isolados de *Isaria fumosorosea* também já foram relatados como fungos endofíticos em plantas de café coletadas na Colômbia, Havaí e Porto Rico e a partir de árvores da espécie *Carpinus caroliniana* (BILLS e POLISHOOK, 1991; VEGA et al., 2008)

Khan et al. (2012) demonstrou que plantas de soja inoculadas com *M. anisopliae* LHL07 apresentaram maior crescimento, maiores concentrações de clorofila, taxa de transpiração e fotossintética em condições de estresse salino. Considerando a persistência de *M. anisopliae* no solo, BRUCK (2005) observou a persistência desse fungo por até 342 dias após a inoculação em solo de campo agrícola. Outro estudo desse mesmo autor, mostrou que o uso de fungos entomopatogênicos aplicados no solo, pode ser efetivo contra insetos que se alimentam de raízes das plantas, economizando custos de aplicações e produtos, pois a aplicação desses fungos no solo poderia diminuir em cerca de 10 vezes a quantidade utilizada para o controle biológico de pragas. (BRUCK, 2010).

Recentemente, estudos têm relatado o potencial endofítico de *B. bassiana* em diversas espécies de plantas, tais como, milho, batata, algodão, tomate, banana, cacau, entre outras (VEGA, 2008). Em estudo de Ownley et al. (2008) foi relatado a alta capacidade de colonização endofítica de *B. bassiana* a plantas de tomate e algodão. Ainda, este fungo tem mostrado alto potencial na proteção de plantas contra fitopatógenos (OWNLEY et al., 2008), uma vez que diferentes isolados de *B. bassiana* foram observados inibindo o crescimento in vitro do micélio de diversas doenças que ocorrem no solo e de fitopatógenos, destacando *Fusarium oxysporum* (BARK et al., 1996; REISENZEIN; TIEFENBRUNNER, 1997), *Botrytis cinerea* (BARK et al., 1996) e *Rhizoctonia solani* (LEE et al., 1999). Ownley et al. (2008) reportaram que a aplicação de conídios de *B. bassiana* em sementes de algodão e

tomate resultaram na redução de perdas de plantas e nos sintomas causados por *R. solani*. Diante desses resultados, aumenta-se o interesse em estudos que determinem o potencial desse fungo como promotor de crescimento de plantas, além da sua efetividade contra pragas e doenças em outras culturas de importância agrícola que, de fato, seriam extremamente beneficiadas com a incorporação dessa promissora estratégia em programas de manejo integrado.

Os primeiros estudos conduzidos com o fungo *B. bassiana* demonstraram que 1% dos conídios de *B. bassiana* pulverizados nas folhas de plantas de milho (*Zea mays* L.), foram capazes de germinar e penetrar na cutícula das mesmas. Após a penetração, as hifas se desenvolveram no interior do apoplasto e algumas até alcançaram o xilema, podendo colonizar toda a planta através do crescimento dentro dos vasos condutores (WAGNER & LEWIS, 2000). Em outro estudo, o fungo *B. bassiana* também apresentou uma relação endofítica com plantas de tomate cultivadas em casa de vegetação e em campo após as sementes serem inoculadas com suspensões de conídios. As plantas colonizadas com *B. bassiana* apresentaram tamanhos maiores do que as plantas não tratadas (JARONSKY, 2007).

2.4 Fungos entomopatogênicos endofíticos e seu potencial no controle biológico de pragas

A uma grande complexidade na relação entre os fungos entomopatogênicos e outros organismos do mesmo ecossistema, sendo influenciada por interações multitróficas atreladas por fatores bióticos e abióticos (HESKETH et al., 2010).

Além de sua ação direta no biocontrole de pragas através de pulverização foliar ou aplicação no solo de produtos formulados, tornou-se amplamente estabelecido que os fungos entomopatógenos também podem desempenhar um papel importante na redução da população e desenvolvimento de insetos após sua colonização de plantas como endofíticos.

Neste sentido, Bruce & Lewis (2000) comprovaram que a virulência do fungo *B. bassiana* após sua penetração nas plantas de milho não foi afetada contra a broca do milho, *Ostrinia nubilalis*, os autores concluíram que há possibilidade do controle biológico através da exploração de fungos entomopatogênicos endofíticos como “inseticidas”.

Outros estudos como o de Vega et al. (2009), verificaram a presença natural de *B. bassiana* em plantas de café e que o fungo endofítico foi patogênico a broca do café *Hypothenemus hampei* em bioensaios de laboratório. Já Batta (2013) demonstrou a colonização interna de *M. anisopliae* em plantas de *Brassica napus*, e os efeitos diretos desta

associação sobre larvas de *Plutella xylostella* alimentadas com folhas colonizadas pelo fungo. Os valores de mortalidade alcançados pela alimentação das larvas foram semelhantes aos valores obtidos em um bioensaio com aplicação direta de uma suspensão de conídios, demonstrando o potencial para o controle microbiano de *P. xylostella*. Keyser et al. (2014) mostraram que larvas de *Tenébrio molitor* que se alimentaram de raízes de plantas de trigo inoculadas com *M. brunneum* e *M. robertsii* foram mortas e a patogenicidade do fungo na planta permaneceu por até 4 semanas, a associação de raiz-planta beneficia fungos entomopatogênicos com mobilidade no solo e possuem maior probabilidade de encontrar um inseto hospedeiro suscetível.

Trabalhos recentes demonstraram que os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* são capazes de causar a morte e infectar insetos de solo e, subsequentemente, transferir derivados de nitrogênio de insetos para plantas através de seu micélio em uma interação entre os insetos hospedeiros, rizosfera e plantas (BEHIE et al., 2012; BEHIE e BIDOCHKA, 2013). Behie e Bidochka, (2014) reportaram a transferência de quantidades significativas de nitrogênio de insetos mortos para as plantas, sugerindo a criação de um ramo adicional ao ciclo do nitrogênio no solo e, que esta transferência pode ser importante para plantas que sobrevivem em solos pobres em nitrogênio.

Kepler e Bruck (2006) observaram que as larvas de *P. abies* localizadas em um olfatômetro se encaminhavam na direção de raízes colonizadas por *Metarhizium* sp. e não para raízes sem a associação com o fungo. Em complemento, St. Leger, (2008) presumiu que as raízes das plantas em associação com o fungo *M. anisopliae* poderiam fornecer uma “barreira repelente” em torno das raízes, o que proporcionaria uma proteção mais eficaz contra os insetos pragas.

Tem sido relatado que a colonização de plantas por *B. bassiana* reduziu os danos causados por *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae) no milho (BING e LEWIS, 1991; CHERRY et al., 2004) ; *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) em tomate (POWELL et al., 2007); *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) em banana (AKELLO et al., 2008a, 2008b); *Iraella luteipes* Thompson (Hymenoptera: Cynipidae) em papoula do ópio (QUESADA-MORAGA et al., 2009) e *Apion corchori* Marshall (Coleoptera: Curculionidae) em juta branca (BISWAS et al., 2013).

Efeitos negativos contra insetos pragas também foram relatados como resultado da inoculação de plantas com outros fungos entomopatogênicos, além de *B. bassiana*, como o pulgão do algodão, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) e o gafanhoto australiano *Chortoicetes terminifera* Walker (Orthoptera: Acrididae) com os fungos *L. lecanii* e *A.*

parasiticus em algodoeiro e trigo (GURULINGAPPA et al., 2010); o pulgão da ervilha, *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hemiptera: Aphididae); o pulgão-do-feijão-preto, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) e a lagarta-da-ervilha *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) com os fungos *H. lixii*, *G. moniliformis*, *F. oxysporum* e *T. asperellum* em feijoeiro (AKELLO e SIKORA, 2012; AKUTSE et al., 2013); tripses de cebola, *Thripsidae* (Thysanoptera: Thripidae) com *C. rosea*, *H. lixii*, *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. atroviride* e *Fusarium sp.* em cebola (MUVEA et al., 2014); *A. gossypii* e a lagarta do algodão *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) com *P. lilacinum* em algodão (CASTILLO-LOPEZ et al., 2014; LOPEZ e SWORD, 2015); a broca do colmo do milho Mediterrâneo, *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae) com *M. robertsii* e *I. fumosorosea* em sorgo doce (MANTZOUKAS et al., 2015); a larva branca, *Anomala cincta* Say (Coleoptera: Melolonthidae) com *M. pingshaense* em milho (PEÑA-PEÑA et al., 2015), e *Ophiomyia phaseoli* Tryon (Diptera: Agromyzidae) com *M. anisopliae*, *H. lixii*, *T. asperellum* e *T. atroviride* em feijoeiro (MUTUNE et al., 2016).

Trabalhos recentes mostram que a colonização endofítica transitória por *B. bassiana* e *M. brunneum*, após a pulverização de conídios na área foliar, pode causar mortalidade adicional nas larvas da lagarta *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) (RESQUÍN-ROMERO et al., 2016) e ninfas da *B. tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) (GARRIDO-JURADO et al., 2017). Assim, a ação combinada de pulverizações foliares e colonização endofítica poderia melhorar a eficácia geral dos micopesticidas comercialmente disponíveis com base nesses fungos. Também poderia ajudar a superar algumas das restrições associadas à aplicação tópica de micopesticidas, tais como inóculo ou seleção de dosagem, efeitos adversos de fatores abióticos e efeitos potenciais em organismos não-alvo (LACEY et al., 2015).

Alternativamente, os mecanismos subjacentes para os efeitos prejudiciais contra insetos que se alimentam de plantas que abrigam fungos entomopatogênicos como endófitos permanecem não confirmados (VIDAL e JABER, 2015). A esporulação de cadáveres de insetos recuperados de tecidos vegetais colonizados por fungos entomopatogênicos foi relatada em um número muito pequeno de estudos (POWELL et al., 2007; AKELLO et al., 2008b; VIDAL e JABER, 2015; GARRIDO-JURADO et al., 2017). Em alguns casos, os efeitos negativos dos entomopatógenos fúngicos endofíticos em insetos herbívoros têm sido atribuídos à resistência sistêmica induzida por plantas (AKELLO e SIKORA, 2012; MARTINUZ et al., 2012; CASTILLO-LOPEZ et al., 2014; LOPEZ e SWORD, 2015).

No entanto, mecanismos específicos para resistência sistemicamente induzida não foram investigados em nenhum desses estudos. Embora a resistência sistêmica de plantas ainda não tenha sido descrita contra insetos herbívoros, ela já foi descrita para resistência a doenças de plantas fúngicas e bacterianas induzidas por fungos entomopatogênicos, como as espécies *Beauveria bassiana* e *Lecanicillium spp*, onde teoricamente é possível que uma resistência sistêmica similar seja provocada por esses fungos contra insetos.

Notavelmente, a dissuasão alimentar ou antibiose devido a metabólitos fúngicos secretados na planta tem sido amplamente sugerida como o modo de ação em vários estudos que investigam interações endofíticas de insetos e fungos entomopatogênicos (LEWIS e COSSENTINE, 1986; BING e LEWIS, 1991; CHERRY et al., 2004; AKELLO et al., 2008a; QUESADA-MORAGA et al., 2009; GURULINGAPPA et al., 2010; AKUTSE et al., 2013; CASTILLO-LOPEZ et al., 2014; GOLO et al., 2014 MUVEA et al., 2014; MANTZOUKAS et al., 2015; GARRIDO-JURADO et al., 2017; LEFORT et al., 2016; MUTUNE et al., 2016; RIOS-MORENO et al., 2016). Esta sugestão tem sido apoiada pela ausência de esporulação fúngica em insetos que morreram quando se alimentaram de plantas colonizadas por fungos entomopatogênicos.

Os fungos entomopatogênicos produzem metabólitos secundários, antibióticos e toxinas que tem efeitos negativos sobre outros microrganismos e insetos hospedeiros, respectivamente. A produção de toxinas dentro da planta poderia ser uma das hipóteses que explicaria a mortalidade dos hospedeiros alimentados com folhas colonizadas com fungos (VEGA et al., 2008). Além disso, poderia estar envolvida com a emissão de compostos voláteis pela planta em associação com o fungo que poderiam modificar o comportamento dos herbívoros (BRUCK, 2010).

Apesar disso, apenas alguns desses estudos identificaram e quantificaram os metabólitos secundários fúngicos produzidos em tecidos vegetais colonizados por fungos entomopatogênicos. Por exemplo, a produção de destruxinas em plantas (DTXs) foi medida em plantas de feijão-de-corda endofiticamente colonizadas por *M. robertsii* ARSEF 2575 doze dias após a inoculação fúngica (GOLO et al., 2014). Da mesma forma, a destruxina A foi quantificada em folhas de melão (GARRIDO-JURADO et al., 2017) e batata (RÍOS-MORENO et al., 2016) inoculadas por várias linhagens de *M. brunneum* 72 e 96 h pós-inoculação, respectivamente. Outro estudo relatou, no entanto, que a quantidade de destruxina A produzida por *M. brunneum* nos tecidos vegetais era muito pequena comparada com o grau de colonização da planta pelo fungo, indicando que a produção de destruxina A pelo fungo *in planta* poderia ser efêmera (RIOS -MORENO et al., 2016). O modo exato de ação pelo qual

os entomopatógenos endofíticos dos fungos conferem proteção contra a herbivoria deve ser completamente elucidado antes que esses fungos possam ser usados como agentes de biocontrole para o manejo integrado de pragas.

Ate o momento, não foi demonstrado o desenvolvimento de estruturas infectivas (conídios, blastosporos ou microescleródios) dos fungos entomopatogênicos em associação com as plantas. Os resultados obtidos sobre o controle microbiano de pragas na literatura, pelo contato ou alimentação de plantas colonizadas pelos fungos, abrem novos questionamentos sobre o processo de infecção dos fungos na relação entre fungo, planta e inseto.

3.MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Preparo dos fungos entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos dos gêneros *Metarhizium*, *Beauveria* e *Isaria* utilizados neste estudo provêm da coleção de entomopatógenos “Prof. Sérgio Batista Alves” do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos da ESALQ-USP, Piracicaba, São Paulo, Brasil (Tabela 1). Os isolados fúngicos foram cultivados em meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA, Difco, USA) e incubados em câmara climatizada tipo BOD a 26 °C e 12 horas de fotofase por 7 a 10 dias.

Posteriormente, foi realizada a fermentação sólida para aumentar a quantidade de inóculo utilizado para a inoculação das sementes de soja. Para a fermentação sólida foram utilizados frascos de vidro borossilicato com tampa rosqueável (Marca Schott) com capacidade de 250 mL contendo 50 gramas de arroz parboilizado tipo 1. Inicialmente foi realizada a hidratação do substrato com 100 mL de água destilada e mantidos a temperatura ambiente por 50 minutos. Posteriormente, o arroz foi peneirado para remover o excesso de água e retornado para os frascos Schott para ser esterilizado em autoclave a 120°C por 20 minutos.

O inóculo de cada isolado fúngico foi preparado por raspagem dos conídios presentes no meio de cultura BDA e diluído em água destilada esterilizada com espalhante adesivo Tween 80 (0,01%). A inoculação dos frascos foi feita em uma câmara asséptica de fluxo laminar com a adição de 5 mL da suspensão de conídios de cada isolado e, posteriormente, todos os frascos foram mantidos em uma B.O.D. a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase durante 10 dias. Após a multiplicação dos isolados fúngicos, foi preparada uma suspensão de conídios a partir da lavagem dos grãos de arroz com 150 mL de Tween 80 (0,01%) em cada frasco e a concentração de conídios foi ajustada a 1×10^8 conídios/mL através da contagem em uma câmara de Neubauer com um microscópio de luz.

Tabela 1 – Descrição dos isolados utilizados no estudo

Espécie fúngica	Nº de registro	Origem	Local de coleta
<i>Metarhizium sp. indet. 1</i>	ESALQ-1638	Solo de vegetação	Rio Verde- GO
<i>Isaria fumosorosea</i>	ESALQ-3422	Solo de citros	Itirapina- SP
<i>Beauveria bassiana</i>	ESALQ-3399	Solo de citros	Itirapina- SP

Para confirmar a viabilidade dos fungos utilizados nos experimentos foi avaliada a porcentagem de germinação dos conídios de acordo com a metodologia de Oliveira et al. (2015). Para isso foram utilizadas placas de Petri tipo Rodac® contendo 4 mL de meio de cultura BDA mais o fungicida Derosal® 500 SC (10 microlitros. L⁻¹) (princípio ativo Carbendazim, Bayer CropScience, SP, Brasil) e incubadas com suspensões de 1×10^6 conídios/mL de cada espécie fúngica.

Posteriormente, as placas foram mantidas em câmara tipo B.O.D por 22h a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12h de fotofase. O número de conídios germinados e não germinados foi quantificado em microscópio ótico com uma objetiva de 400X, estimando-se a porcentagem de conídios germinados. Em todos os experimentos foram utilizadas suspensões de conídios com porcentagem de viabilidade superior a 80%.

3.2 Inoculação dos fungos entomopatogênicos em sementes de soja e substrato

Para a montagem dos experimentos foram utilizadas sementes de soja convencional variedade BRS232 obtidas no Departamento de Produção Vegetal da ESALQ-USP, Piracicaba. As sementes de soja foram transferidas a copos plásticos contendo aproximadamente 180 g de substrato (Tropstrato HT Hortaliças- Vida Verde®, Brasil), sendo realizada a semeadura de quatro sementes por copo em profundidade em torno de 2 cm.

A inoculação dos fungos foi realizada através da aplicação direta da suspensão de conídios no substrato (“soil drench”) de acordo com metodologia de Parsa et al. (2013). A inoculação de cada tratamento foi feita pela aplicação direta de 2 mL da suspensão de 1×10^8 conídios/mL sobre a superfície do substrato, logo após a semeadura das sementes. No caso do controle (sem fungo), foram aplicados 2 mL da solução de água esterilizada com Tween 80 a 0,01%. Todos os copos inoculados foram mantidos em casa-de-vegetação (Figura 1) e as plantas foram irrigadas diariamente e fertilizadas com 3 gramas de adubo Osmocote Classic-14-14-14 por vaso. Para todos os experimentos foram utilizadas plantas de 30 dias após a inoculação dos fungos entomopatogênicos e o controle.

Figura 1: Distribuição de plantas de soja BRS232 em estágio V1 dentro da casa-de-vegetação.

3.3 Obtenção dos insetos

As duas espécies de lagartas desfolhadoras da soja *C. includens* e *H. armigera* foram obtidas do Laboratório de Biologia dos Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ – USP, Piracicaba. Os ovos de ambas as espécies foram acondicionados em recipientes plásticos contendo papel de filtro umedecido e mantidos dentro de uma B.O.D. a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase. As lagartas neonatas de *C. includens* foram alimentadas com folhas de soja, entretanto, as lagartas de *H. armigera* foram alimentadas com dieta artificial até atingir a fase de desenvolvimento para cada experimento.

Os adultos de *B. tabaci* raça B foram obtidas do Laboratório de Insetos Vetores de Fitopatógenos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ – USP, Piracicaba. Os adultos foram coletados na planta hospedeira apenas no momento da montagem dos experimentos. Para a coleta dos adultos foi utilizado um aspirador entomológico, e os insetos foram acondicionados em frascos de vidro protegidos da luz.

3.4 Parâmetros biológicos e consumo foliar de *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera* alimentadas com discos de folha de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos

As plantas inoculadas com os fungos *I. fumosorosea* ESALQ-3422, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638) e o tratamento controle (Tween 80 0,01%) foram retiradas da casa de vegetação e as folhas foram cortadas com o auxílio de um cortador de discos com um diâmetro de 3,3 cm e área foliar de 8,84 cm². Cada disco foliar foi acondicionado em uma placa de Petri de 60 x 15 mm contendo papel de filtro umedecido com água esterilizada e uma lagarta de 3º instar (Figura 3A). Para cada tratamento foram realizadas 25 a 30 repetições, sendo considerada uma lagarta por placa como repetição.

Todas as placas foram acondicionadas em B.O.D a $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e 12 horas de fotofase até que as lagartas atingissem a fase adulta (Figura 3B). Os experimentos de *C. includens* foram acompanhados por 11 dias e os experimentos com *H. armigera* por 16 dias devido a que cada espécie de lagarta apresenta um período de desenvolvimento diferente.

Diariamente foi avaliado o peso das lagartas em uma balança de alta precisão e a área foliar consumida através de um aparelho Portable Leaf Area Meter LI-3000C marca LI-COR. Para os cálculos de consumo foliar, foi considerada a área foliar inicial dos discos intactos (8,84 cm²) subtraindo as leituras dos discos consumidos pela lagarta por dia. As lagartas foram observadas até pupar e, posteriormente, foi medido o peso das pupas e o tempo até emergência dos adultos.

Figura 3: Experimentos com lagartas de *C. includens* e *H. armigera* confinadas em placas de Petri contendo disco foliar de soja (A). Todas as placas foram mantidas em uma B.O.D a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase até que as lagartas virarem pupas (B.)

3.5 Parâmetros biológicos de *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera* alimentadas em plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos

As plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos (*I. fumosorosea* ESALQ-3422, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638) e água + Tween 80 0,01% (controle) foram retiradas da casa de vegetação e em cada vaso foi colocado um saco plástico na parte superior do substrato para isolá-lo da parte aérea das plantas e assim evitar uma possível contaminação das lagartas pelo contato direto com os conídios presentes no substrato (Figura 2A).

Em cada planta foi transferida uma lagarta de 2º instar e, posteriormente, foi coberta a planta com um saco de tecido voilé para evitar a fuga da lagarta e permitir a ventilação. Todas as plantas foram acondicionadas em uma sala climatizada a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase e observadas até que as lagartas atingissem a fase adulta (Figura 2B). Os experimentos de *C. includens* foram acompanhados por 18 dias e os experimentos com *H. armigera* por 21 dias, pois cada espécie de lagarta apresenta um período de desenvolvimento diferente.

Cada tratamento contou com 25 repetições sendo cada lagarta uma repetição. As avaliações de peso das lagartas foram realizadas a cada 2 dias, e para isso as lagartas foram retiradas das plantas, pesadas em uma balança de alta precisão e transferidas novamente para

cada planta. Em caso de a planta atingir elevado nível de desfolha a mesma foi substituída por outra planta do mesmo tratamento para continuidade do experimento até as lagartas atingirem o estágio de pupa. As pupas foram pesadas e observadas diariamente até emergência dos adultos.

Figura 2: Plantas de soja cobertas com sacos de voile para confinamento das lagartas de *C. includens* e *H. armigera* (A) e acondicionamento das plantas de cada tratamento em prateleiras dentro de uma sala climatizada a 25°C com fotoperíodo de 12 horas (B).

3.6 Preferência alimentar das lagartas de *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera* alimentadas com discos de folha de soja

As plantas inoculadas com os fungos *I. fumosorosea* ESALQ-3422, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 e água + Tween 80 (controle) foram retiradas da casa de vegetação e as folhas foram cortadas com o auxílio de um cortador de discos com um diâmetro de 1 cm e área foliar de 2,33 cm².

Os discos foliares da soja foram transferidos para placas de Petri de vidro de 140 mm x 15 mm contendo uma camada de gesso sob papel filtro umedecido com água destilada para

a manutenção da umidade interna e assim as folhas não desidratassem. Para fixação de um disco foliar de cada tratamento sobre o gesso foram usados alfinetes de cores diferentes para diferenciar os tratamentos (Figura 4). Depois de montados os discos de cada tratamento foi liberado em cada placa uma lagarta de 5º instar (Figura 4).

Para cada espécie de lagarta, foram montadas 30 repetições correspondendo a 30 lagartas acondicionadas em 30 placas de Petri. Após 4 horas de consumo, as lagartas foram removidas das placas de Petri e avaliada a aérea folhar consumida por cada lagarta em cada tratamento. A leitura de área folhar foi conduzida através de um aparelho Portable Leaf Area Meter LI-3000C marca LI-COR e os cálculos de consumo foliar foram efetuados considerando a área foliar inicial dos discos intactos (2,33 cm²) subtraindo-se as leituras dos discos consumidos pela lagarta após 4 horas.

Figura 4: Experimento de preferência alimentar das lagartas de *C. includens* e *H. armigera* confinadas em placas de Petri, contendo um papel de filtro umedecido com água destilada e 4 discos de folhas de soja (A). Em cada placa de Petri foi confinada uma lagarta de 5º instar de *C. includens* ou *H. armigera* com uma folha de cada tratamento (B.)

3.7 Avaliação da preferência de oviposição de *Bemisia tabaci* por plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos

As plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos (*I. fumosorosea* ESALQ-3422, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638) e Tween 80 0,01% (controle) foram retiradas da casa de vegetação e em cada vaso foi colocado um saco plástico

na parte superior do substrato para isolamento da parte aérea das plantas e, assim, evitar uma possível contaminação das moscas-brancas com os conídios no substrato.

Em uma gaiola de plástico e tecido voile de 50 cm altura x 50 cm de comprimento foram acondicionadas 2 plantas de cada tratamento (totalizando 8 plantas por gaiola) e colocadas de forma aleatória na parte inferior da gaiola (Figura 5 A). Os adultos de *B. tabaci* foram coletados da criação usando um aspirador entomológico e confinados em tubos de vidro (1cm diâmetro e 5cm altura) coberto por adesivo preto.

Em cada frasco foram colocados 50 adultos, sendo transferidos 5 frascos (totalizando 250 moscas) para uma plataforma de plástico rígido (Figura 5 B) que foi posicionado no topo da gaiola (50-60 cm acima do topo das plantas (Figura 5 A). A liberação dos insetos foi realizada ao abrir os frascos fixos no suporte no topo da gaiola e após 24 horas foi avaliado o número de adultos em cada planta e depois de 5 dias foi contabilizado o número de ninfas por planta. O experimento foi conduzido com 10 repetições no tempo, considerando a unidade experimental de cada gaiola contendo 8 plantas (2 plantas por tratamento) e 250 adultos de *B. tabaci*.

Figura 5: Gaiola de plástico e voile adaptada para o experimento de escolha com adultos de *Bemisia tabaci* (A) , plataforma de plástico rígido com os tubos de vidro contendo 50 adultos de *B. tabaci* por frasco (B.)

3.8 Efeitos da inoculação de fungos entomopatogênicos em plantas de soja no desenvolvimento de *Bemisia tabaci* raça B

Vinte plantas de cada tratamento do item 3.7 foram separadas contendo as ninfas de 1º instar de *B. tabaci* e em cada planta foram selecionadas 20 ninfas de 1º instar e o restante foi descartado com auxílio de uma agulha entomológica. As plantas foram mantidas em uma sala climatizada a 25°C com 12 horas de fotofase por aproximadamente 30 dias para se avaliar o desenvolvimento das ninfas de 1º instar até a fase adulta. Após a emergência dos adultos, os mesmos foram contabilizados para se determinar a proporção de adultos que emergiram a partir de 20 ninfas.

3.9 Conteúdo nutricional das folhas de plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos

Com o objetivo de avaliar se a inoculação dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium* sp. indeterminada 1 ESALQ-1638, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 interfere na nutrição das plantas de soja, foi realizada análises do conteúdo de macro e micronutrientes das folhas das plantas.

Após 30 a 40 dias da inoculação dos fungos entomopatogênicos e o controle (Tween 80 a 0,01%), foram removidas todas as folhas de 50 plantas de cada tratamento e acondicionadas em sacos de papel. Posteriormente, as folhas foram colocadas em uma estufa a 50°C por três dias para favorecer a secagem dos tecidos vegetais.

O material seco foi enviado ao Laboratório de Análise de Tecidos Vegetais do Departamento de Ciência do Solo, ESALQ-USP para realizar as análises da quantidade de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn) presentes nas folhas de cada tratamento. As análises foram conduzidas em três lotes de plantas de cada tratamento, totalizando 12 amostras (4 amostras em cada lote).

3.10 Colonização e persistência dos fungos entomopatogênicos em plantas de soja e no substrato

A avaliação da persistência dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium* sp. indeterminada 1 ESALQ-1638, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 nas plantas de soja foi realizada em plantas com 20, 45 e 60 dias após a inoculação dos fungos no substrato. Para cada tratamento foram escolhidos quatro vasos ao acaso, totalizando 4 plantas por tratamento.

Em cada tempo de avaliação foi confirmada a presença dos fungos entomopatogênicos no substrato através da técnica da diluição seriada (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), onde 1g de amostra de substrato foi homogeneizada em 10 mL de água estéril com Tween 80 a 0,01%. O plaqueamento foi realizado em placas contendo meio seletivo descrito por Behie et al (2015), o qual é constituído de meio BDA (Difco, USA) mais 0,5 g/L de Ciclohexamida, 0,2 g/L de Cloranfenicol, 0,002% de princípio ativo Dodex 450SC (acetato de N- dodecil guanidínio) e 0,01 g/L de Cristal Violeta. Todas as placas foram mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D. a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase durante 15 dias para a confirmação da presença de fungos entomopatogênicos no substrato. Após 15 dias, foi avaliada a quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC) dos fungos entomopatogênicos em cada placa e a confirmação de cada espécie fúngica foi realizada mediante observação das estruturas reprodutivas dos fungos (conidióforos e conídios) no microscópio ótico.

Para avaliar a colonização e localização dos fungos entomopatogênicos nas plantas de soja foram utilizadas as plantas retiradas do experimento de persistência no substrato citado anteriormente, totalizando 4 plantas por tratamento, sendo conduzida a metodologia descrita por Parsa et al. (2013) com algumas modificações. As plantas de soja foram lavadas com água destilada para remover o excesso de substrato e, posteriormente, foram cortadas em fragmentos de 2 cm² correspondendo a duas regiões das raízes (estrato superior e inferior), duas partes do caule (região dos cotilédones e perto das folhas), 3 porções das folhas. Os tecidos vegetais foram esterilizados superficialmente de acordo com a metodologia de Lohse et al. (2015), onde cada fragmento da planta foi lavado com álcool a 70% por 2 minutos, seguido de hipoclorito de sódio a 5% por 3 minutos e novamente álcool a 70% por 2 minutos, finalizando com três lavagens em água destilada esterilizada por 2 minutos. Após a desinfecção superficial, os fragmentos vegetais foram colocados em um fluxo laminar por 15 minutos para favorecer a secagem e transferidos para placas de Petri contendo 15 mL do meio de cultura seletivo descrito por Behie et al. (2015), o qual é constituído de meio BDA (Difco, USA) mais 0,5 g/L de Ciclohexamida, 0,2 g/L de Cloranfenicol, 0,002% de princípio

ativo Dodex 450SC (acetato de N- dodecil guanidínio) e 0,01 g/L de Cristal Violeta. Para cada tratamento foram escolhidas 4 plantas ao acaso totalizando 28 fragmentos vegetais por tratamento. Todas as placas contendo os tecidos vegetais foram incubadas em câmara climatizada tipo BOD a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase por 15 dias. A presença de fungos entomopatogênicos nos tecidos vegetais foi confirmada com a observação de crescimento de colônias de cada espécie fúngica no meio de cultura e a observação das estruturas reprodutivas no microscópio ótico com uma objetiva de 400X, de acordo com as chaves taxonômicas descritas por Humber (1997). A frequência de colonização foi estimada como o número de fragmentos colonizados pelos fungos entomopatogênicos em relação ao número total de fragmentos vegetais e expressa em porcentagens.

3.11 Análises estatísticas

Com o objetivo de avaliar a variação do peso das lagartas ao longo do tempo dos experimentos 3.4 e 3.5, utilizou-se a regra do trapézio para estimar a área sob a curva (ASC) de cada repetição: $ASC = \sum (a - b) * \frac{f(a) + f(b)}{2}$, onde (a) e (b) são quaisquer dos dois pontos (dois tempos), f(a) é o valor da medida do peso no tempo (a), e f(b) é o valor da medida do peso no tempo (b), foi considerado o tempo em que as lagartas se alimentaram e o ganho de peso das lagartas ao longo do tempo. A área sob a curva, desde o tempo zero até o tempo tk em que foi tomada a última medida de peso, é indicada por ASC (0 - tk) e obtida baixando segmentos de reta paralelos à ordenada dos pontos do gráfico até a abscissa, formando assim um triângulo e diversos trapézios e sendo depois calculadas as áreas dessas figuras, por fim somou-se os valores das áreas, obtendo assim a área sob a curva de peso das lagartas. As comparações dos tratamentos dos experimentos 3.4 e 3.5 em relação às variáveis quantitativas do peso das lagartas, das pupas, do consumo foliar e do tempo de desenvolvimento das lagartas até pupa foram feitas através do teste de Kruskal-Wallis (CONOVER, 1980), técnica não paramétrica que permite a comparação de mais de dois grupos sem que haja suposições quanto à distribuição normal dos dados. Posteriormente foi utilizado o teste de Dunn para avaliar a significância dos efeitos. As análises do consumo foliar das lagartas foram realizadas com a soma do consumo foliar diário em cm² dos discos de folhas acumulado de todos os dias dos experimentos. A fim de comparar a proporção de mortalidade das lagartas entre os tratamentos, foi proposto o modelo de regressão binomial com função de ligação de identidade (AGRESTI, 1996), que permite a comparação entre as proporções de cada grupo de interesse.

As associações envolvendo as variáveis qualitativas da mortalidade das lagartas dos experimentos 3.4 e 3.5 foram feitas através do teste qui-quadrado (PAGANO e GAUVREAU, 2004). Também foi analisada a curva de sobrevivência para cada tratamento e foram construídas curvas de Kaplan-Meier (LEE, 1992) para as variáveis em estudo, e para verificar se existem evidências de diferenças entre as curvas foi utilizado um modelo de regressão de Cox (LEE, 1992). Todas as análises e gráficos foram realizados com o auxílio do software R, versão 3.4.1, e todas as comparações adotou-se um nível de significância de 5%. (R Core Team, 2017).

Para as análises do experimento 3.6 de preferência alimentar das lagartas, foram utilizados modelos binomiais logísticos (CORDEIRO et al. 2013). E foram ajustados aos dados de proporção de discos consumidos pelas lagartas *C. includens* e *H. armigera*. Considerou-se o preditor linear $n_{ij} = \mu_0 + \tau_i + \beta_{tj} + \gamma_{ij}$, com efeitos τ_i de tratamento, β_{tj} de rodada e γ_{ij} da interação entre tratamentos e rodadas, para ambas as espécies. A qualidade do ajuste foi avaliada via gráficos meio normais com envelope de simulação (MORAL et al. 2017).

Conduziu-se testes qui-quadrado em tabelas de análise de deviance para avaliar a significância dos efeitos. Comparações múltiplas foram realizadas utilizando o pacote multcomp, adotando um nível de significância de 0,05 sob a correção de Bonferroni (BRETZ et al. 2016). Por fim intervalos de confiança de 95% para a proporção esperada de discos consumidos pelas lagartas de cada espécie foram construídos usando o método delta (CORDEIRO et al. 2013).

As diferenças nos números de adultos e de ninfas de *B. tabaci* do experimento 3.7 foi analisada por ANOVA (delineamento inteiramente casualizado) e foi aplicado o teste de Tukey ao nível significância de 5% para as comparações entre as médias.

Para análise da quantidade de insetos que atingiram a fase adulta do experimento 3.8, foi realizada análise de variância (ANOVA) (delineamento inteiramente casualizado) aplicando o teste de Tukey ao nível significância de 5% para as comparações entre as médias.

Para as análises da quantidade de macro e micronutrientes do experimento 3.9, nas plantas utilizadas durante todos os experimentos foi utilizada a análise de variância (ANOVA) (delineamento inteiramente casualizado) e foi aplicado o teste de Tukey ao nível significância de 5% para as comparações entre as médias, sendo que cada lote (três repetições no tempo) foi considerado como uma repetição para cada tratamento.

A quantidade de UFC (unidades formadoras de colônias) do experimento 3.10, de fungos entomopatogênicos nas placas foi comparada pela análise de variância (ANOVA)

(delineamento inteiramente casualizado) aplicando-se o teste de Tukey, ao nível significância de 5% para as comparações entre as médias, sendo os tempos de avaliação de 20, 45 e 60 dias analisados separadamente.

Todos os procedimentos realizados das análises estatísticas, as pressuposições básicas da análise da variância (ANOVA), a comparação das médias entre tratamentos, normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias testadas para todas as variáveis analisadas dos experimentos 3.7 ao 3.10 foram conduzidos no software R (R Core Team, 2017).

4. RESULTADOS

4.1 Parâmetros biológicos e consumo foliar de *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera* alimentadas com discos de folha de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos

4.1.1 Ganho de peso e consumo foliar de *C. includens* e *H. armigera* alimentadas com discos de folha de soja

O ganho de peso das lagartas de *C. includens* alimentadas com discos de folhas de soja tratadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 e *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 no experimento 1 aumentou até o nono dia em todos os tratamentos, havendo uma queda após esta data para o tratamento com *B. bassiana* e uma ligeira redução após o décimo dia em *M. anisopliae* (Figura 6). A redução de peso ao final do período reflete as mudanças da metamorfose em preparação para a pupação. O ganho de peso final alcançado pelas lagartas após 11 dias de permanência nas placas de petri não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com discos foliares de plantas inoculadas com os fungos, mas apresentaram pesos inferiores as lagartas alimentadas com discos foliares de plantas não inoculadas (controle) ($p < 0,01$). Os valores máximos foram observados nas plantas não inoculadas (controle) (197,4 mg), seguido das plantas inoculadas com *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (167,8 mg), *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (151,3 mg) e *B. bassiana* ESALQ-3399 (142,5 mg). No experimento 2, o ganho de peso das lagartas de *C. includens* alimentadas com discos foliares provenientes de plantas tratadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 e *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 aumentou ao longo do tempo até o décimo dia, apresentando uma ligeira redução de peso no 11º dia (Figura 6). O ganho de peso médio alcançado pelas lagartas após 11 dias de alimentação dos discos de folhas de soja apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,01$), e as lagartas alimentadas com plantas não inoculadas apresentaram maiores ganhos de peso. Os valores máximos foram observados nos discos de folhas controle sem fungo (212,7 mg), seguido das plantas inoculadas com *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (154,6,2mg), *B. bassiana* ESALQ-3399 (153,4 mg) e *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (151,1 mg), que não diferiram entre si.

Esses resultados demonstraram que a presença dos fungos entomopatogênicos nas plantas de soja ocasionou uma redução no ganho de peso das lagartas de *C. includens* em comparação com as lagartas alimentadas com discos de folhas de plantas controle.

Para as lagartas de *H. armigera*, os resultados foram semelhantes aos de *C. includens*. No experimento 1, o ganho de peso das lagartas de *H. armigera* alimentadas com discos foliares de plantas de soja tratadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 e *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 aumentaram ao longo do tempo até o 13º dia (Figura 7). O ganho de peso médio alcançado pelas lagartas após 16 dias de alimentação dos discos de folhas de soja não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com plantas inoculadas com os fungos, porém foram inferiores aos valores observados nas lagartas alimentadas com plantas não inoculadas (controle) ($p < 0,01$). Os valores máximos foram observados nas plantas não inoculadas (controle) (289,7 mg), seguido das plantas inoculadas com *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (237,6 mg), *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (190,7 mg) e *B. bassiana* ESALQ-3399 (176,5 mg).

No experimento 2, o ganho de peso das lagartas de *H. armigera* alimentadas com discos foliares de plantas de soja tratadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 e *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 aumentou até o 13 dia em *B. bassiana* e *I. fumosorosea* e até o 14º dia nos outros dois tratamentos (Figura 7). O ganho de peso final alcançado pelas lagartas após 18 dias de alimentação com discos de folhas de soja apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,01$), e as lagartas alimentadas com discos foliares de plantas inoculadas com o fungo *B. bassiana* ESALQ-3399 obtiveram ganhos de peso maiores, diferente do observado no experimento 1. Os valores máximos foram observados nas plantas não inoculadas (controle) (250,1 mg), seguido de *B. bassiana* ESALQ-3399 (217,7 mg), *Metarhizium sp.* indet.1 ESALQ-1638 (206,7 mg) e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (205,6 mg).

Figura 6: Ganho de peso de lagartas de *Chrysodeixis includens* mantidas em placas de Petri alimentadas com discos de folhas de soja variedade BRS232 inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas legendas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn.

Figura 7: Ganho de peso de lagartas de *Helicoverpa armigera* mantidas em placas de Petri alimentadas com discos de folhas de soja variedade BRS232 inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas legendas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn.

Além do peso das lagartas, foram coletados os dados de consumo foliar das lagartas de *C. includens* e *H. armigera* durante os experimentos. O consumo foliar médio acumulado após 11 dias das lagartas de *C. includens*, nos experimentos 1 e 2, foi significativamente diferente entre os tratamentos ($p < 0,01$). O maior consumo foi observado nas lagartas alimentadas com plantas não inoculadas (controle), seguido de *B. bassiana* ESALQ-3399, *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (Figura 8).

Para as lagartas de *H. armigera*, nos experimentos 1 e 2, o consumo foliar médio após 16 dias apresentou diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,01$). O maior consumo foi observado nas lagartas alimentadas com plantas não inoculadas (controle), seguido de *B. bassiana* ESALQ-3399, *I. fumosorosea* ESALQ-3422 e *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Figura 9). A única diferença é que *B. bassiana* no experimento 2 não foi estatisticamente diferente do controle.

O consumo foliar das lagartas de *C. includens* foi relativamente superior ao consumo de lagartas de *H. armigera*, obtendo valores de consumo diário de 5,75 cm²/dia e 4,72 cm²/dia, respectivamente.

Nas Figuras 8 e 9 é possível observar os dados estatísticos das análises de consumo foliar acumulado em cm², sendo que os dados de ambos os experimentos foram analisados separados, pois após o teste de interação dos grupos para avaliar as diferenças de subgrupo, as mesmas foram estatisticamente significantes, assim como o valor de p foi significativo, concluímos que o efeito da intervenção no desfecho diferiu nos subgrupos.

Em resumo, o menor consumo foliar das lagartas em plantas inoculadas com fungos resultou em menores ganhos de peso.

Figura 8: Consumo foliar acumulado (cm²) de lagartas de *Chrysodeixis includens* alimentadas com discos de folhas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 34222) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas legendas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn.

Figura 9: Consumo foliar acumulado (cm²) de lagartas de *Helicoverpa armigera* alimentadas com discos de folhas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas legendas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn.

4.1.2 Sobrevivência de *C. includens* e *H. armigera* alimentadas com discos de folha de soja

Os tratamentos foram comparados tanto pela análise de sobrevivência quanto pela mortalidade total ao final do experimento pelo teste do qui-quadrado. As porcentagens médias de mortalidade das lagartas de *C. includens* alimentadas com discos de folhas de soja foram diferentes estatisticamente entre os tratamentos pelo teste do qui-quadrado nos experimentos 1 e 2 ($p < 0,01$) e também pela análise de sobrevivência pelo teste de regressão de Cox por meio do estimador de Kaplan-Meier nos experimentos 1 ($p < 0,01$) e experimento 2 ($p = 0,04$). As maiores chances de sobrevivência em ambos os experimentos foram para as lagartas alimentadas com plantas não inoculadas (controle), seguido de plantas inoculadas com o fungo *B. bassiana* ESALQ-3399 e por ultimo com os fungos *I. fumosorosea* ESALQ-3422 e *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638, que apresentaram valores semelhantes em relação a sobrevivência (Figura 10). As mortalidades de *C. includens* ao final do experimento 1 foram

maiores em plantas inoculadas com o fungo *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (65,5%), *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (64%) e *B. bassiana* ESALQ-3399 (55,2%) diferindo significativamente do controle sem fungos (13%). No experimento 2, as taxas de mortalidade foram iguais em plantas inoculadas com o fungo *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (50%) e *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (50%), diferindo de *B. bassiana* ESALQ-3399 (33,3%) e plantas não inoculadas (controle) (12%).

Por outro lado, não houve diferenças estatísticas pela análise de sobrevivência de lagartas de *H. armigera* pelo teste de regressão de Cox por meio do estimador de Kaplan-Meier nos experimentos 1 ($p=0,11$) e experimento 2 ($p=0,15$), nem pela mortalidade pelo teste de qui-quadrado tanto no experimento 1 ($p=0,07$) quanto no experimento 2 ($p=0,052$). A mortalidade no experimento 1, em plantas inoculadas com o fungo *I. fumosorosea* ESALQ-3422 foi de 44%, enquanto que em *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *B. bassiana* ESALQ-3399 e em plantas não inoculadas (controle) foi de 40%, 36% e 12%, respectivamente (Figura 11). No experimento 2 foi observado que as lagartas alimentadas com as plantas inoculadas com o fungo *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 apresentaram mortalidade de 48%, seguido de *I. fumosorosea* ESALQ-3422 com 36% e *B. bassiana* ESALQ-3399 com 36%, e plantas não inoculadas (controle) (12%).

Figura 10: Análise de sobrevivência de lagartas de *Chrysodeixis includens* alimentadas com discos de folhas de soja inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes indicam diferença estatística ao nível de 0,05 de significância nas comparações das curvas realizadas através de um modelo de regressão de Cox.

Figura 11: Análise de sobrevivência de lagartas de *Helicoverpa armigera* alimentadas com discos de folhas de soja inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes indicam diferença estatística ao nível de 0,05 de significância nas comparações das curvas realizadas através de um modelo de regressão de Cox.

4.1.3 Período de desenvolvimento e peso de pupas de *C. includens* e *H. armigera* alimentadas com discos de folha de soja

Para a espécie de lagarta *C. includens* houve diferenças significativas dos pesos médios das pupas em ambos os experimentos ($p < 0,01$). No experimento 1, os maiores valores de peso médio de pupa foram observados para lagartas que se alimentaram de folhas de plantas não inoculadas (controle) (162,7mg) que não diferiu estatisticamente daquelas alimentadas com folhas inoculadas com *B. bassiana* ESALQ-3399 (134,2 mg), mas foram superiores a *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (122,6 mg), e *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 (112,4 mg) (Figura 12).

No experimento 2 os resultados foram semelhantes do experimento 1, pois as lagartas de *C. includens* alimentadas com discos de folhas de soja inoculadas com os fungos entomopatogênicos apresentaram pesos médios de pupas semelhantes, mas menores do que aquelas alimentadas com folhas de plantas não inoculadas (controle) (184,9mg). O peso de pupas nos tratamentos com fungos variou de 136,41 mg (*Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638) a 132,6 mg (*B. bassiana* ESALQ-3399) (Figura 12).

Já para a espécie de lagarta *H. armigera*, também houve diferenças estatísticas do peso das pupas em ambos experimentos ($p < 0,01$). No experimento 1, o peso médio de pupa das lagartas que se alimentaram de folhas de plantas não inoculadas (controle) (175,2 mg) foi superior aos outros tratamentos, exceto de *I. fumosorosea*. O peso de pupas nos tratamentos com fungos variou de 158,43 mg (*I. fumosorosea* ESALQ-3422) a 145,64 mg (*B. bassiana* ESALQ-3399) (Figura 13).

No experimento 2, as lagartas de *C. includens* alimentadas com discos de folhas de soja inoculadas com fungos apresentaram pesos médios de pupas menores do que as lagartas alimentadas de plantas não inoculadas (188,4 mg). O peso de pupas nos tratamentos com fungos variou de 167,3 mg (*Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638) a 164,2 mg (*B. bassiana* ESALQ-3399).

Diante desses resultados foi possível observar que as lagartas de *H. armigera* e *C. includens* que se alimentaram de discos de folhas de plantas não inoculadas apresentaram os maiores pesos de pupas, sendo que a inoculação por fungos entomopatogênicos afetou negativamente o peso de pupa.

Figura 12: “Boxplots” dos pesos de pupas de *Chrysodeixis includens* alimentadas com discos de folhas de plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas barras representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn.

Figura 13: “Boxplots” dos pesos de pupas de *Helicoverpa armigera* alimentadas com discos de folhas de plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399, *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas barras representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn.

O período de lagarta a pupa de *C. includens* apresentou diferenças estatísticas no experimento 2 ($p < 0,01$), mas não no experimento 1 ($p = 0,91$) (Figura 14). No experimento 2, o período de lagartas até pupa de *C. includens* foi maior no tratamento com *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (16,1 dias) do que nas plantas não inoculadas (controle) (14,6 dias) (Figura 14).

Já para a espécie *H. armigera* houve diferenças estatísticas nos dois experimentos ($p < 0,01$). No experimento 1, o tempo de lagarta até pupa foi maior para aquelas que se alimentaram de plantas inoculadas com *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (18,3 dias), do que *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (16,9 dias), mas não diferindo de *B. bassiana* ESALQ-3399 (18,2 dias) e controle (17,3) (Figura 15). No experimento 2, o tempo de lagarta até pupa foi maior para as lagartas que se alimentaram de plantas inoculadas com *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (18,5 dias) em relação a plantas não inoculadas (controle) (17,9 dias).

Com esses resultados podemos concluir que em geral a inoculação com os fungos entomopatogênicos prolonga o período de desenvolvimento de lagarta a pupa.

Figura 14: “Boxplots” do período de desenvolvimento (em dias) de lagarta a pupa de *Chrysodeixis includens* alimentadas com discos de folhas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399, *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas barras representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn.

Figura 15: “Boxplots” do período de desenvolvimento (em dias) de lagarta a pupa de *Helicoverpa armigera* alimentadas com discos de folhas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399, *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas barras representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn.

4.2 Parâmetros biológicos de *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera* alimentadas em plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos

4.2.1 Ganho de peso de *C. includens* e *H. armigera* em plantas de soja

Para validação dos resultados observados na diferença de consumo e peso das lagartas de *C. includens* e *H. armigera* alimentadas com discos de folhas, investigou-se o ganho de peso das lagartas alimentadas diretamente em plantas de soja inoculadas com os fungos entomopatogênicos ou Tween 80 0,01% (controle). Esse experimento foi conduzido para avaliar se a presença dos fungos entomopatogênicos nas plantas de soja pode ter influenciado na fisiologia e bioquímica das plantas de soja, que não foi possível observar nos experimentos com discos de folhas.

O ganho de peso das lagartas de *C. includens* alimentadas com plantas de soja tratadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 e *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422, apresentou diferenças estatisticamente

significativas no experimento 1 ($p < 0,01$) mas não no experimento 2 ($p = 0,09$) (Figura 16). No experimento 1, o ganho de peso final das lagartas após 18 dias de permanência nas plantas inoculadas com os fungos não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, porém foram menores do que nas plantas não inoculadas com fungos (controle) (Figura 16). O ganho de peso das lagartas alimentadas com as plantas não inoculadas (controle) foi de 240,7 mg, seguido das plantas inoculadas com *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (195 mg), *B. bassiana* ESALQ-3399 (185,5 mg) e *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 (184,4 mg).

No experimento 2, o ganho de peso final alcançado pelas lagartas após 18 dias de permanência nas plantas inoculadas com *B. bassiana* ESALQ-3399 (155,4 mg) foi 81,5% do peso das lagartas que se alimentaram de plantas não inoculadas com fungo (190,8 mg), as lagartas criadas nas plantas inoculadas com *I. fumosorosea* ESALQ-3422 e com *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 foram de 168mg e 162,3 mg, respectivamente.

Para as lagartas de *H. armigera* os resultados estatísticos foram semelhantes aos de *C. includens*, porém os pesos das lagartas foram menores. O ganho de peso das lagartas de *H. armigera* foi significativamente diferente no experimento 1 ($p < 0,01$), enquanto que no experimento 2 não houve diferenças ($p = 0,20$) (Figura 17).

Os ganhos de pesos finais alcançados pelas lagartas criadas nas plantas inoculadas com os fungos foram semelhantes entre si, mas foram significativamente menores do que as lagartas mantidas em plantas não inoculadas com fungos (controle). O ganho de peso médio das lagartas mantidas nas plantas não inoculadas (controle) foi de 182,9 mg, seguido das plantas inoculadas com *B. bassiana* ESALQ-3399 (150,2 mg), *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 (137,2 mg) e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (125,1 mg).

No experimento 2, o ganho de peso final das lagartas alimentadas com plantas inoculadas com o fungo *B. bassiana* ESALQ-3399 foi de 209,4 mg, seguido de plantas não inoculadas (controle) (200,38 mg), *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 (195,78 mg) e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (195,28 mg) (Figura 17).

Figura 16: Ganho de peso das lagartas de *Chrysodeixis includens* mantidas em plantas de soja variedade BRS232 inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas legendas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn. Ns: não significativo.

Figura 17: Ganho de peso das lagartas de *Helicoverpa armigera* mantidas em plantas de soja variedade BRS232 inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas legendas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn. ns: não significativo.

4.2.2 Sobrevivência de *C. includens* e *H. armigera* em plantas de soja

Na análise de sobrevivência das lagartas de *C. includens* não houve diferenças pelo teste de regressão de Cox por meio do estimador de Kaplan-Meier nos experimentos 1 ($p < 0,05$) e experimento 2 ($p = 0,13$). A mortalidade total ao final do experimento das lagartas alimentadas em plantas de soja inoculadas com os fungos entomopatogênicos e de plantas não inoculadas (controle) apresentaram diferenças estatísticas pelo teste do qui-quadrado nos experimentos 1 ($p = 0,01$) e experimento 2 ($p = 0,02$). As maiores mortalidades para as lagartas de *C. includens* no experimento 1 foram em plantas inoculadas com o fungo *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (54,6%), *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (54,2%) e *B. bassiana* ESALQ-3399 (44%), sendo estes valores superiores aos apresentados nas lagartas mantidas em plantas não inoculadas (10,5%) (Figura 20).

Para o experimento 2 os resultados foram semelhantes, onde as maiores mortalidades foram observadas em plantas inoculadas com os fungos *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (52%) e *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 (40%) que não diferiram de *B. bassiana* ESALQ-3399 (28%), mas foram superiores a mortalidade das lagartas mantidas em plantas não inoculadas (12,5%).

Não foram observadas diferenças significativas pelo teste de regressão de Cox por meio do estimador de Kaplan-Meier nos experimentos 1 ($p=0,22$) e experimento 2 ($p=0,49$). A mortalidade das lagartas de *H. armigera*, apresentou diferenças estatísticas pelo teste do qui-quadrado apenas no experimento 1 ($p=0,01$), enquanto que no experimento 2 não houve diferenças ($p=0,21$). As maiores mortalidades no experimento 1 foram em plantas inoculadas com os fungos *B. bassiana* ESALQ-3399 (60%), *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (52%) e *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 (44%). A mortalidade em plantas não inoculadas (controle) foi significativamente menor do que nos tratamentos com os fungos (16%) (Figura 22). No experimento 2, a mortalidade das lagartas em plantas inoculadas com o fungo *I. fumosorosea* ESALQ-3422 e *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 foi de 40%, já em *B. bassiana* ESALQ-3399 foi de 36% e em plantas não inoculadas (controle) de 16%.

Figura 18: Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier mostrando a estimativa de vida das lagartas de *Chrysodeixis includens* em função do tempo, alimentadas com plantas de soja inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes indicam diferença estatística ao nível de 0,05 de significância nas comparações das curvas realizadas através de um modelo de regressão de Cox. ns: não significativo.

Figura 19: Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier mostrando a estimativa de vida das lagartas de *Helicoverpa armigera* em função do tempo, alimentadas com plantas de soja inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes indicam diferença estatística ao nível de 0,05 de significância nas comparações das curvas realizadas através de um modelo de regressão de Cox. ns: não significativo.

4.2.3 Período de desenvolvimento e peso de pupas de *C. includens* e *H. armigera* alimentadas com plantas de soja

Para a espécie de lagarta *C. includens* não houve diferenças estatísticas dos pesos das pupas em ambos experimentos ($p = 0,18$, experimento 1 e $p = 0,14$ experimento 2). No experimento 1, o peso médio de pupa variou de 185,95mg no tratamento sem inoculação de fungos (controle) a 159,8 mg no tratamento com *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Figura 20). No experimento 2, o peso de pupa variou de 164,4 mg no tratamento sem inoculação de fungos a 149,04 mg no tratamento com *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (Figura 20).

Para a espécie de lagarta *H. armigera*, não houve diferenças estatísticas do peso das pupas em ambos experimentos (experimento 1, $p = 0,13$ e experimento 2, $p = 0,48$). O peso médio de pupas variou de 144,76 mg no tratamento com *B. bassiana* ESALQ-3399 a 161,3 mg no tratamento com plantas não inoculadas (controle) (Figura 21). No experimento 2, o peso médio de pupas variou de 184,96 mg para *B. bassiana* ESALQ-3399 a 178,31 mg para *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 (Figura 21).

Figura 20: “Boxplots” das medidas dos pesos de pupas de *Chrysodeixis includens* alimentadas com plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium sp. indet. 1* ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399) *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas barras representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn. ns: não significativo.

Figura 21: “Boxplots” das medidas dos pesos de pupas de *Helicoverpa armigera* alimentadas com plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas barras representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn. ns: não significativo.

Na análise do período (em dias) entre da fase de lagarta até a transformação em pupa da espécie *C. includens* houve diferenças estatísticas em ambos os experimentos ($p < 0,01$). Em média as lagartas de *C. includens* que se alimentaram de plantas inoculadas com *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 demoraram mais tempo para pupar (22,7 dias) do que no tratamento com *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (19,3 dias), mas semelhante à de *B. bassiana* ESALQ-3399 (22,4 dias) e, para plantas não inoculadas (controle) (19,9 dias) (Figura 22).

No experimento 2, o período até pupa de *C. includens* foi significativo ($p < 0,01$), e em média as lagartas que se alimentaram de plantas inoculadas com fungos levaram mais tempo para virar pupa do que as lagartas que se alimentaram de plantas não inoculadas. O tempo médio para pupação variou de 23,1 dias para *B. bassiana* ESALQ-3399 a 18,7 dias nas plantas não inoculadas (controle) (Figura 22).

Já para a espécie *H. armigera* não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos em ambos os experimentos. O tempo médio de lagarta até pupa variou de 25,7 dias até 19,7 dias com *B. bassiana* ESALQ-3399 e nas plantas não inoculadas (controle) respectivamente

(Figura 23). E no primeiro experimento de 23 dias a 21,1 dias para *I. fumosorosea* ESALQ-3422 e plantas não inoculadas (controle), respectivamente.

Figura 22: “Boxplots” do tempo de desenvolvimento (em dias) de pupas de *Chrysodeixis includens* alimentadas com plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas barras representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn.

Figura 23: “Boxplots” do tempo de desenvolvimento (em dias) de pupas de *Helicoverpa armigera* alimentadas com plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Letras diferentes nas barras representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Dunn. ns: não significativo.

4.3 Preferência alimentar das lagartas de *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera* alimentadas com discos de folha de soja provenientes de plantas inoculadas com fungos

Esse estudo foi realizado duas vezes no tempo e na Tabela 2 é apresentado o quadro de análise de deviance para os modelos ajustados aos dados de cada espécie. Os resultados nessa tabela sustentam a remoção dos efeitos de interação, ou seja, os dados de ambos os experimentos foram analisados conjuntamente.

Tabela 2: Quadro de análise de deviance para os modelos ajustados aos dados de preferência alimentar das espécies *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera*.

Espécie	Efeito	G.L.	Deviance	Diferenças G.L	Diferença Deviance	Valor P
<i>C.includens</i>	Nulo			235	309,590	
	Tratamento	3	22,924	232	286,665	0,0000
	Rodada	1	0,602	231	286,063	0,4377
	Interação	3	1,354	228	284,709	0,7163
<i>H.armigera</i>	Nulo			191	240,049	
	Tratamento	3	21,165	188	218,884	0,0001
	Rodada	1	0,646	187	218,237	0,4213
	Interação	3	2,424	184	215,813	0,4891

O maior consumo de discos foliares das lagartas de *C. includens* foi observado nas folhas de plantas inoculadas de *B. bassiana* ESALQ-3399 (81,4% dos discos), sendo superior a *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (52,5%) e plantas não inoculadas (controle) (45,8%), não tendo diferido de *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (74,6%). Já para as lagartas de *H. armigera* o maior consumo foi em plantas inoculadas com *B. bassiana* ESALQ-3399 (89,6%), não tendo diferido de *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (70,8%), mas superior a *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (64,6%) e plantas não inoculadas (controle) (47,9%) (Figura 24).

Ambas as espécies de lagartas tiveram preferência primeiramente pelas plantas inoculadas com *B. bassiana* ESALQ-3399 e não preferiram as plantas sem inoculação. A preferência por plantas inoculadas com *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 variou em função da espécie de lagarta. (Figura 24).

Figura 24. Proporções estimadas de discos consumidos de soja BRS232 provenientes de plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle), e respectivos intervalos de confiança de 95% para as espécies *Chrysodeixis includens* e *Helicoverpa armigera*. Letras diferentes sob os IC indicam proporções médias significativamente diferentes a 5% de confiança pelo teste de comparações múltiplas.

4.4 Avaliação da preferência para alimentação e postura de ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B em plantas de soja

Foram observadas diferenças estatisticamente significativas em relação à quantidade de adultos de mosca-branca, *B. tabaci* biótipo B nas plantas dos diferentes tratamentos ($F=9,82$; $p=0,001$) e no número de ninfas geradas em cada tratamento ($F=10,34$; $p=0,001$). Os números médios de adultos observados em plantas de soja não inoculadas (controle) foram maiores do que nas plantas inoculadas com *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638, *I. fumosorosea* ESALQ-3422 e *B. bassiana* ESALQ-3399 (Figura 25). Cinco dias da postura dos adultos, foi contabilizado o número de ninfas se os sendo observados resultados semelhantes entre estes dois parâmetros, ou seja, tratamentos com maiores densidades de adultos de *B. tabaci* biótipo B em geral apresentaram maiores densidades de ninfas geradas.

Os maiores números de ninfas de 1º instar foram observados em plantas de soja não inoculadas com fungos (controle), em relação as plantas inoculadas com *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638, *I. fumosorosea* ESALQ-3422 e *B. bassiana* ESALQ-3399 (Figura 25).

Diante desses resultados, podemos concluir que plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos apresentaram um efeito repelente significativo para os adultos de *B. tabaci* em relação as plantas controle.

Figura 25. Média $\pm$ erro-padrão do número de adultos (a) e ninfas de *Bemisia tabaci* biótipo B por planta (b) nas plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

4.5 Efeitos no desenvolvimento de *Bemisia tabaci* biótipo B em plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos

Foram observadas diferenças significativas em relação aos tratamentos ($F=4,05$, $p=0,01$), sendo que as plantas de soja inoculadas com *B. bassiana* ESALQ-3399 apresentaram menos adultos eclodidos após 25 dias da postura do que nas plantas não inoculadas (controle). Não houve diferenças de eclosão de adultos entre os tratamentos com inoculação de fungos (Figura 26). Dessa forma, podemos concluir que plantas inoculadas com *B. bassiana* ESALQ-3399 apresentaram efeitos adversos significativos em relação ao desenvolvimento de *B. tabaci*.

Figura 26. Média $\pm$ erro-padrão do número de adultos de *Bemisia tabaci* biótipo B eclodidos nas plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle) 25 dias após a postura. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

4.6 Análise foliar de plantas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos

De acordo com as análises do conteúdo de nutrientes das folhas de soja podemos observar que não houve diferenças significativas para os macronutrientes (Tabela 3) e os micronutrientes (Tabela 4) das folhas de soja inoculadas com fungos entomopatogênicos em relação a plantas não inoculadas (controle). Assim podemos concluir que os fungos entomopatogênicos não interferem na nutrição das plantas de soja e que os efeitos observados

no desenvolvimento das pragas podem estar relacionados a outros fatores, tais como produção de metabolitos ou emissão de voláteis de repelência.

Tabela 3. Média $\pm$ erro-padrão dos macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K) (c), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) nas folhas de plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle).

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹					
Controle	40,5 $\pm$ 0,5	4,3 $\pm$ 0,5	20,4 $\pm$ 4,2	6,9 $\pm$ 1,4	4,4 $\pm$ 0,8	4,5 $\pm$ 0,7
Met 1638	34,5 $\pm$ 3,5	4,1 $\pm$ 0,05	41,3 $\pm$ 17,6	7,3 $\pm$ 1,2	4,3 $\pm$ 0,3	4,7 $\pm$ 0,4
Bb 3399	35,8 $\pm$ 4,7	4,4 $\pm$ 0,4	42,0 $\pm$ 20,0	7,1 $\pm$ 0,9	4,6 $\pm$ 0,4	4,3 $\pm$ 0,5
If 3422	33,8 $\pm$ 1,7	4,0 $\pm$ 0,03	40,9 $\pm$ 19,4	7,1 $\pm$ 0,8	4,3 $\pm$ 0,4	4,7 $\pm$ 0,6
F	0,97	0,51	0,40	0,02	0,06	0,08
p	0,45	0,68	0,76	1,00	0,98	0,97
CV (%)	14	11	42	22	18	19

Tabela 4. Média $\pm$ erro-padrão dos micronutrientes: boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) nas folhas de plantas de soja BRS232 inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399), *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422) e plantas não inoculadas (Controle).

Tratamento	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg kg ⁻¹				
Controle	44,1 $\pm$ 2,1	1,8 $\pm$ 0,2	121,9 $\pm$ 19,4	94,3 $\pm$ 5,9	50,3 $\pm$ 9,4
Met 1638	42,7 $\pm$ 5,0	1,6 $\pm$ 0,5	146,2 $\pm$ 36,8	81,7 $\pm$ 9,7	51,6 $\pm$ 10,2
Bb 3399	42,9 $\pm$ 3,5	1,3 $\pm$ 0,3	113,1 $\pm$ 25,4	90,2 $\pm$ 17,0	47,9 $\pm$ 7,8
If 3422	41,8 $\pm$ 1,2	1,4 $\pm$ 0,4	137,7 $\pm$ 33,9	83,8 $\pm$ 9,4	47,2 $\pm$ 5,5
F	0,08	0,41	0,25	0,27	0,06
p	0,97	0,75	0,86	0,85	0,98
CV (%)	11	35	35	19	25

4.7 Colonização e persistência dos fungos entomopatogênicos em plantas de soja e no substrato

Para confirmar densidade e persistência dos fungos entomopatogênicos no solo das plantas de soja inoculadas, a presença desses foi avaliada ao longo do tempo no solo (Figura

28). Vinte dias após a inoculação ($F=1,60$, $p=0,25$) e 45 dias ($F=4,14$, $p=0,06$) após a inoculação dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 não houve diferenças significativas na quantidade de UFC entre os tratamentos (Figura 27). Porém, após 60 dias houve diferenças significativas sendo maior a recuperação de *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 em relação aos demais ($F=10,36$, $p=0,01$) tratamentos (Figura 27). O fungo *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 não apresentou uma queda drástica ao longo do tempo, assim pode-se concluir que esse fungo possui maior persistência no substrato em relação aos outros fungos. Não foi observado resultados na avaliação da colonização dos fungos entomopatogênicos nas plantas de soja, pois não foi possível a recuperação de colônias de *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 das folhas, caules e raiz das plantas de soja inoculadas.

Figura 27. Média $\pm$ erro-padrão de unidades formadoras de colônias (UFC) de cada isolado de fungo nos substratos inoculados com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638 (Met 1638), *Beauveria bassiana* ESALQ-3399 (Bb 3399) e *Isaria fumosorosea* ESALQ-3422 (If 3422), em função dos dias após a incubação (20, 45 e 60 dias). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Figura 28. Unidades formadoras de colônias (UFC) dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* ESALQ-3399 (A), *I. fumosorosea* ESALQ-3422 (B) e *Metarhizium* sp. indet. 1 ESALQ-1638 (C) em placas de petri contendo meio seletivo e incubadas após 15 dias em B.O.D. a 26°C.

5. DISCUSSÃO

A maioria dos estudos sobre fungos entomopatogênicos na agricultura ao longo do tempo foram voltados a patogenicidade destes a insetos através da pulverização ou de iscas a base de produtos formulados com esses fungos. Porém, estudos recentes sobre a interação ecológica destes fungos em solos e plantas estão revelando uma nova opção de uso para esses fungos, como o potencial da relação endofítica de fungos entomopatogênicos com plantas para o controle ou repelência de diversas pragas. Os resultados presentes neste trabalho mostram a relação de fungos entomopatogênicos com plantas de soja, revelando os efeitos desta interação no controle ou repelência das pragas *H. armigera* e *C. includens* e *B. tabaci*.

Para todos experimentos com *B. tabaci* e lagartas de *H. armigera* e *C. includens* foi realizado o método de inoculação pela aplicação de suspensão de conídios diretamente nas sementes de soja durante o plantio. Outros trabalhos testaram diferentes métodos de inoculação em soja, como o descrito por Russo et al (2018), onde demonstraram a eficácia de três métodos de inoculação (spray foliar, imersão de sementes e imersão em raízes) para estabelecer o fungo *B. bassiana* como endófitico em soja. A porcentagem de recuperação das diferentes linhagens fúngicas foi maior após 7 dias da inoculação, através do órgão que esteve em contato direto com o fungo durante a inoculação e o método de inoculação por aspersão foliar foi o mais bem sucedido. Porém outros autores como Parsa et al (2013) obtiveram bons resultados em colonizar plantas de feijão utilizando o método realizado nesse presente trabalho, e de acordo com esse autor, o resultado específico do experimento de colonização endofítica pode depender da espécie ou variedade de cultura alvo, da cepa ou isolado das espécies dos fungos entomopatogênicos utilizados e das condições de crescimento da planta.

A primeira parte deste estudo objetivou verificar o efeito da relação planta-fungo-inseto, mostrando que a inoculação dos fungos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 nas plantas de soja pode beneficiar a mesma protegendo-a contra o ataque e reduzindo o desempenho das lagartas desfolhadoras *C. includens* e *H. armigera*. As lagartas de *C. includens* e *H. armigera* que se alimentaram de plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos apresentaram consumo foliar diário menor em relação as que se alimentaram de plantas controle. Os resultados apresentados neste estudo revelam que as lagartas que se alimentaram de plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos obtiveram menor peso em relação às que se alimentaram de plantas controle (sem fungo). Esses resultados são importantes pois nos mostram que essas plantas inoculadas com fungos interferem no desenvolvimento desses insetos.

Batista et al. (2015) demonstraram que à temperatura de 25°C, as lagartas de *H. armigera* consumiram uma média diária de 4,7 cm² de folhas de soja, durante o desenvolvimento de segundo instar à fase de pupa, enquanto Hoffmann-Campo et al. (2000), citam que até atingir a fase de pupa, lagartas de *C. includens* podem consumir valores médios diários de até aproximadamente 13 cm². Observamos que a alimentação das folhas de plantas de soja inoculadas com fungos fez diminuir o consumo da lagarta de *C. includens*, pois o consumo foliar diário das lagartas de *C. includens* foi 5,75 cm²/dia enquanto que para lagartas de *H. armigera* foi de 4,72 cm²/dia. No estudo de Barta (2018), as lagartas de *Cameraria ohridella* que se alimentaram de plantas inoculadas com *Beauveria*, apresentaram área foliar consumida até 5 vezes menores em relação as plantas controle.

O peso das pupas de lagartas de *C. includens* e *H. armigera* que se alimentaram de plantas de soja inoculadas com os fungos entomopatogênicos também foi afetado, pois apresentaram peso menor em relação as lagartas que se alimentaram de plantas controle. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo de Barta (2018), onde as lagartas de *Cameraria ohridella* que se alimentaram de folhas de castanha da Índia apresentaram menores pesos de pupa em relação as pupas alimentadas com folhas controle (sem fungo). Além do peso das pupas, o tempo de transformação de lagartas de *C. includens* e *H. armigera* até pupa também foi afetado em lagartas que se alimentaram de plantas inoculadas com fungos, pois levaram mais tempo para finalizar seu ciclo.

Outro dado importante é que a inoculação das plantas com os fungos entomopatogênicos resultou em mortalidades significativas das pragas *C. includens* e *H. armigera*, pois foram observadas taxas de 28 a 65% de mortalidade nas lagartas que se alimentaram das folhas de plantas inoculadas. Esse resultado é o primeiro relato do controle dessas pragas utilizando fungos endofíticos em vasos com plantas de soja.

Outros estudos apresentaram resultados semelhantes com diferentes isolados de fungos, plantas e insetos, entre eles o estudo conduzido por Romero et al (2016) que testaram os efeitos da inoculação dos fungos *B. bassiana* e *M. brunneum* em plantas de alfafa, tomate e melão em lagartas de *Spodoptera littoralis*. Os resultados mostraram que lagartas de *S. littoralis* que se alimentaram de plantas inoculadas com esses fungos tiveram mortalidades de 41,7 a 76,6%. Outro estudo de Pena-Pena et al (2015) mostrou taxas de mortalidade de 50% em larvas de *Anomala cincta* que se alimentaram de plantas de milho inoculadas por *M. pingshaense*. Mantzoukas et al (2015) também apresentaram mortalidade larval de 70 a 100% em *Sesamia nonagrioides*, alimentadas com plantas de sorgo inoculadas com os fungos *B. bassiana*, *M. robertsii* e *I. fumosorosea*.

Em outro estudo recente, Clifton et al (2018) testaram a inoculação de *M. brunneum* e *B. bassiana* em sementes de soja no controle do pulgão da soja, *Aphis glycines*, porém não ocorreu mortalidade desse inseto se alimentando das plantas inoculadas. Entretanto, o tamanho da população de *A. glycines* aumentou nas plantas com o inóculo de sementes de *M. brunneum*. Isso demonstra que nem sempre os fungos endofíticos serão benéficos no controle de algumas pragas, e podem até favorece-las.

O experimento de preferência alimentar das lagartas de *C. includens* e *H. armigera* demonstrou que as lagartas tiveram uma preferência para alimentar-se das plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos em relação as plantas controle (sem fungo). É interessante observar que quando não foi dada a opção de escolha, o consumo das lagartas foi menor em discos de folhas de plantas inoculadas.

Pelizza et al (2017) inocularam *B. bassiana* em plantas de milho e observaram a preferência alimentar do gafanhoto *Dichroplus maculipennis*, sendo que os resultados mostraram que os gafanhotos consumiram o dobro de plantas controle (sem fungo) em relação as plantas de milho inoculadas com *B. bassiana*, sendo assim mostrando sua preferência por plantas não inoculadas com fungos.

Os resultados obtidos com as lagartas desfolhadoras de soja demonstraram que a inoculação dos fungos entomopatogênicos nas plantas de soja causaram efeitos negativos na sobrevivência dessas pragas e que, essas plantas inoculadas também foram capazes de atrair essas lagartas, funcionando como uma “isca biológica”. Estes achados sugerem que a utilização dos fungos entomopatogênicos como inoculantes das plantas de soja tem potencial como uma nova estratégia de controle das lagartas defolhadoras *H. armigera* e *C. includens*, sendo observado maiores efeitos nas lagartas de *C. includens*.

A segunda parte desse estudo objetivou verificar o efeito da relação planta-fungo-inseto, no desenvolvimento de outra praga de importância econômica da soja e com comportamento alimentar diferente. A mosca-branca, *B. tabaci* biótipo B, é um inseto sugador do floema das plantas que fica a maior parte do tempo de seu desenvolvimento fixo nas folhas e se alimentando exclusivamente do floema das plantas. Os resultados obtidos demonstraram que os adultos de *B. tabaci* biótipo B tiveram uma preferência para se alimentar e ovipositar em plantas não inoculadas com fungo (controle), indicando que poderia existir um efeito de repelência das plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos. Todos os fungos entomopatogênicos inoculados tornaram as plantas de soja menos atrativas aos adultos de *B. tabaci*, porém apenas o fungo *B. bassiana* causou uma redução no desenvolvimento de ninfas até adultos.

No estudo de Jaber et al. (2018) foi testado se a inoculação dos fungos *B. bassiana* e *M. brunneum* em plantas de *Brassica oleracea*, e posteriormente pulverizados ou não com extratos aquosos de duas plantas medicinais *Calotropis procera* e *Inula viscosa* poderia interferir no desenvolvimento da mosca-branca. Os autores tiveram resultados de mortalidade e atraso de desenvolvimento de ovos de mosca-branca apenas quando os efeitos eram combinados da inoculação com os fungos endofíticos mais a pulverização foliar de extratos das plantas medicinais. Não houve diferenças significativas em tratamentos isolados, utilizando apenas os fungos inoculados endofiticamente ou apenas a pulverização com os extratos de plantas medicinais.

Pelizza et al. (2017) inocularam *B. bassiana* em plantas de milho para observar os efeitos sobre o gafanhoto *Dichroplus maculipennis*, onde o número de ovos postos por fêmeas alimentadas com plantas controle (sem fungos) foi de 27,2, enquanto o número de ovos postos por fêmeas que foram alimentadas durante 15 dias com plantas inoculadas com *B. bassiana* foi de 17,7. Esses resultados são semelhantes aos deste presente trabalho com *B. tabaci*, pois as plantas inoculadas com fungos entomopatogênicos também tiveram menor postura de ovos.

Para todos experimentos realizados nesse estudo não foram observados a esporulação de fungos em cadáveres de insetos que tiveram contato ou se alimentaram das plantas de soja inoculadas pelos fungos entomopatogênicos *Metarhizium sp.* indet. 1 ESALQ-1638, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *I. fumosorosea* ESALQ-3422. A causa da morte de lagartas de *C. includens* e *H. armigera* que se alimentaram das plantas de soja inoculadas com os fungos entomopatogênicos ainda não foi determinada. As lagartas começaram a morrer cerca de 4 a 5 dias após o início da alimentação com essas plantas de soja inoculadas, sendo que a alimentação continua das lagartas com as plantas inoculadas indica que possivelmente possa estar vinculada a alguma toxina.

Alguns autores citam algumas hipóteses da causa da morte de insetos que se alimentaram de plantas inoculadas com fungos entomopatogênicos, Vega et al. (2008) menciona que a produção de toxinas dentro da planta poderia ser uma das hipóteses que explicaria a mortalidade dos hospedeiros alimentados com folhas colonizadas com esses fungos entomopatogênicos. Outro autor Bruck, (2010) cita que a causa da morte poderia estar relacionada a emissão de compostos voláteis pela planta em associação com o fungo que poderia modificar o comportamento dos herbívoros.

Além disso, a inoculação dos fungos entomopatogênicos nas plantas de soja poderia estar induzindo a emissão de moléculas voláteis atrativas para as lagartas desfolhadoras ou

repelentes para as moscas-branca, que provavelmente interferiu no comportamento desses insetos na escolha das plantas.

A terceira parte dos experimentos foi conduzida com o objetivo de estudar se o conteúdo nutricional das folhas de soja poderia estar relacionado aos resultados observados nos experimentos com as lagartas desfolhadoras *C. includens* e *H. armigera*, além da mosca-branca. Porém não houve diferenças significativas entre os tratamentos, diferente do observado por Krell et al. (2018) que investigaram a influência da fertilidade do solo em plantas de batata inoculadas com o fungo *Metarhizium brunneum*, de acordo com os resultados, teores de biomassa, área foliar, nitrogênio e fósforo foram aumentados indicando mobilização e transferência de nutrientes pelo fungo. Diante do presente estudo podemos concluir que os nutrientes das plantas inoculadas com os fungos entomopatogênicos não foram responsáveis nos resultados obtidos das pragas estudadas.

Por fim, a última parte deste estudo objetivou verificar a persistência dos fungos entomopatogênicos no substrato ao longo dos bioensaios, pois durante os bioensaios não foi possível a recuperação de colônias de *Metarhizium sp. indet.* 1 ESALQ-1638, *B. bassiana* ESALQ-3399 e *I. fumosorosea* ESALQ-3422 das folhas, caules e raiz das plantas de soja inoculadas, diferentemente do encontrado por Golo et al. (2014), que conseguiu recuperar *Metarhizium* das folhas de plantas inoculadas por *M. acridum* e *M. robertsii* 12 dias após a inoculação. Dessa maneira, foi observado apenas se os fungos entomopatogênicos estavam presentes no substrato das plantas dias após a inoculação.

Foi observado que todos os fungos estavam presentes nos substratos das plantas utilizadas durante os experimentos após 20, 45 e 60 dias da inoculação. O fungo *Metarhizium sp. indet.* 1 ESALQ-1638 apresentou a maior persistência em relação aos outros fungos no substrato com diferenças estatísticas significativas, pois foi capaz de persistir no substrato das plantas colonizadas por até 60 dias após a inoculação. Este resultado é semelhante ao de Bruck (2005) que observou a persistência do fungo *M. anisopliae* no solo por até 342 dias após a inoculação em solo de campo agrícola.

A inoculação dos fungos entomopatogênicos nas plantas de soja pode ser considerada uma nova estratégia de controle das principais pragas, como as lagartas desfolhadoras *C. includens* e *H. armigera*, além da mosca-branca. Os resultados aqui apresentados são inovadores, e abrem portas para explorar os fungos entomopatógenos não somente como biocontroladores de pragas através de pulverizações foliares, mas também como possíveis biocontroladores através da inoculação em sementes ou no solo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inoculação de fungos entomopatogênicos em plantas abre mais possibilidades para a exploração das interações dos mesmos, principalmente almejando usufruir da capacidade endofítica destes fungos no biocontrole de insetos.

Diante deste cenário surge a necessidade de investimentos em pesquisas que visem compreender os mecanismos da inoculação desses fungos em plantas, a persistência dos mesmos, os benefícios que o fungo poderá oferecer a planta hospedeira e principalmente entender a relação fungo-planta-inseto, buscando esclarecer a capacidade de interações como esta aplicadas ao controle biológico de insetos praga.

Os resultados desse estudo mostraram-se relevantes do ponto de vista da importância da cultura da soja para o Brasil e pelo uso dos principais fungos *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *I. fumosorosea* produzidos e comercializados em todo o país.

Estudos futuros serão necessários para compreensão dos mecanismos de repelência e mortalidade de pragas pela ação indireta dos fungos. Ensaio em campo, com diferentes variedades de soja, diferentes isolados e até diferentes concentrações dos fungos entomopatogênicos serão necessários para o planejamento e implementação de uma nova técnica de plantio com a inoculação de fungos e até mesmo a pulverização em campo visando alcançar o máximo de benefícios.

REFERÊNCIAS

- AGRESTI, A. **An Introduction to Categorical Data Analysis**. New York: John Wiley & Sons, Inc. Gainesville, second edition, 1996.
- AKELLO, J.; DUBOIS, T.; COYNE, D.; KYAMANYWA, S. Endophytic *Beauveria bassiana* in banana (*Musa* spp.) reduces banana weevil (*Cosmopolites sordidus*) fitness and damage. **Crop Protection**, Guildford, v. 27, n. 11, p. 1437-1441, 2008b.
- AKELLO, J.; DUBOIS, T.; COYNE, D.; KYAMANYWA, S. Effect of endophytic *Beauveria bassiana* on populations of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*, and their damage in tissue-cultured banana plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Wiley, 129, pp. 157-165, 2008a
- AKELLO, J.; SIKORA, R. Systemic acropetal influence of endophyte seed treatment on *Acyrtosiphon pisum* and *Aphis fabae* offspring development and reproductive fitness, **Biological Control**, Orlando, 61, pp. 215-221, 2012.
- AKUTSE K.S.; N.K. MANIANIA, K.K.M. FIABOE, J. VAN DEN BERG, S. EKESI. Endophytic colonization of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) by fungal pathogens and their effects on the life-history parameters of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) **Fungal Ecology**, Manchester, London, pp. 293-301, 2013.
- ALFORD, A.R.; HAMMOND JUNIOR, A.M. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybeans ecosystems as determined with looper-baited traps. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 75, n.4, p. 647-650, 1982.
- ALI, A.; CHOUDHURY, R. A.; AHMAD, Z.; RAHMAN, F.; KHAN, F. R.; AHMAD, S. K. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. **Journal of plant protection**, Tunisian, v.4, n. 1, p. 99-106, 2009.
- ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A. Controle biológico da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar com o fungo *Metarhizium anisopliae*. **Boletim técnico do instituto biológico**, São Paulo, p. 19, 2006.
- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, cap 11, p. 289-381, 1998.
- ALEXANDRE, T. M. **Estratégias para o manejo integrado da *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae, Plusiinae) em soja**. 103 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2010.
- ARNEMANN, J.A.; GUEDES, J.V.C.; STACKE, R.F.; MELO, A.A.; PERINI, C.R.; CURIOLLETTI, L.E. *Helicoverpa armigera* no outono/inverno. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, n. 182, p. 26-28, 2014.

- ARRUDA, G.P.; WARUMBY, J.F.; LYRA NETTO, A.M.C.; DE FRANÇA, G.E.; ARRUDA FILHO, G.P.; CAVALCANTI, E.C.L.B.; ALBUQUERQUE G.F.A. Levantamento da ocorrência de mosca branca *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) no Estado de Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17, Rio de Janeiro. **Anais...** Curitiba: Sociedade Brasileira de Entomologia, 1998, p.913.
- ÁVILA, C.J.; GRIGOLLI, J. F. J. **Pragas da soja e seu controle**. (Ed.). Tecnologia e produção: soja 2013/2014. Maracaju: Fundação MS. Disponível em: <<http://www.fundacaoms.org.br/tecnologia-producao-soja-2013-2014>>, 2014. Acesso em: 21 jan. 2017.
- ÁVILA, C. J.; VIVAN, L. M.; TOMQUELSKI, G. V. **Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013, 12 p.
- AZEVEDO, J.L. O uso dos fungos em biotecnologia, p.93-149. In.: SEREFINE, L.A.; BARROS, M.N.; AZEVEDO, J.L. (eds.) Biotecnologia: Avanços na agricultura e na agroindústria. Guaíba: **Livraria e Editora Agropecuária**, 2001. 433p.
- AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, W.L. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: GANGULI, B.N.; DESHMUKH, S.K. (Ed.). Fungi: multifaceted microbes. New Delhi: **Anamaya Publ.**, 2007. p. 189-207.
- BARK, Y.G.; LEE, D.G.; KIM, Y.H.; KANG, S.C. Antibiotic properties of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea*. **Journal Plant Pathology**, Korean, v. 12, p. 245–250, 1996.
- BARROS, H.B., M.M. DOS SANTOS, J.M. PELUZIO, R.N.C. ROCHA, R.R. DA SILVA & J.B. VENDRUSCO. Desfolha na produção de soja (*Glycine Max* ‘M-SOY 109’) cultivada no Cerrado, Gurupi-TO, Brasil. **Bioscience Journal**, 8: 5-10, 2002.
- BARTA, M. In planta bioassay on the effects of endophytic *Beauveria* strains against larvae of horse-chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella*), **Biological Control**, Orlando, Volume 121, Pages 88-98, 2018.
- BATISTA, A.S.; HIROSE, E.; SILVA, M.S. Desenvolvimento da lagarta *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de soja. Congresso brasileiro de soja, 7, Mercosoja, 2015, Florianópolis. Tecnologia e mercado global: perspectivas para soja: **Anais**. Londrina: Embrapa Soja, 2015.
- BATTA, Y.A. Efficacy of endophytic and applied *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) against larvae of *Plutella xylostella* L. (Yponomeutidae: Lepidoptera) infesting *Brassica napus* plants. **Crop Protection**, Guildford, 44: 128-134, 2013.
- BEHIE, S.W.; BIDOCHKA, M.J. Nutrient transfer in plant–fungal symbioses. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 19, n. 11, p. 734–740, 2014.

- BEHIE, S.W.; BIDOCHKA, M.J. Ubiquity of insect-derived nitrogen transfer to plants by endophytic insect-pathogenic fungi: an additional branch of the soil nitrogen cycle. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 80, n. 5, p. 1553-1560, 2014.
- BEHIE, S.W.; ZELISKO, P.M.; BIDOCHKA, M.J. Endophytic insect parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. **Science**, v. 336, n. 6088, p. 1576-1577, 2012.
- BEHIE, S.W.; JONES, S.J.; BIDOCHKA, M.J. Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. **Fungal Ecology**, Manchester, 13:112-119, 2015.
- BELLOWS JUNIOR, T. S.; PERRING, T. M.; GILL, R. J.; HEADRICK, D. H. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae) infesting North American agriculture. **Annals Entomological Society of America**, Palo Alto, v. 87, n. 2, p. 195-206, 1994.
- BERNARDI, O.; MALVESTITI, G. S.; DOURADO, P. M.; OLIVEIRA, W. S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G. U.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 × MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatilis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, Washington, D.C., v. 68, n.7, p. 1083-1091, 2012.
- BERRY, S.D.; FONDONG, V.N.; REY, C.; ROGAN, D.; FAUQUET, C.M.; BROWN, J.K. Molecular evidence for five distinct *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) geographic haplotypes associated with cassava plants in Sub Saharan Africa. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 97, n.4, p. 852-859, 2004.
- BIDOCHKA, M.J.; KASPERSKI, J.E.; WILD, G.A.M.; Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-northern habitats. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 76, n. 7, p. 1198–1204, 1998.
- BILLS, G.F.; POLISHOOK, J.D., Microfungi from *Carpinus caroliniana*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 69, n. 7, p. 1477–1482, 1991.
- BING, L.A.; LEWIS, L.C. Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. **Environ. Entomol**, Oxford, 20 (1991), pp. 1207-1211, 1991.
- BISWAS, C.; DEY, P.; SATPATHY, S.; SATYA, P.; MAHAPATRA, B.S. Endophytic colonization of white jute (*Corchorus capsularis*) plants by different *Beauveria bassiana* strains for managing stem weevil (*Apion corchori*). **Phytoparasitica**, Israel, 41, pp. 17-21, 2013.
- BOTTIMER, L. J. Notes on some Lepidoptera from eastern Texas. **Journal of Agricultural Research**, Washington, D.C., v. 33, p. 797-819, 1926.
- BRETZ, F., HOTHORN, T. & WESTFALL, P., **Multiple comparisons using R**, Chapman & Hall / CRC Press, New York, 2016.

- BROWN, J.K. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. **FAO Plant Protection Bulletin**, v.42, p.3-32, 1994.
- BROWN, J.K., D.R. FROHLICH & R.C. ROSELL. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex?. **Annu. Rev. Entomol**, Palo Alto, 40: 511-534, 1995.
- BRUCE, W.L.; LEWIS, L.C. Colonization of Corn, *Zea mays*, by the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, 66: 3468–3473, 2000.
- BRUCK, D. J. Ecology of *Metarhizium anisopliae* in soilless potting media and the rhizosphere: implications for pest management. **Biological Control**, Orlando, v. 32, p. 155-163, 2005.
- BRUCK, D.J. Fungal entomopathogens in the rhizosphere. **Biological Control**, Orlando, v .55, p. 103-112, 2010.
- BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; OLIVEIRA, J.R.G.; CAMILLO, M.F. Sem barreira. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 93, p. 12-15, 2007.
- BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J.R.P.; BYRNE, D.N.; BELLOWS JUNIOR, T.S. Whitefly biology. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 36, p. 431 457, 1991.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B. Lepidopteran larvae consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, Washington, D.C., v. 67, p. 170-174, 2011.
- CANERDAY, T.D.; ARANT, F.S. Biology of *Pseudoplusia includens* and notes on biology of *Trichoplusia ni*, *Rachiplusia ou* and *Autographa biloba*. **Journal of Economic Entomology**, v. 60, p. 870-871, 1967.
- CASTILLO-LOPEZ, D.; ZHU-SALZMAN, K.; EK-RAMOS, M.J.; SWORD, G.A. The entomopathogenic fungal endophytes *Purpureocillium lilacinum* (formerly *Paecilomyces lilacinus*) and *Beauveria bassiana* negatively affect cotton aphid reproduction under both greenhouse and field conditions. **Plos One**, San Francisco, 9 , p. e103891, 2014.
- CEPEA - **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Custos e gestão**, 2016 CEPEA-USP/CNA. Disponível em: [http://www.cepea.esalq.usp.br/ br/gestao-do-negocio-agropecuario.aspx](http://www.cepea.esalq.usp.br/br/gestao-do-negocio-agropecuario.aspx). Acesso em: 13 Dez. 2017.
- CHANG-CHI, C.; HENNEBERRY, T. J.; COHEN, A. *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae): host preference and factors affecting oviposition and feeding site preference. **Environmental Entomology**, College Park, v. 24, n. 2, p. 354-360, 1995.

- CHERRY, A.J.; BANITO, A.; DJEGUI, D.; LOMER, C. Suppression of the stem-borer *Sesamia calamistis* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize following seed dressing, topical application and stem injection with African isolates of *Beauveria bassiana* Int. **J. Pest Manage.**, 50 , pp. 67-73, 2004.
- CLIFTON, E. H., JARONSKI, S. T., COATES, B. S., HODGSON, E. W., & GASSMANN, A. J. Effects of endophytic entomopathogenic fungi on soybean aphid and identification of *Metarhizium* isolates from agricultural fields. **Plos One**, San Francisco, 13(3), e0194815. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0194815>, 2018.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Safras: Safra brasileira de grãos:2018,Disponível_em:<https://www.conab.gov.br/index.php/component/k2/item/download/16780_e7a4a52ee1db76ad1a8cfda9b2343c48> Acesso em: 08 abril 2018.
- CORDEIRO, G. M., DEMETRIO, C. G. B. & MORAL, R. A. **Modelos Generalizados e Extensões**, ESALQ-USP, Piracicaba, São Paulo,2013.
- CONOVER, W.J. **Practical Nonparametric Statistics**. Second Edition, New York: Wiley, 1980
- CUNNINGHAM, J. P.; ZALUCKI, M. P.; WEST, S. A. Learning in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): A new look at the behaviour and control of a polyphagous pest. **Bulletin of Entomological Research**, v. 89, n. 3, p. 201–207, 1999.
- CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; OLIVEIRA, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 1, p. 110-113, 2013a.
- CZEPAK, C. et al. Como manejas: táticas racionais, sustentáveis e integradas, adotadas em conjunto e de forma ampla são o caminho correto do complexo de lagartas *Heliothinae* o enfrentamento dos ataques sucessivos de *Helicoverpa armigera* em lavouras de soja, milho e algodão. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, n. 171, p. 6-10, 2013b.
- DEGRANDE, P.E.; VIVAN, L.M. Pragas da soja. **Boletim de pesquisa de soja da Fundação MT**, v.1, n.14, p.152-215, 2010.
- EICHELKRAUT, K.; CARDONA, C. Biología, cría, misal y aspectos ecológicos de La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), **Plaga Del frijol común**. Turrialba, v.39, n.1, p.55-62, 1989.
- EPPO - EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION.
Data sheets on quarantine organisms n° 110: *Helicoverpa armigera*. Paris: EPPO, 1981.
- FARIA, J.C.; OLIVEIRA, M.N.; YOKOYAMA, M. Resposta comparativa de genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) à inoculação com o vírus do mosaico dourado no estágio de plântulas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, n.4, p. 566-572, 1994.

- FANG, W.G.; ST. LEGER, R.J. Mrt, a gene unique to fungi, encodes an oligosaccharide transporter and facilitates rhizosphere competency in *Metarhizium robertsii*. **Plant Physiology**, Washington, v. 154, n. 3, p. 1549-1557, 2010.
- FIESP. Safra Mundial de soja 2016/17 - **10º Levantamento do USDA**. Disponível em: <http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-soja/attachment/boletim_soja_fevereiro2017/>. Data de acesso: 15 fev 2017.
- FITT, G. P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual review of entomology**, Palo Alto, v. 34, n. 1, p. 17-53, 1989.
- FOLSOM, J. W. Notes on little-known cotton insects. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 282-285, 1936.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002, 920p.
- MENDES, R.; AZEVEDO, J.L. Valor biotecnológico de fungos endofíticos isolados de plantas de interesse econômico. In: Costa-Maia L, Malosso E, Yano-Melo AM (eds) Micologia: avanços no conhecimento. **Brazilian Society Microbiology Publ.**, Recife, 2007. P. 129–140.
- GARCIA, J.E., POSADAS, J.B., PERTICARI, A., LECUONA, R.E. *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin promotes growth and has endophytic activity in tomato plants. **Adv. Biol. Res.**, Deira, Dubai, 5, pp. 22-27, 2011.
- GARRIDO-JURADO, I.; RESQUÍN-ROMERO, G.; AMARILLA, S.P.; RÍOS-MORENO, A.; CARRASCO, L.; QUESADA-MORAGA, E. Transient endophytic colonization of melon plants by entomopathogenic fungi after foliar application for the control of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). **J. Pest. Sci.**, 90, pp. 319-330, 2017.
- GAZZONI, D.L.; MOSCARDI, F. Effect of defoliation levels on recovery of leaf area, on yield and agronomic traits of soybeans. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33: 411-424, 1998.
- GOATER, B.; RONKAY, L.; FIBIGER, M. Noctuidae Europeae 10: Catocalinae and Plusiinae. Soro: **Entomological Press**, v. 10. 2003. 452 p.
- GOETTEL, M.S.; KOIKE, M.; KIM, J.J.; AIUCHI, D.; SHINYA, R.; BRODEUR, J. Potential of *Lecanicillium spp.* for management of insects, nematodes and plant diseases. **J. Invertebr. Pathol**, Amsterdam, 98, pp. 256-261, 2008.
- GOLO, P.S.; GARDNER, D.R.; GRILLEY, M.M.; TAKEMOTO, J.Y.; KRASNOFF, S.B. Production of destruxins from *Metarhizium spp.* fungi in artificial medium and in endophytically colonized cowpea plants. **Plos One**, San Francisco, 9 (8), p. e104946, 2014.

- GUEDES, J; STECCA, C; RODRIGUES, R; BIGOLIN, M. Nova dinâmica, Brasil, **Revista Cultivar**, consultada 21 fev 2017. Disponível em <http://www.grupocultivar.com.br/>, 2010.
- GUEDES, J. C. V. et al. Manejar ou perder. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, n. 176, p. 12-16, 2013.
- GUO, Y. Progress in the researches on migration regulatory of cotton bollworm and relationships between the pest and its host plants. **Acta Entomologica**, Sinica, v. 40, p. 1–6, 1997.
- GURULINGAPPA, P.; SWORD, G.A.; MURDOCH, G.; MCGEE, P.A. Colonization of crop plants by fungal entomopathogens and their effects on two insect pests when in planta. **Biological Control**, Orlando, v. 55, p. 34-41, 2010.
- HAJEK, A.E.; ST. LEGER, R.J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual Review of Entomology**, 39: 293-322, 1994.
- HAJEK, A.E. Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. **Adv. Microb. Ecol.** 15, 193–249, 1997.
- HENSLEY, S. D.; NEWSOM, L. D.; CHAPIN, J. Observations on the looper complex of the noctuid subfamily Plusiinae. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, Maryland. v. 57, n. 6, p. 1006- 1007, 1964.
- HERZOG, D.C. Sampling soybean looper on soybean. In: KOGAN, M.; HERZOG, D.C. Sampling methods in soybean entomology. **Springer-Verlag**, New York, p. 141-168, 1980.
- HESKETH, H.; ROY, H.E.; EILENBERG, J.; PELL, J.K.; HAILS, R.S. Challenges in modelling complexity of fungal entomopathogens in semi-natural populations of insects. **BioControl**, 55: 55–73, 2010.
- HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. Evolução e perspectiva de desempenho econômico associados com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, **Embrapa Soja**, Londrina, p. 47, 2010.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; OLIVEIRA, L.J.; MOSCARDI, F.; CORRÊA FERREIRA, B.S.; CORSO, I.C. Pragas que atacam plântulas, hastes e pecíolos da soja. Cap.3, p. 145-212, 2012 Soja: **Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília, DF; Embrapa, 859p, documentos, 319. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/download/Doc319_3ED.pdf>. Acesso em: 07 fev. 2017.
- HUMBER, R.A. Fungi Identification. In: **Manual of Techniques in Insect Pathology**. (Eds.): L.A. Lacey, Academic Press London, pp. 153-185, 1997.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. PAS - **Pesquisa Anual de Serviços**, 2017. [online] Disponível na internet via URL: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/>. Acesso em: 12 de Dezembro de 2017.

- JABER, L.R. Grapevine leaf tissue colonization by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* s.l. and its effect against downy mildew. **Biocontrol**, 60, pp. 103-112, 2015.
- JABER, L.R.; ENKERLI, J. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. **Biol. Control**, Orlando, 103, pp. 187-195, 2016.
- JABER, L.R.; SALEM, N.M. Endophytic colonisation of squash by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) for managing *Zucchini yellow mosaic* virus in cucurbits **Biocontrol Sci. Technol.**, 24, pp. 1096-1109, 2014.
- JABER, L.R.; ARAJ, S.E.; QASEM, J.R. Compatibility of endophytic fungal entomopathogens with plant extracts for the management of sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae), **Biological Control**, Orlando, Volume 117, Pages 164-171, 2018.
- JARONSKY, S.T. Soil ecology of the entomopathogenic Ascomycetes: A critical examination of what we (think) we know. In: Ekesi S. and Maniania, N. K (Eds). Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management. **Research Signpost**, Kerala India, pp. 91-144, 2007.
- JENSEN, R.L.; NEWSON, L.D.; GIBBENS, J. Soybean Looper; effect of adult nutrition on oviposition, mating frequency and longevity. **Journal of Economic Entomology**, v. 67, p. 467-476, 1974.
- KABALUK, J.T.; ERICSSON, J.D. Seed treatment increases yield of field corn when applied for wireworm control. **Agronomy Journal**, 99, pp. 1377-1381, 2007.
- KEYSER, C.A.; THORUP-KRISTENSEN, K.; MEYLING N.V. *Metarhizium* seed treatment mediates fungal dispersal via roots and induces infections in insects. **Fungal Ecology**, Manchester, 11:122-131, 2014.
- KHAN, A.L.; HAMAYUN, M; KHAN, S.A., KANG, S.; SHINWARI, Z.K.; KAMRAN, M.; REHMAN, S.; KIM, J.; LEE, I. 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, 2012.
- KOGAN, M. Dynamics of insect adaptations to soybean: Impact of integrated pest management. **Environmental Entomology**, v. 10, n. 3, p. 363-371, 1981.
- KRELL, V.; UNGER, S.; JAKOBS-SCHOENWANDT, D.; PATEL, A.V. Endophytic *Metarhizium brunneum* mitigates nutrient deficits in potato and improves plant productivity and vitality, **Fungal Ecology**, Manchester, Volume 34, Pages 43-49, 2018.
- LACEY, L.A.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, D.I.; FRUTOS, R.; BROWNBRIDGE, M.; GOETTEL, M.S. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **J. Invertebr. Pathol**, Amsterdam, 132, pp. 1-41, 2015.
- LEE, E.T. **Statistical Methods for Survival Data Analysis**. 2 ed., New York: John Wiley and Sons, 1992.

- LEE, S.-M.; YEO, W.-H.; JEE, H.-J.; SHIN, S.-C.; MOON, Y.-S. Effect of entomopathogenic fungi on growth of cucumber and *Rhizoctonia solani*. **Journal Forestry Science**, v. 62, p. 118–125, 1999.
- LEFORT, M.C.; MCKINNON, A.C.; NELSON, T.L. Glare Natural occurrence of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* as a vertically transmitted endophyte of *Pinus radiata* and its effect on above- and below-ground insect pests. **NZ Plant Prot.**, 69, pp. 68-77, 2016.
- LEWIS, J.E.; COSSENTINE, L.C. Cossentine Season long intraplant epizootics of entomopathogens, *Beauveria bassiana* and *Nosema pyrausta*, in a corn agroecosystem. **Entomophaga**, Ghent, 31, pp. 36-69, 1986.
- LIAO, X.; O'BRIEN, T.R.; FANG, W.; ST. LEGER R.J. The plant beneficial effects of *Metarhizium* species correlate with their association with roots. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, 98, pp. 7089-7096, 2014.
- LIMA, L. H. C.; CAMPOS, L.; QUEIROZ, P. R.; LAGO, W. N. M.; OLIVEIRA, M. R. V. **Identificação de populações de mosca branca *Bemisia spp.* (Hemiptera, Aleyrodidae) coletadas no Paraguai**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2002. 5p.
- LIMA, L. H. C.; CAMPOS, L.; QUEIROZ, P. R.; LAGO, W.N.M.; OLIVEIRA, M. R. V. **Estudos da variabilidade genética da mosca branca, *Bemisia tabaci* (Hemiptera, Aleyrodidae)** n. 510. Documentos. EMBRAPA: Brasília, 2003.
- LIU, Z. D.; LI, D. M.; GONG, P. Y.; WU, K. J. Life table studies of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), on different host plants. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 1570–1576, 2004.
- LOPEZ V.; VOS, J.; POLAR, P.; KRAUSS, U. Discovery learning about sustainable management of whitefly pests and whitefly-borne viruses. **International Centre for Tropical Agriculture (CIAT)**, v.1, n.1, p.12-37, 2008.
- 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*). **Biol. Control**, Orlando, 89, pp. 53-60, 2015.
- LOHSE, R.; JAKOBS-SCHONWANDT, D.; VIDAL, S.; PATEL, A.V. Evaluation of new fermentation and formulation strategies for a high endophytic establishment of *Beauveria bassiana* in oilseed rape plants, **Biological Control**, Orlando, Pages 26-36, Volume 88, 2015.
- LOURENÇÃO, A.L.; NAGAI, H. **Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no estado de São Paulo**. Bragantia 53: 53-59, 1994.
- MACEDO, I. C.; NOGUEIRA L. A. H. **Avaliação do biodiesel no Brasil**. Brasília: Núcleo de Assuntos Estratégicos da Presidência da República, 2005.

- MANTZOUKAS, S.; CHONDROGIANNIS, C.; GRAMMATIKOPOULOS, G. Effects of three endophytic entomopathogens on sweet sorghum and on the larvae of the stalk borer *Sesamia nonagrioides*. **Entomol. Exp. Appl.**, Wiley, 154, pp. 78-87, 2015.
- MAPA, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Projeções do Agronegócio: Brasil 2013/2014 a 2023/2024. Brasília: MAPA/ACS, 100 p., 2014.
- MARTINUZ, A.; SCHOUTEN, A.; MENJIVAR, R.D.; SIKORA, R.A. Effectiveness of systemic resistance toward *Aphis gossypii* (Aphididae) as induced by combined applications of the endophytes *Fusarium oxysporum* Fo162 and *Rhizobium etli* G12 **Biol. Control**, Orlando, 62, pp. 206-212, 2012.
- MATTHEWS, M. Heliothinae moths of Australia. A guide to pest bollworms and related noctuid groups. Melbourne: **CSIRO**, Canberra, 1999. 320 p.
- MDIC, Dados do Comércio Exterior. Rio de Janeiro: **Ministério do Desenvolvimento, da Indústria e Comércio Exterior**, 2017. Anual. Disponível em: <<http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/>>. Acesso em: Jan 2018, 2017.
- MEDO, J.; CAGAN, L. Factors affecting the occurrence of entomopathogenic fungi in soils of Slovakia as revealed using two methods. **Biological Control**, Orlando, 59: 200- 208, 2011.
- MENSAH, R. K. Supression of *Helicoverpa spp.* (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition by use of the natural enemy food supplement Envirofeast. **Australian Journal of Entomology**, Canberra, v. 35, n. 4, p. 323-329, nov. 1996.
- MESSIAS, C. L. Fungos e sua utilização para o controle de insetos de importância médica e agrícola. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, p. 57-59, 1989.
- MEYLING, N.V.; EILENBERG, J. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, 113: 336–341, 2006.
- MEYLING, N.V.; EILENBERG, J. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. **Biological Control**, Orlando, 43, 145-155, 2007.
- MITCHELL, E. R. Life history of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of the Georgia Entomological Society**, Helen, v. 2, n. 2, p. 53-57, 1967.
- MOSCARDI, F.; BUENO, A. de F.; SOSA-GOMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORREA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. SOJA: Manejo Integrado e Insetos e outros Artrópodes-Praga. 1. ed. Brasília: Embrapa, cap. 4, p. 213-334, 2012.

- MORAL-GARCIA, F. J. Analysis of the spatiotemporal distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in a tomato field using a stochastic approach. **Biosystems Engineering**, Oxford, v. 93, n. 3, p. 253-259, 2006.
- MORAL, R.; HINDE, J.; DEMETRIO, C. Half-normal plots and overdispersed models in r: The hnp package', **Journal of Statistical Software**, Innsbruck, Articles 81(10), 1–23, 2017
- MUTUNE, B.; EKESI, S.; NIASSE, S.; MATIRU, V.; BII, C.; MANIANIA, N.K. Fungal endophytes as promising tools for the management of bean stem maggot *Ophiomyia phaseoli* on beans *Phaseolus vulgaris*. **J. Pest. Sci.**, Washington, 89, pp. 993-1001, 2016.
- MUVEA, A.M.; MEYHOFER, R.; SUBRAMANIAN, S.; POEHLING, H.M.; EKESI, S.N.K. Colonization of onions by endophytic fungi and their impacts on the biology of *Thrips tabaci*. **Plos One**, San Francisco, 9, p. e108242, 2014.
- NASERI, B.; FATHIPOUR, Y.; MOHARRAMIPOUR, S.; HOSSEININAVEH, V. Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 17-26, 2011.
- OLIVEIRA, M. R. V.; HENNEBERRY, T. J.; ANDERSON, P. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection**, Guildford, v. 20, n.9, p. 709-723, 2001.
- OLIVEIRA, D.G.P.; PAULI, G.; MASCARIN, G.M.; DELALIBERA, I. A protocol for determination of conidial viability of the fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from commercial products. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 119, p. 44-52, 2015.
- OWNLEY, B.H.; GRIFFIN, M.R.; KLINGEMAN, W.E.; GWINN, K.D.; MOULTON, J.K.; PEREIRA, R.M. *Beauveria bassiana*: Endophytic colonization and plant disease control. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 98, n. 3, p. 267–270, 2008.
- OWNLEY, B.; GWINN, K.; VEJA, F. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. **Biological Control**, Orlando, v. 55, n. 1, p. 113-128, 2010.
- PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de Bioestatística**. São Paulo: Thomson, 2004.
- PANIZZI, A.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S. Dynamics in the insect fauna adaptation to soybean in the tropics. **Trend Entomol.** 1: 71-88, 1997.
- PARSA, S.; ORTIZ, V.; VEGA, F.E. Establishing Fungal Entomopathogens as Endophytes: Towards Endophytic Biological Control. **Journal of Visualized Experiments**, v. 74, p. 503-560, 2013.
- PARCIANELLO, G., J.A. COSTA, J.L.F. PIRES, L. RAMBO & K. SAGGIN. Tolerância da soja ao desfolhamento afetada pela redução do espaçamento entre fileiras. **Ciência Rural**, 34: 357-364, 2004.

- PAULSON, G. S.; BEARDSLEY, J. W. Whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae) egg pedicel insertion into host plant stomata. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 78, n. 4, p. 506-508, 1985.
- PAWAR, C. S.; BHATNAGAR, V. S.; JADHAV, D. R. *Heliothis* species and their natural enemies, with their potential for biological control. **Proc Indian Acad Sci**, Bengaluru, Anim. sci., v. 95, n. 6, p. 695-703, 1986.
- PELIZZA, S. A., MARIOTTINI, Y., RUSSO, L. M., VIANNA, M. F., SCORSETTI, A. C., & LANGE, C. E. *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) Introduced as an Endophyte in Corn Plants and Its Effects on Consumption, Reproductive Capacity, and Food Preference of *Dichroplus maculipennis* (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae). **Journal of Insect Science**, 17(2), 53. <http://doi.org/10.1093/jisesa/iex024>, 2017.
- PEÑA-PEÑA, A.J.; SANTILLÁN-GALICIA, M.T.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.A.W. Guzmán-Franco *Metarhizium pingshaense* applied as a seed treatment induces fungal infection in larvae of the white grub *Anomala cincta*. **J. Invertebr. Pathol.**, San Diego, 130, pp. 9-12, 2015.
- PERRING, T. M. The *Bemisia tabaci* species complex. **Crop Protection**, Guildford, v. 20, p. 725-737, 2001.
- PETERSON, A. Egg types among moths of the Noctuidae (Lepidoptera). **The Florida Entomologist**, v. 47, n. 2, p. 71-91, 1964.
- PINTO, A.S.; BOTELHO, P.S.M.; OLIVEIRA, H.N. **Guia ilustrado de pragas e inseto benéficos da cana-de-açúcar**. Piracicaba: Cap. 2, 2009, 160 p.
- POGUE, M. G. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *Helicoverpa zea* and *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 97, n. 6, p. 1222-1226, 2004.
- POWELL, W.A.; KLINGEMAN, W.E.; OWNLEY, B.H.; GWINN, K.D.; DEE, M.P.C. Flanagan Endophytic *Beauveria bassiana* in tomatoes yields mycosis in tomato fruitworm larvae. **HortScience**, 42, p. 933, 2007.
- QUESADA-MORAGA, E.; MUNOZ-LEDESMA, F.J.; SANTIAGO-ALVAREZ, C. Systematic protection of *Papaver somniferum* L. against *Iraella luteipes* (Hymenoptera: Cynipidae) by an endophytic strain of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). **Environmental Entomology**, College Park, v. 38, n. 3, p. 723-730, 2009.
- R CORE TEAM 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>, 2017.
- REED, W. *Heliothis armigera* (Hb.) (Noctuidae) in western Tanganyika: II. Ecology and natural and chemical control. **Bulletin of Entomological Research**, v. 56, n. 1, p. 127-140, 1965.

- REISENZEIN, H.; TIEFENBRUNNER, W. Growth inhibiting effect of different isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. To the plant parasitic fungi of the genera *Fusarium*, *Armillaria*, and *Rosellinia*. **Pflanzenschutzbericht**, v. 57, p. 15–24, 1997.
- RESQUÍN-ROMERO, G., GARRIDO-JURADO, D.C., RÍOS-MORENO, A., QUESADA-MORAGA, E. Transient endophytic colonizations of plants improve the outcome of foliar applications of mycoinsecticides against chewing insects. **J. Invertebr. Pathol.**, Amsterdam, 136, pp. 23-31, 2016.
- RIBEIRO, P.L.A.; COSTA, C.E. Desfolhamento em estádios de desenvolvimento da soja, cultivar BR 16, no rendimento de grãos. **Ciência Rural**, 30: 767-771. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782000000500004>, 2000.
- RÍOS-MORENO, A.; GARRIDO-JURADO, I.; RESQUÍN-ROMERO, G.; ARROYO-MANZANARES, N.; ARCE, L.; QUESADA-MORAGA, E. Destruxin A production by *Metarhizium brunneum* strains during transient endophytic colonization of *Solanum tuberosum*. **Biocontrol Sci. Technol.**, 26, pp. 1574-1585, 2016.
- ROMERO, G. R- ,GARRIDO-JURADO ,I., DELSO, C., RÍOS-MORENO, A., QUESADA-MORAGA, E. Transient endophytic colonizations of plants improve the outcome of foliar applications of mycoinsecticides against chewing insects, **Journal of Invertebrate Pathology**, Amsterdam, Volume 136, Pages 23-31, ISSN 0022-2011, 2016.
- RUSSO, M.L., PELIZZA, S.A., VIANNA, M.F., ALLEGRUCCI, N., CABELLO, M.N., TOLEDO, A.V., MOURELOS, C., SCORSETTI, A.C. Effect of endophytic entomopathogenic fungi on soybean *Glycine max* (L.) Merr. Growth and yield, **Journal of King Saud University**, Amsterdam, 2018.
- SALVADORI, J. R.; SUZANA, C. S. Saldo da *Helicoverpa* sp. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, n. 187, p. 26-28, 2014.
- SANTOS, W.J.; BARBOSA, C.A.S.; PEDROSA, M.B. **Estudo do comportamento da falsa-medideira e ou mede-palmo na cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) no Oeste da Bahia**, 2010 Disponível em: <http://circuloverde.com.br/art/safra_0809/algodao/relatoriofinalensaiosdeplusiasafra0809.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2018.
- SASAN, R.K.; BIDOCHKA, M.J. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 99, n. 1, p. 101-107, 2012.
- SASAN, R.K.; BIDOCHKA, M.J. Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. phaseoli. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 35, n. 3, p. 288-293, 2013.
- SIMMONS, A.M. Oviposition on vegetables by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae): temporal and leaf surface factor. **Environmental Entomology**, v.23, n.2, p.381-389, 1994.
- SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORSO,

- I.C.; OLIVEIRA, L.J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A.R.; BUENO, A. de F.; HIROSE, E. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Londrina: Embrapa-CNPSO, 2010. 90 p.
- SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Efeito de extratos aquosos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* biótipo B em tomateiro. **Bragantia**, v. 59, n. 2, p. 173-179, 2000.
- SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PAULA-MORAES, S. V.; YANO, S. A. C. **Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação do seu registro de ocorrência no Brasil**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 48, n. 6, p.689-692, 2013.
- ST. LEGER, R.J. *Metarhizium anisopliae* as a model for studying bioinsecticidal host pathogen interactions. **Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management**, Springer, p. 179-204, 2007.
- ST. LEGER, R.J. Studies on adaptations of *Metarhizium anisopliae* to life in the soil. **Journal of Invertebrate Pathology**, Amsterdam, 98 (3): 271-276, 2008.
- ST. LEGER, R.; WANG, J.C.; FANG, W. New perspectives on insect pathogens. **Fungal Biology Reviews**, Amsterdam, v. 25, n. 2, p. 84-88, 2011.
- SULLIVAN, M.; MOLET, T. CPHST pest datasheet for *Helicoverpa armigera*. Chicago: **USDA-APHIS-PPQ-CPHST**, Riverdale, 2014.
- SUNG, G.H.; HYWEL-JONES, N.L.; SUNG, J.-M.; LUANGSA-ARD, J.J.; SHRESTHA, B.; SPATAFORA, J.W. Phylogenetic classification of Cordyceps and the clavicipitaceous fungi. **Studies in Mycology**, New York, v. 57, p. 5–59, 2007.
- TAY, W. T.; SORIA, M. F.; WALSH, T.; THOMAZONI, D.; SILVIE, P.; BEHERE, G. T.; ANDERSON, C.; DOWNES, S. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 11, 2013.
- TEFERA, T.; VIDAL, S. Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Biological Control**, Orlando, v. 54, n. 5, p. 663-669, 2009.
- THOMAS, A.L.; J.A COSTA. Crescimento de plântulas de soja afetado pelo sombreamento dos cotilédones e suas reservas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 28: 925-929,1993 Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/3955/1246>, acesso em: 17 fev. 2017.
- TRICHILO, P.J.; MACK, T.P. Soybean leaf consumption by the soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) as a function of temperature, instar, and larval weight. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 82, p. 633-638, 1989.

- VÁZQUEZ, W.C. **Biologia comparada de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas naturais e artificiais e efeito de um vírus de poliedrose nuclear na sua mortalidade e no consumo da área foliar da soja.** 164f. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, Piracicaba, 1988.
- VEGA, F.E. Insect pathology and fungal endophytes. **Journal of Invertebrate Pathology**, Amsterdam, 98: 277-279, 2008.
- VEGA, F.E. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. **Fungal Ecology**, Manchester, 2:149–159, 2009
- VENDRAMIM, J. D.; SOUZA, A. P.; ONGARELLI, M. G. Comportamento de oviposição da mosca-branca *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 126-132, 2009.
- VIANA, J. G. A.; SILVEIRA, V. C. P. Análise econômica e custos de produção aplicados aos sistemas de produção de ovinos. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, XLVI, **Anais...** SOBER: Rio Branco, 2008.
- VIDAL, S.; JABER, L.R. Entomopathogenic fungi as endophytes: plant–endophyte–herbivore interactions and prospects for use in biological control. **Curr. Sci.**, Bengaluru, 109, pp. 46-54, 2015.
- VILLAS BÔAS, G. L.; FRANÇA, F. H.; ÁVILA, A. C.; BEZERRA, I. C. **Manejo Integrado da mosca-branca *Bemisia argentifolii*.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 1997, 12 p.
- WAGNER, B. L.; LEWIS, L. C. Colonization of Corn, *Zea mays*, by the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, 66(8), 3468–3473, 2000.
- WANG, N. C.; LI, Z. H. Studies on the biology of cotton bollworm (*Heliothis armigera* Hübner) and tobacco budworm (*Heliothis assulta* Quenee). **Journal of the Shandong Agricultural University**, Tai'an (China), v. 1-2, n. 1, p. 13-25, 1984.
- WANG, C.; ST. LEGER, R. The MAD 1 Adhesion of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blasopore production and virulence to insects and MAD2 Adhesion enables attachment to plants. **Eukaryotic Cell**, Washington, v. 6, n. 5, p. 808-816, 2007.
- WOLCOTT, G.N. Insectae Borinquenses. **Journal Agriculture University**, Puerto Rico, v. 20, p. 1- 627, 1936.
- WHITE, J.F.; BACON, C.W.; HYWEL-JONES, N.L.; SPATAFORA, J.W. Clavicipitalean Fungi: **Evolutionary Biology**, Chemistry, Biocontrol and Cultural Impacts. Marcel Dekker, New York, 2003.
- WYREBEK, M. Three sympatrically occurring species of *Metarhizium* show plant rhizosphere specificity. **Microbiology**, v. 157, p. 2904–2911, 2011.

ZALUCKI, M. P.; DAGLISH, G.; FIREMPONG, S.; TWINE, P. The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hübner) and *Heliothis punctigera* Wallengren (Lepidoptera, Noctuidae) in Australia - What do we know. **Australian Journal of Zoology**, Melbourne, v. 34, n. 6, p. 779–814, 1986.

ZIMMERMAN, G. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. **Pesticide Science**, Oxford, v. 37, n. 4, p. 375-379, 1993.

ZIMMERMAN, G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 18, n. 9, p. 865-901, 2008.