



RAMOM VASCONCELOS PEREIRA

**ÁCIDOS HÚMICOS E RIZOBACTÉRIAS COMO INDUTORES
DE RESISTÊNCIA A INSETOS PRAGAS DO FEIJOEIRO**

LAVRAS-MG

2020

RAMOM VASCONCELOS PEREIRA

**ÁCIDOS HÚMICOS E RIZOBACTÉRIAS COMO INDUTORES
DE RESISTÊNCIA A INSETOS PRAGAS DO FEIJOEIRO**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para obtenção do título de Mestre.

Prof^ª Dr^ª Maria Fernanda G. V. Peñaflores

Orientadora

Prof Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza

Prof^ª Dr^ª Joyce Dória Rodrigues

Coorientadores

LAVRAS-MG

2020

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

Pereira, Ramom Vasconcelos.

Ácidos húmicos e rizobactérias como indutores de resistência a insetos pragas do feijoeiro / Ramom Vasconcelos Pereira. - 2020.
53 p. : il.

Orientador(a): Maria Fernanda Gomes Villalba Peñafior.

Coorientador(a): Joyce Dória Rodrigues, Bruno Henrique Sardinha de Souza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Bioestimulantes. 2. Rizobactérias. 3. Ácido húmico. I. Peñafior, Maria Fernanda Gomes Villalba. II. Rodrigues, Joyce Dória. III. de Souza, Bruno Henrique Sardinha. IV. Título.

RAMOM VASCONCELOS PEREIRA

**ÁCIDOS HÚMICOS E RIZOBACTÉRIAS COMO INDUTORES DE RESISTÊNCIA
A INSETOS PRAGAS DO FEIJOEIRO**

**HUMIC ACIDS AND RHIZOBACTERIA AS RESISTANCE INDUCERS AGAINST
INSECT PEST OF BEANS**

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

APROVADA em 06 de março de 2020.
Dr. Adalvan Daniel Martins Universidade de Cornell
Dr. Diego Bastos Silva ESAL/USP
Dr^a Maria Fernanda G.V. Peñãflor UFLA

Prof^a Dr^a Maria Fernanda G. V. Peñãflor

Orientadora

Prof Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza

Prof^a Dr^a Joyce Dória Rodrigues

Coorientadores

LAVRAS-MG

2020

A minha mãe Maria de Fátima Pereira, meu irmão Charly Vasconcelos Pereira e a minha avó Sebastiana Luzia Pereira (in memoriam) por me mostrarem por meio de exemplos a importância de ser resiliente, pelo amor, carinho incondicional e sempre me apoiarem em minhas decisões

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia da UFLA pelos ensinamentos.

Ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 pela concessão da bolsa estudos.

À Profa. Dra. Maria Fernanda G. V. Peñafior, pela orientação, e por todos os ensinamentos.

À Profa. Dra. Joyce Dória Rodrigues, pela coorientação, atenção e suporte em todas as etapas.

A todos os membros da ACET por me receberem tão bem durante o intercâmbio e por todo suporte e ensinamentos, em especial Camila C Filgueiras e Denis S. Willett.

Ao Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Lavras, coordenado pela professora Dra. Fátima Maria de Souza Moreira, por ter cedido a rizobactéria CIAT 899 utilizada em todo trabalho.

Aos amigos do LEQIIP Bia, Fernanda, Lara, Lívia, Marvin, Patricia, Gabriel e Marina, por todos os mutirões realizados sempre com ânimo e alegria sempre dispostos a ajudar.

À Lara Sales, pela amizade que sempre me motivou, confiou e me ajudou antes do processo seletivo e durante todo mestrado.

Ao Marvin Pec, que nunca mediu esforços para oferecer um ombro e um cérebro amigo.

À Tatiane Barbosa, por ter dividido os desafios e ter feito essa etapa ter sido muito mais leve, cheia de risadas na casa de vegetação e no laboratório.

À Fernanda Moreira, por ser fonte de inspiração intelectual e emocional sempre me trazendo palavras de conforto e tranquilidade.

À toda turma Entomologia 2018-1 pelo companheirismo nas alegrias e dificuldades.

Em especial ao Wellington Donizet pela amizade ajuda com o grupo de estudos, sempre disposto a dividir o seu conhecido.

A Ana Paula, pela amizade e companheirismo.

Ao Dr. Adalvan Daniel Martins por toda amizade, ensinamentos e ajuda.

Ao Dr. Cleber Rodas por fornecer as sementes de feijão utilizadas em todo experimento e pelos ensinamentos para adubação.

À minha família pelo incentivo, por ser o meu porto seguro e o meu bem mais precioso.

RESUMO

Os sistemas agrícolas estão em constante evolução e sob ataque de pragas e doenças que resultam na perda da produtividade. A busca por métodos inovadores e alternativos ao controle químico é uma realidade cada vez mais crescente. Aplicável às táticas de manejo integrado de pragas, o uso de bioestimulantes de plantas é empregado a fim de melhorar as características agronômicas e induzir a resistência e tolerância, tornando-as menos suscetíveis a estresse bióticos e abióticos. Neste contexto, o presente trabalho investigou os efeitos da aplicação de rizobactérias promotoras de crescimento de planta (RPCP) e ácido húmico (AH), isoladas e em conjunto, na indução de resistência contra as principais pragas do feijoeiro, a lagarta-falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e a mosca-branca *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), um herbívoro desfolhador e outro sugador de seiva. Sementes de feijão comum cv. Pérola do tipo carioca foram inoculadas com *Rhizobium tropici* CIAT899 e o ácido húmico foi aplicado no solo por meio de “*drench*”. Para investigar os efeitos dos bioestimulantes das plantas tratadas com RPCP, AH e RPCP+AH sobre as duas pragas, ensaios com e sem chance de escolha foram realizados para avaliar o comportamento e biologia das duas pragas. Em ensaio com chance de escolha, houve maior número de visitas por adultos e de ovos de mosca-branca nas plantas tratadas com RPCP e RPCP+AH em relação às plantas controle (sem aplicação de bioestimulantes). No entanto, em teste sem chance de escolha, a viabilidade dos ovos de mosca-branca foi reduzida em 37% nas plantas tratadas com AH e a população total de ninfas foi reduzida entre 2,4, 1,7 e 1,6 vezes nos tratamentos AH, RPCP+AH e RPCP, respectivamente. Larvas de *C. includens* recém-eclodidas não discriminaram entre os tratamentos em teste com chance escolha. Já no ensaio sem chance de escolha, apesar do ganho de peso larval ter sido similar nos diferentes tratamentos, as larvas consumiram menores quantidades de plantas tratadas com RPCP e AH+RPCP em comparação com plantas controle. Esses resultados sugerem que o tratamento com AH ou RPCP melhoraram a resistência das plantas de feijão, principalmente contra *B. tabaci*. Além disso, a aplicação de RPCP promoveu um aumento na biomassa da parte aérea. No entanto, a biomassa radicular e o teor de clorofila A e B foram similares ao encontrado em plantas controle. Além de ser uma potencial ferramenta para ser incrementada ao manejo integrado de pragas no sistema de produção agrícola, o uso de bioestimulantes isolados, podem resultar na redução do uso de defensivos, adubação e, consequentemente, na redução do custo de produção. Ademais, ajudam a preservar a microbiota do solo, deixando o ecossistema do solo menos desequilibrado e também podem ser aplicados em cultivos convencionais e orgânicos.

Palavra-chave: Bioestimulantes. Rizobactérias. Ácido Húmico. Indução de resistência.

ABSTRACT

Agricultural systems are constantly evolving and under attack from pests and diseases that result in lost productivity. The search for innovative and alternative methods to chemical control is increasingly relevant. Applicable to integrated pest management tactics, plant biostimulants are used in order to improve agronomic characteristics and induce resistance and tolerance to pests in plants, making them less susceptible to biotic and abiotic stress. In this context, the present work investigated the effects of the application of plant growth promoting rhizobacteria (RPCP) and humic acid (HA), isolated and together, in the induction of resistance against the main pests of common bean, the false caterpillar (soybean looper) *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) and the whitefly *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), respectively a defoliating and a sap-sucking insect. Common bean seeds cv. Carioca type pearls were inoculated with *Rhizobium tropici* CIAT899 and humic acid was applied to the soil by drench. In order to investigate the behavior and biology of the two pests in response to plants treated with RPCP, AH and RPCP + AH, a choice and no-choice bioassays were performed. In the choice trial, there was a greater number of visits by adults and of whitefly eggs in plants treated with RPCP and RPCP + HA compared to control plants, without the application of biostimulants. However, in a no-choice trial, the viability of whitefly eggs was reduced by 37% in plants treated with HA, and the total population of nymphs was reduced 2.4, 1.7 and 1.6 times in the treatments AH, RPCP + AH and RPCP, respectively. Newly hatched *C. includens* larvae did not discriminate the treatments with the choice and no-choice trials. Although the larval weight gain was similar in the different treatments, the larvae consumed smaller amounts of plants treated with RPCP and AH + RPCP compared to control plants in the no-choice trial. These results suggest that treatment with AH or RPCP improved the resistance of bean plants, mainly against *B. tabaci*. In addition, the application of RPCP increased shoot biomass. However, root biomass and chlorophyll a and b content were similar to those found in control plants. Besides being a potential tool to be added to integrated pest management in the agricultural production system, the use of isolated biostimulants may result in reduction of pesticide application, fertilization and, consequently, a reduction in the cost of production, in addition to preserving soil microbiota leading to a more balanced ecosystem, being applicable in conventional and organic crops.

Keywords: Biostimulants. *Chrysodeixis includens*. *Bemisia tabaci*. Biotic stress

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	1
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REFERÊNCIAS	8
SEGUNDA PARTE: ARTIGO	13
1. RESUMO.....	14
2. ABSTRACT	15
3. INTRODUÇÃO.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1. Plantio e cultivo de <i>Phaseolus vulgaris</i>	19
4.2. Criação e manutenção de <i>Bemisia tabaci</i>	19
4.3. Criação e multiplicação de <i>Chrysodeixis includens</i>	20
4.4. <i>Rhizobium tropici</i> (Ciat 899).....	20
4.5. Ácidos Húmicos	20
4.6. Tratamentos	21
4.7. Ganho de peso de larvas recém-eclodidas de <i>C. includens</i>	21
4.8. Preferência alimentar de larvas recém-eclodidas de <i>C. includens</i>	21
4.9. Preferência hospedeira e de oviposição de <i>B. tabaci</i>	22
4.10. Desempenho de <i>B. tabaci</i> em diferentes tratamentos sem chance de escolha ...	22
4.11. Biomassa de plantas.....	22
4.12. Teor de clorofila A e B	23
4.13. Análise estatística	23
5. RESULTADOS	24
5.1. Desempenho de <i>C. includens</i>	24
5.2. Consumo de área foliar por <i>C. includens</i>	24
5.3. Preferência alimentar de <i>C. includens</i>	24
5.4. Preferência hospedeira de adultos de <i>B. tabaci</i>	24
5.5. Preferência hospedeira de <i>B. tabaci</i> para oviposição	25
5.6. Ovos viáveis de <i>B. tabaci</i> sem chance de escolha.....	25
5.7. Desempenho de ninfas de <i>B. tabaci</i>	25
5.8. Número de ovos de <i>B. tabaci</i> sem chance de escolha.....	25
5.9. Clorofila A e B	25

5.10. Biomassa da parte aérea	26
5.11. Biomassa das raízes	26
6. DISCUSSÃO	26
7. CONCLUSÃO	29
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1 Esquema representativo do sistema de estudo envolvendo a planta de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>), os insetos herbívoros <i>Bemisia tabaci</i> , <i>Chrysodeixis includens</i> e os bioestimulantes ácidos húmicos e rizobactérias.	7
---	---

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Experimentos de defesa direta de plantas de feijão tratadas com bioestimulantes. ...	36
Figura 2 Ganho de peso de lagartas <i>Chrysodeixis includens</i> após sete dias, alimentadas com plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).	37
Figura 3 Consumo de área foliar (%) de lagartas <i>Chrysodeixis includens</i> em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por ‘*’ diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.	37
Figura 4 Teste com quatro chances de escolha feitas por lagartas <i>Chrysodeixis includens</i> por plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).	38
Figura 5 Escolha hospedeira de <i>B. tabaci</i> por plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). As Médias seguidas por ‘***’ diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 1% de probabilidade.	38
Figura 6 Número de ovos de <i>Bemisia tabaci</i> por tratamento com chance de escolha por plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por ‘*’ e ‘***’ diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett com probabilidade de 1% e 0.1% respectivamente.	39
Figura 7 Número de ovos viáveis sem chance de escolha em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por ‘*’ e ‘***’ diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 5% e 0.1%, respectivamente de probabilidade.	39
Figura 8 Desempenho de ninfas de mosca branca em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por ‘*’ diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.....	40

Figura 9 Número de ovos depositados sem chance de escolha em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por ‘*’ diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.	40
Figura 10 Clorofila A mensurada em plantas de feijão controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).	41
Figura 11 Clorofila B mensuradas em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).	41
Figura 12 Biomassa da parte aérea de plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por ‘***’ diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 1% de probabilidade.	42
Figura 13 Biomassa das raízes de plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Exemplos do amplo uso de bactérias benéficas em diferentes culturas afetando a resposta comportamental de insetos de diferentes ordens. Laboratório (L), Campo (C)	4
---	---

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

As plantas estão constantemente sob ameaça em campo, seja por estresses abióticos ou pelo ataque de pragas e doenças, que podem influenciar diretamente sua produtividade (YOKOYAMA, 2002). A infestação por pragas pode resultar em uma série de danos à cultura, que compreende desde a redução da área foliar da parte aérea pela herbivoria até à disseminação de fungos e vírus, acarretando prejuízos irreversíveis à lavoura (SALGUERO, 1993). Entretanto, para lidar com a herbivoria e minimizar os subsequentes impactos causados, as plantas desenvolveram diversas adaptações que incluem mecanismos de defesas constitutivos e induzidos de natureza física e/ou química (MATTIACCI; DICKE; POSTHUMUS, 1995; TRUITT; WEI; PARÉ, 2004).

As defesas constitutivas são aquelas que estão presentes nos tecidos vegetais sem que haja a necessidade da ação de um herbívoro para sua expressão. Por exemplo, espinhos, acúleos, tricomas não glandulares, cerosidade, cristais de oxalato e tricomas não glandulares (ARIMURA; KOST; BOLAND, 2005; SCHOONHOVEN; VAN LOON; DICKE, 2005). Por outro lado, as defesas induzidas são ativadas após a herbivoria e podem afetar os herbívoros diretamente, por meio de metabólitos secundários tóxicos, e/ou indiretamente pela liberação de compostos orgânicos voláteis atrativos a predadores e parasitoides (MATTIACCI; DICKE; POSTHUMUS, 1995; TRUITT; WEI; PARÉ, 2004). A ativação dos mecanismos de defesa induzidos da planta acontece quando o dano mecânico da alimentação do herbívoro combinado com substâncias específicas presentes em sua saliva é reconhecido na membrana celular do tecido vegetal. Em seguida, uma série de rotas bioquímicas são desencadeadas, levando ao acúmulo dos principais fitohormônios relacionados às defesas das plantas contra herbivoria, como o ácido salicílico (AS), ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET) (KAPLAN et al., 2008; THOMMA, BART P, et al., 2001; DONG, X., 1998).

As defesas induzidas pelas plantas podem ser exploradas em estratégias de manejo de pragas através da aplicação de substâncias indutoras, que ativam as defesas induzidas sem que tenha ocorrido o dano da herbivoria. Essa indução pode ser realizada por meio de produtos sintéticos de natureza química, que ao serem empregados levam ao aumento da resistência de plantas a insetos (STOUT; ZEHNDER; BAUR, 2002). Esses produtos são capazes de ativar mecanismos pré-existentes, mas que se encontram latentes na planta (WALTERS HEIL, 2007). Por outro lado, em relação aos herbívoros, a indução de resistência da planta pode ser observada a partir de critérios de antibiose, quando ocorre um efeito negativo na biologia do inseto, ou

antixenose, quando altera seu comportamento durante sua seleção hospedeira. O efeito provocado por indutores, geralmente resultam na síntese de toxinas, compostos deterrentes e/ou repelentes aos herbívoros, e em modificações na emissão de compostos voláteis que aumentam o recrutamento de inimigos naturais dos herbívoros (JAMES, D. G., 2003, MALLINGER, et al., 2011; LEE, J.C., 2010., FILGUEIRAS et al., 2016). No entanto, cada indutor apresenta peculiaridades, e suas consequências bioquímicas e físicas produzidas nas plantas, bem como nas respostas comportamentais dos herbívoros (THALER, J. et al., 1999).

Em suma, uma diversidade de produtos sintéticos de natureza químicas podem ser utilizados como ferramenta para induzir o aumento da resistência de plantas a herbívoros. (STOUT; ZEHNDER; BAUR, 2002). Produtos classificados como bioestimulantes podem atuar como derivados e análogos do ácido jasmônico e ácido salicílico, que induzem a resistência contra fatores bióticos, mas ao mesmo tempo alteram outros processos fisiológicos, como a floração e senescência; não interferindo na capacidade da planta em absorver nutrientes (CREELMAN; MULLET, 1997).

Os bioestimulantes representados por substâncias ou microrganismos, atuam na resistência e tolerância dos genótipos cultivados por meio do estímulo de processos naturais, aumentando ou facilitando a absorção de nutrientes, a tolerância a estresses e a qualidade da cultura (EBIC, 2016). Em geral, os bioestimulantes interagem com processos sinalizadores da planta, reduzindo os efeitos negativos de estresses para a planta e, assim, favorecendo o alocamento energético para o crescimento e reprodução (BROWN & SAA, 2015).

Os inoculantes microbianos já são utilizados como biofertilizantes na agricultura por facilitar e melhorar a absorção dos nutrientes pelas plantas e por influenciar na morfogênese e desenvolvimento vegetal (KENNEDY et al., 2004). Dentre os microrganismos utilizados como bioestimulantes, os endossimbiontes mutualísticos do gênero *Rhizobium* e as rizobactérias promotoras de crescimento de planta (RPCP) são os mais relevantes (MARTINEZ-ROMERO, 2003). Esses microrganismos também podem modular respostas a estresse bióticos e abióticos, de forma interativa com a comunidade microbiana do solo e suprimir infecções por patógenos (BABALOLA, 2010; PIETERSE C et al., 2014; BHATTACHARYYA et al., 2012; GAIERO et al., 2013; PHILIPPOT et al., 2013; VACHERON et al., 2013; DU JARDIN., 2015). Além disso, as RPCPs podem atuar na resistência sistêmica induzida das plantas (ISR), no crescimento vegetal, fixação biológica de nitrogênio e produção de fitormônios (PIETERSE et al., 2001; BULGARELLI et al., 2013).

As RPCP podem induzir resistência sistêmica nas plantas após sua colonização no sistema radicular, o que melhora a capacidade da planta de se defender contra patógenos e herbívoros (ZAMIOUDIS et al., 2012). A ISR ou SIR, (*systemic induced resistance*) trata-se de uma pré ativação dos mecanismos de defesa da planta que promove a ativação das defesas de forma mais rápida e/ou vigorosa após um ataque, sendo vantajosa por apresentar um baixo custo energético (BALMER et al., 2015; MARTINEZ-MEDINA et al, 2016).

Os efeitos da ISR em resposta ao uso de RPCP já foram relatados em vários sistemas envolvendo plantas e insetos herbívoros (VAN OOSTEN et al. 2008; POZO et al. 2007; VAN LOON et. al. 1998). Entretanto, além de efeitos positivos também foram observados efeitos neutros ou negativos na aplicação de bactérias em diferentes culturas, como apresentados na tabela 1.

Outra classe de bioestimulantes pode ser utilizado a fim de melhorar as características de interesse agrônomo de plantas cultivadas, como é o caso das substâncias húmicas (SH). Essas substâncias podem ser derivadas da extração de matéria orgânica de turfas, solos vulcânicos, deposição de minerais, compostagem, vermicompostos e também pela ação metabólica dos microrganismos naturalmente encontrados na matéria orgânica do solo (DU JARDIN, 2015; MACCARTHY, 2001). Além de modificar as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (SILVA FILHO & SILVA, 2002), esses compostos podem alterar o metabolismo hormonal, acelerar o crescimento e desenvolvimento das plantas, promover alongamento radicular (BALDOTTO & BALDOTTO, 2014), aumento das taxas germinativas e incremento na biomassa (TREVISAN et al., 2011). Ademais, também podem modificar o perfil de metabólitos de defesas das plantas (BONG & SIKOROWSKI, 1991; SCHIAVON et al., 2010), o que promove maior resistência contra insetos mastigadores (YARDIM et al. 2006) e sugadores (RAZMJOU et al. 2011). As substâncias húmicas são classificadas em ácidos húmicos, que correspondem a fração hidrofóbica e ácidos fúlvicos, correlacionados a parte hidrofílica, embora ambos possuem conteúdo fenólico semelhantes. (BALDOTTO & BALDOTTO, 2014; RITCHIE, J. 2003).

Bactéria	Planta	Inseto	Efeito	Local	Referência
<i>Serratia marcesens</i>	Pepino	<i>Acalymma vittatum</i>	Reduziu a população	C	(ZEHNDER et al.,1997)
<i>Serratia marcesens</i>	Pepino	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	Reduziu a população	C	(ZEHNDER et al.,1997)
<i>Pseudomonas putida</i>	Pepino	<i>Acalymma vittatum</i>	Reduziu a população	C	(ZEHNDER et al.,1997)
<i>Pseudomonas putida</i>	Pepino	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	Reduziu a população	C	(ZEHNDER et al.,1997)
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Trevo branco	<i>Spodoptera littoralis</i>	Aumentou ganho de peso da lagarta	C	(KEMPEL et al.,2009)
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Trevo branco	<i>Myzys persicae</i>	Aumentou a população	C	(KEMPEL et al., 2009)
<i>Bacillus spp</i>	Pimentão	<i>Myzus persicae</i>	Sem efeito na densidade de da praga e inimigo natural	C	(BOUTARD-HUNT et al., 2009)
<i>Bacillus subtilis</i>	Tomate	<i>Bemisia tabaci</i>	Reduziu o número de adultos emergentes	L	(VALENZUELA-SOTO et al., 2009)
<i>Azospirillum brasilense</i>	Milho	<i>Diabrotica speciosa</i>	Reduziu o ganho de peso das larvas	L	(SANTOS et al., 2014)
<i>Bacillus pumillus</i>	Milho	<i>H. bacteriophora</i>	Recrutou inimigo natural	L	(DISI et al., 2019).
<i>Bacillus pumilus</i>	Milho	<i>Ostrinia nubilalis</i>	Repeliu a escolha hosp para oviposição	L	(DISI et al., 2018)
<i>Bacillus pumilus</i>	Milho	<i>Diabrotica v. virgifera</i>	Repeliu larva e menor ganho de peso de larvas	L	(DISI et al., 2018)
<i>Kosakonia radicincitans</i>	Arabidopsis	<i>Brevicoryne brassicae</i>	Reduziu o número de insetos alimentando	L	(Brock et al., 2018)
<i>Kosakonia radicincitans</i>	Arabidopsis	<i>Myzus persicae</i>	Reduziu o número de insetos alimentando	L	(Brock et al., 2018)
<i>Kosakonia radicincitans</i>	Arabidopsis	<i>Spodoptera exigua</i>	Reduziu o ganho de peso comparado ao controle	L	(Brock et al., 2018)
<i>Kosakonia radicincitans</i>	Arabidopsis	<i>Pieris brassicae</i>	Não teve efeito na praga	L	(Brock et al., 2018)

Tabela 1 Exemplos do amplo uso de bactérias benéficas em diferentes culturas afetando a resposta comportamental de insetos de diferentes ordens. Laboratório (L), Campo (C)

O excessivo manejo do solo realizado por práticas de cultivos inadequadas, resultou em diminuição do seu material húmico (NOVOTNY et al., 1999, SHEPHERD et al., 2001). Entretanto, alguns trabalhos mostram os efeitos benéficos da aplicação exógena das substâncias húmicas, o que melhora de forma indireta a fertilidade do solo e facilita as suas interações com a microbiota (grupo de microorganismos que vivem naquele ambiente). Diante disso, cresce o interesse da aplicação de compostos como SH no solo, a fim de diminuir os efeitos tendenciosos de práticas agrícolas (PICCOLO et al. 1997; QUILTY et al. 2011).

O uso combinado de dois bioestimulantes pode ter um efeito sinérgico nas plantas, tornando-as mais resistentes do que quando tratadas com apenas um único bioestimulante (AGUIAR et al., 2018). A aplicação de ácidos húmicos estimula nas plantas a produção de pelos secundários no seu sistema radicular bem como a formação de raízes adventícias. Esse efeito proporciona um aumento da aderência de microrganismos nessas estruturas tornando o potencial inoculativo por rizobactérias maior e mais eficiente, visto que é nessa região que as bactérias colonizam e se associam com as plantas (FRANKENBERGER JR W. et al.,1995, OLIVARES, F.L., et al. 2017).

Dentre os diversos benefícios adquiridos com o uso de bioestimulantes, isolados ou em conjunto, existe um grande potencial para aplicação na produção agrícola. Além de poderem resultar na redução do uso de defensivos e adubação, o que leva a conseqüente redução no custo da produção, também permitem a preservação da microbiota do solo, proporcionando maior equilíbrio ao ecossistema. Além de apresentar inúmeras vantagens para o desenvolvimento de culturas agrícolas, o uso de bioestimulantes é perfeitamente aceitável na produção orgânica.

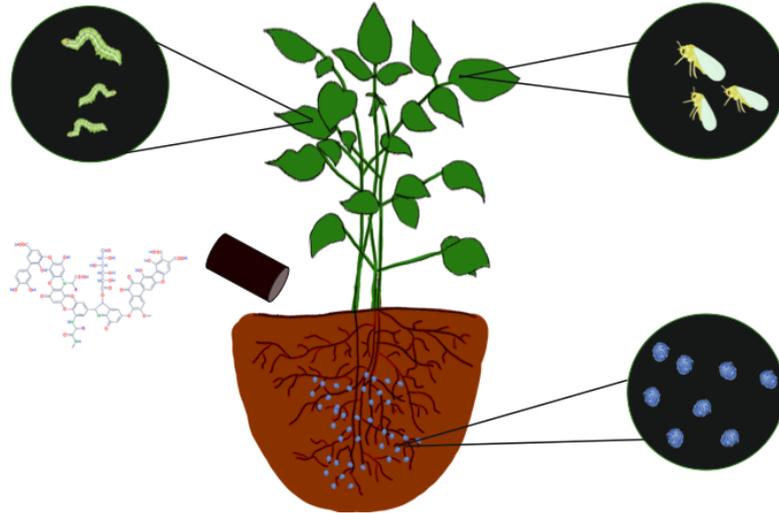
O feijoeiro, apresenta grande potencial do uso de bioestimulantes para a otimização do cultivo, pois é uma das culturas de grande importância na América Latina, seja de forma comercial ou para subsistência, pelo seu valor econômico e social, além de ser uma das principais fontes de proteína e energia mais consumida mundialmente (OLIVEIRA, 2005, PETRY & HURREL, 2015). As plantas de feijão, assim como outras leguminosas possuem uma associação simbiótica com as bactérias fixadoras de nitrogênio que estão presentes na microfauna do solo, transformando o nitrogênio atmosférico em uma forma prontamente disponível para a absorção pelas plantas. Essa associação promove a formação de nódulos que fixam nitrogênio atmosférico, incrementando os processos fisiológicos da planta (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

No caso das cultivares agrícolas para produção de alimentos, as plantas são frequentemente suscetíveis aos herbívoros em termos de defesas diretas e indiretas (ARAÚJO et al., 2013). Os processos de domesticação e melhoramento selecionaram genótipos mais produtivos em detrimento de outras características da planta, como a capacidade de defesa contra insetos. Como consequência, os produtores fazem o uso intensivo de químicos que atuam no controle de pragas e patógenos, acentuando o desequilíbrio do agroecossistema (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996).

Entre as pragas com potencial de causar dano econômico em lavouras de feijão, destaca-se a lagarta-falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), que provoca severa desfolha, deixando a folha com aspecto rendilhado. Até o ano de 2003, *C. includens* era considerada uma praga secundária e controlada biologicamente pela ação de parasitoides, predadores e fungos entomopatogênicos (SOSA-GOMEZ et al., 2003). No entanto, com a disseminação do fitopatógeno da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sidow) nas lavouras de soja (*Glycine max* L.), fungicidas foram intensivamente empregados no controle do fungo, o que acarretou na diminuição da população de fungos entomopatogênicos e inimigos naturais que suprimiam *C. includens* (SOSA-GOMEZ et al., 2006). Além de *C. includens*, infestações de mosca-branca *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) são frequentes em feijão e causam danos inestimáveis de forma direta, por meio da sucção de seiva pelos imaturos e adultos que pode resultar no definhamento da planta (INBAR & GERLING, 2008), e indireta em virtude da deposição de fumagina sobre a superfície da folha, que reduz a capacidade fotossintética da planta (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; CAMERON et al., 2013) e da transmissão do vírus mosaico-dourado-do-feijoeiro (BGMV).

Nesse sentido, a associação dos ácidos húmicos e as RPCP em uma leguminosa, como o feijão, pode atenuar os efeitos negativos do ataque das pragas sobre a produção. Além de aumentar a resistência direta de plantas de feijão contra *B. tabaci* ou *C. includens*, duas pragas com modos de alimentação diferentes.

Ilustração 1 Esquema representativo do sistema de estudo envolvendo a planta de feijão (*Phaseolus vulgaris*), os insetos herbívoros *Bemisia tabaci*, *Chrysodeixis includens* e os bioestimulantes ácidos húmicos e rizobactérias.



2 REFERÊNCIAS

- AGUIAR, N. O. et al. Changes in metabolic profiling of sugarcane leaves induced by endophytic diazotrophic bacteria and humic acids. **PeerJ**, v. 6, p. e5445, 2018.
- ARAUJO, A. V. de et al. Agronomic performance of andrace and hybrid maize varieties cultivated under different management systems. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 44, n. 4, p. 885-892, 2013.
- ARIMURA, G.; KOST, C.; BOLAND, W. Herbivore-induced, indirect plant defences. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1734, n. 2, p. 91-111, 2005.
- BABALOLA, O. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnology letters**, 32(11), 1559-1570, 2010.
- BALDOTTO, M. & BALDOTTO, L. Ácidos húmicos. **Revista Ceres**, 61, 856-881, 2014.
- BALMER, A. et al. "The 'prime-ome': towards a holistic approach to priming." **Trends in plant science** v 20, no. 7, p. 443-452, 2015.
- BERGAMIN FILHO, A., & AMORIM, L. Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico, 1996.
- BONG, C. F. J.; SIKOROWSKI, P. P. Effects of cytoplasmic polyhedrosis virus and bacterial contamination on growth and development of the corn earworm, *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 57, n. 3, p. 406-412, 1991.
- BOUTARD-HUNT, C., SMART, C. D., THALER, J., & NAULT, B. A. Impact of plant growth-promoting rhizobacteria and natural enemies on *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) infestations in pepper. **Journal of economic entomology**, 102(6), 2183-2191, 2009.
- BHATTACHARYYA, P. N., & JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 28(4), 1327-1350, 2012.
- BROWN, P.; SAA, S. Biostimulants in agriculture. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 671, 2015.
- BULGARELLI, D. et al. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual review of plant biology**, v. 64, p. 807-838, 2013.
- BROCK, A. et al. Plant growth-promoting bacteria *Kosakonia radicincitans* mediate anti-herbivore defense in *Arabidopsis thaliana*. **Planta** 248.6 p. 1383-1392, 2018.
- CAMERON, R. et al. Use of fluorescence, a novel technique to determine reduction in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) nymph feeding when exposed to Benevia and other insecticides. **Journal of economic entomology**, v. 106, n. 2, p. 597-603, 2013.

CREELMAN, R. A.; MULLET, J. E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 48, p. 355-381, 1997.

DISI, J. et al. A soil bacterium can shape belowground interactions between maize, herbivores and entomopathogenic nematodes. **Plant and Soil**, 437(1-2), 83-92, 2019.

DISI, J. O., KLOEPPER, J. W., & FADAMIRO, H. Y. Seed treatment of maize with *Bacillus pumilus* strain INR-7 affects host location and feeding by Western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*. **Journal of pest science**, 91(2), 515-522, 2018.

DONG, X. SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants. **Current opinion in plant biology**, 1(4), 316-323, 1998.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, 196, 3-14, 2015.

EBIC - European Biostimulants Industry Council. **Towards an Optimal Regulatory Framework for Biostimulants**. V.5 Acessado em 01/03/2020, 2016.

FILGUEIRAS C. et al. Stimulation of the salicylic acid pathway aboveground recruits entomopathogenic nematodes belowground. **PloS one**, 11(5), 2016.

FILGUEIRAS C. et al. Eliciting maize defense pathways aboveground attracts belowground biocontrol agents. **Scientific reports**, 6, 2016.

FRANKENBERGER JR. & MUHAMMAD, A. Phytohormones in soils: microbial production and function. Marcel Dekker Inc, 1995.

GAIERO J. et al. Inside the root microbiome: bacterial root endophytes and plant growth promotion. **American journal of botany** 100.9 p.1738-1750, 2013.

HOFFMANN-CAMPO, C. B. et al. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa soja, 2000.

INBAR, M; GERLING, D. Plant-mediated interactions between whiteflies, herbivores, and natural enemies. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 431-448, 2008.

JAMES, D. G. Field evaluation of herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects: methyl salicylate and the green lacewing, *Chrysopa nigricornis*. **Journal of chemical ecology**, 29(7), 1601-1609, 2003.

KAPLAN, I. et al. Constitutive and induced defenses to herbivory in above-and belowground plant tissues. **Ecology**, v. 89, n. 2, p. 392-406, 2008.

KEMPEL, A., BRANDL, R., & SCHÄDLER, M. Symbiotic soil microorganisms as players in aboveground plant-herbivore interactions-the role of rhizobia. **Oikos**, 118(4), 634-640, 2009.

- KENNEDY, I. R., CHOUDHURY, A. T. M. A., & KECSKÉS, M. L. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? **Soil Biology and Biochemistry**, 36(8), 1229-1244, 2004.
- LEE, J. C. Effect of methyl salicylate-based lures on beneficial and pest arthropods in strawberry. **Environmental Entomology**, 39(2), 653-660, 2010.
- MACCARTHY, P. The principles of humic substances. **Soil Science**, 166(11), 738-751.1588, 2001.
- MALLINGER, R. E., HOGG, D. B., & GRATTON, C. Methyl salicylate attracts natural enemies and reduces populations of soybean aphids (Hemiptera: Aphididae) in soybean agroecosystems. **Journal of economic entomology**, 104(1), 115-124, 2011.
- MARTINEZ-MEDINA. A. et al. Recognizing plant defense priming. **Trends Plant Science**. v, 21, n 10, p. 818-822, 2016.
- MARTINEZ-ROMERO, E. Diversity of Rhizobium-Phaseolus vulgaris symbiosis: overview and perspectives. **Plant and Soil**, v.252, n.1, p.11-23, 2003.
- MATTIACCI, L.; DICKE, M; POSTHUMUS, M. A. beta-Glucosidase: an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 6, p. 2036-2040, 1995.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2ed. Lavras: UFLA, p. 729, 2006.
- NOVOTNY, E. H., et al. Soil management system effects on size fractionated humic substances. **Geoderma** 92.1-2, p. 87-109, 1999.
- OLIVARES, F. et al. Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. **Chemical and biological technologies in agriculture** 4.1 p. 30, 2017.
- OLIVEIRA, S. H. F. Manejo do mofo branco. **Revista DBO Agrotecnologia**, v. 2, n. 4, p. 6-7, 2005.
- PETRY, N. et al. The potential of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) as a vehicle for iron biofortification. **Nutrients** 7.2 p. 1144-1173, 2015.
- PICCOLO, A., & MBAGWU, J. S. C. Exogenous humic substances as conditioners for the rehabilitation of degraded soils. **Agro Food Industry Hi Tech**, 8, 2-5, 1997.
- PIETERSE, C. M. J. et al. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signalling and expression. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, n. 1, p. 51-61, 2001.
- PIETERSE, CORNÉ MJ, et al. Induced systemic resistance by beneficial microbes. **Annual review of phytopathology** 52 p. 347-375, 2014

POZO, M. J. & AZCÓN-AGUILAR, C. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. **Current opinion in plant biology**, 10(4), 393-398, 2007.

PHILIPPOT, L. et al. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews Microbiology** 11.11 (2013): 789-799, 2013.

QUILTY, J. R & CATTLE, S. R. Use and understanding of organic amendments in Australian agriculture: a review. **Soil Research**, 49(1), 1-26, 2011.

RAZMJOU, J et al. Effect of vermicompost and cucumber cultivar on population growth attributes of the melon aphid (Hemiptera: Aphididae). **Journal of economic entomology** 104.4 p.1379-1383, 2011.

RITCHIE, J. D., & PERDUE, E. M. Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, 67(1), 85-96, 2003.

SANTOS, F. et al. A novel interaction between plant-beneficial rhizobacteria and roots: colonization induces corn resistance against the root herbivore *Diabrotica speciosa*. **PLoS one**, 9(11), 2014.

SALGUERO, V. Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. Las moscas blancas (Homóptera, Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. **Memorias del Taller Centroamericano. y del Caribe sobre Moscas Blancas. Turrialba**, p. 17-19, 1992.

SCHIAVON, M. et al. High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (*Zea mays* L.). **Journal of chemical ecology** 36.6 p. 662-669, 2010.

SHEPHERD, T. et al. Tillage-induced changes to soil structure and organic carbon fractions in New Zealand soils. **Soil Research**, 39(3), 465-489, 2001.

SILVA F. A.V. da; SILVA, M.I.V. da. Importância das substâncias húmicas para a agricultura. **Anais do II Emepa-Simpósio Nacional sobre as culturas do Inhame e do Taro**, 2002.

SCHOONHOVEN, L. S. M. et. al. **Insect-plant biology**. Oxford University Press on Demand, p 421, 2005.

SOSA-GÓMEZ, D. R. et al. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 287-291, 2003.

SOSA-GÓMEZ, D. R. Seletividade de agroquímicos para fungos entomopatogênicos. **Embrapa Soja-Outras publicações científicas (ALICE)**, 2005.

STOUT, M. J.; ZEHNDER, G. W.; BAUR, M. E. Potential for the use of elicitors of plant resistance in arthropod management programs. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America**, v. 51, n. 4, p. 222-235, 2002.

THALER, J. et al. Trade-offs in plant defense against pathogens and herbivores: a field demonstration of chemical elicitors of induced resistance. **Journal of Chemical Ecology** 25.7 p. 1597-1609, 1999.

THOMMA, B. P., PENNINCKX, I. A., CAMMUE, B. P., & BROEKAERT, W. F. The complexity of disease signaling in Arabidopsis. **Current opinion in immunology**, 13(1), 63-68, 2001.

TRUITT, C. L.; WEI, H.; PARÉ, P. W. A plasma membrane protein from Zea mays binds with the herbivore elicitor volicitin. **The Plant Cell**, v. 16, n. 2, p. 523-532, 2004.

TREVISAN, S. et al. Humic substances affect Arabidopsis physiology by altering the expression of genes involved in primary metabolism, growth and development. **Environmental and Experimental Botany** 74 p. 45-55, 2011.

VACHERON, J. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in plant science**, v. 4, p. 356, 2013.

VALENZUELA-SOTO, et al. Inoculation of tomato plants (*Solanum lycopersicum*) with growth-promoting *Bacillus subtilis* retards whitefly *Bemisia tabaci* development. **Planta**, 231(2), 397, 2010.

VAN OOSTEN & VIVIAN R. Differential effectiveness of microbially induced resistance against herbivorous insects in Arabidopsis. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 21.7 p. 919-930, 2008.

VAN LOON, L. et al. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual review of phytopathology**, 36(1), 453-483, 1998.

WALTERS, D.; HEIL, M. Costs and trade-offs associated with induced resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 71, n. 1-3, p. 3-17, 2007.

YARDIM, E. N. et al. Suppression of tomato hornworm (*Manduca quinquemaculata*) and cucumber beetles (*Acalymma vittatum* and *Diabrotica undecimpunctata*) populations and damage by vermicomposts. **Pedobiologia**, v. 50, n. 1, p. 23-29, 2006.

YOKOYAMA, L. P. Tendências de mercado e alternativas de comercialização do feijão. **Embrapa Arroz e Feijão**, 2002.

ZAMIOUDIS, C. & PIETERSE, C. M. Modulation of host immunity by beneficial microbes. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 25(2), 139-150, 2012.

ZEHNDER G. et al. Insect feeding on cucumber mediated by rhizobacteria-induced plant resistance. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 83, no. 1 p. 81-85, 1997.

ZEHNDER, G., KLOPPER, J., YAO, C. & WEI, G. Induction of systemic resistance in cucumber against cucumber beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) by plant growth-promoting rhizobacteria. **Journal of Economic Entomology**, 90(2), 391-396, 1997.

SEGUNDA PARTE: ARTIGO

ÁCIDOS HÚMICOS E RIZOBACTÉRIAS COMO INDUTORES DE RESISTÊNCIA A INSETOS PRAGAS DO FEIJOEIRO

Ramom Vasconcelos Pereira, Tatiane C. Cândido Barbosa, Marvin Mateo Pec Hernandez, Denis S. Willett, Camila C. Filgueiras, Joyce Rodrigues Soares, Bruno H. Sardinha de Souza, Maria Fernanda G. V. Peñaflores

Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil,
Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000

Autor correspondente: Ramom Vasconcelos Pereira

Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil,
Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000

E-mail: ramomvasconcelos@outlook.com.br

Esse manuscrito será traduzido para a língua inglesa e formatado de acordo com as normas do periódico Pest Management Science

1. RESUMO

Bioestimulantes de plantas são empregados a fim de melhorar as características agronômicas, além de atuarem como indutores de resistência e tolerância a estresse bióticos e abióticos, alterando o metabolismo da planta, tornando as menos suscetíveis. Neste contexto, o presente trabalho investigou os efeitos da aplicação de rizobactérias promotoras de crescimento de planta (RPCP) e/ou ácido húmico (AH) na indução de resistência contra as principais pragas do feijoeiro, a lagarta-falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e a mosca-branca, *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), sendo uma mastigadora e o outra sugadora. Plantas de feijão tratadas com RPCP *Rhizobium tropici* CIAT899 isolado e combinado com AH resultou em maior atratividade de adultos de mosca-branca e maior número de ovos em teste com chance de escolha. Já em teste sem chance de escolha, a viabilidade dos ovos foi reduzida em 37% em plantas tratadas com AH e a população de ninfas totais apresentou um decréscimo de 2.39, 1.77 e 1.60 vezes nos tratamentos com AH, RPCP+AH e RPCP, respectivamente, em relação ao controle. Já o inseto mastigador lagarta-falsa-medideira não foi capaz de diferir entre plantas dos tratamentos e apresentou ganho de peso similar em teste de desempenho. No entanto, houve redução na quantidade de tecido foliar consumida em plantas inoculadas com RPCP e AH+RPCP, sendo 1.67 e 1.10 vezes menor em comparação a plantas controle. Foi observado incremento na biomassa das folhas de plantas inoculadas com RPCP. Porém, características como o peso seco das raízes e teor de clorofila A e B não diferiram entre os tratamentos. Esses resultados sugerem que o tratamento com AH e/ou RPCP melhoraram a defesa induzida das plantas de feijão contra as pragas.

Palavra-chave: Bioestimulantes. Rizobactérias. Ácido Húmico. Indução de resistência.

2. ABSTRACT

Plant biostimulants are used to improve agronomic characteristics, in addition to acting as inductors of resistance and tolerance, altering the metabolism of the plant making them less susceptible to biotic and abiotic stress. In this context, the present work investigated the effects of the application of plant growth-promoting rhizobacteria (RPCP) and/or humic acid (HA) in the induction of resistance against the main pests of the common bean, the false-caterpillar (soybean looper) *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) and the whitefly, *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), being chewing and sucking insects, respectively. Bean plants treated with RPCP *Rhizobium tropici* CIAT899 isolated and combined with HA resulted in a higher attractiveness of whitefly adults and a greater number of eggs in a choice trail. In a no-choice assay, the viability of eggs was reduced by 37% in plants treated with HA, and the population of total nymphs decreased 2.39, 1.77 and 1.60 times in treatments with HA, RPCP + AH and RPCP, respectively, in relation to the control. The chewing insect, the soybean looper, did not differ between treatment and showed similar weight gain in the performance tests. However, there was a reduction in the amount of leaf tissue consumed in plants inoculated with RPCP and AH + RPCP, being 1.67 and 1.10 times lower compared to control plants. An increase in the biomass of the leaves of plants inoculated with RPCP was observed. However, characteristics such as dry root weight and chlorophyll content a and b did not differ between treatments. These results suggest that treatment with HA and/or RPCP improved the induced defense of bean plants against pests.

Keywords: *Rhizobium tropici*. Soybean looper. Whitefly. *Phaseolus vulgaris*.

3. INTRODUÇÃO

Bioestimulantes de plantas são substâncias ou microrganismos que são aplicados nas plantas com o objetivo de melhorar a eficiência nutricional (absorção de nutrientes, desenvolvimento radicular, transporte), características relacionadas à qualidade da cultura (valor nutricional, conteúdo de proteínas nos grãos, tempo de prateleira) e tolerância a estresses abióticos (estresse hídrico, salino, metais pesados) ¹. Há diversas substâncias promissoras que atuam como bioestimulantes descritas na literatura e comercializadas, como ácidos húmicos, fúlvicos e extrato de algas marinhas ²⁻⁴. Além dessas substâncias, os microrganismos benéficos que interagem com as plantas, como micorrizas, fungos e bactérias endofíticas e da rizosfera, são igualmente promissores como bioestimulantes ⁵.

Em geral, os bioestimulantes interagem com processos sinalizadores da planta, reduzindo os efeitos negativos de estresses para a planta e, assim, favorecendo o alocamento energético para o crescimento e reprodução ⁶. Embora os bioestimulantes não atuem necessariamente na indução de resistência das plantas contra estresses bióticos (patógenos e herbívoros), estudos mostram que diversos bioestimulantes também melhoram a capacidade de defesa das plantas contra esse tipo de estresse ⁶⁻⁹. Dentre eles, as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) são promissoras no aumento da resistência a estresses bióticos ^{2,10}. Esses microrganismos interagem com as plantas mutualisticamente, sem aparentes impactos no equilíbrio do agroecossistema ⁷⁴. A colonização dos tecidos vegetais pelas RPCP promove o aumento na produção das plantas devido a mecanismos diretos, como a fixação biológica de nitrogênio, produção de fitohormônios e solubilização de fosfatos, e indiretos, como o controle biológico de fitopatógenos por competição ou produção de substâncias antibióticas ^{11,12}.

A resistência de plantas colonizadas por RPCP a patógenos também é resultante da Resistência Sistêmica Induzida (ou SIR, *systemic induced resistance*) que atua contra um amplo espectro de estresses bióticos, incluindo insetos herbívoros e nematoides fitopatogênicos ¹³⁻¹⁵. A SIR é caracterizada por pré ativar os mecanismos de defesa induzida da planta, implicando em baixo custo energético ¹⁶. Os mecanismos de defesa induzidos contra insetos pragas são desencadeados somente após o ataque do herbívoro, porém a planta colonizada pela RPCP tem os genes associados às defesas induzidas expressos mais rapidamente e/ou intensamente de forma sistêmica do que plantas não colonizadas ¹⁷⁻¹⁹.

Ainda que existam estudos mostrando que a inoculação com RPCP melhora a indução de resistência da planta contra insetos pragas desfolhadores e sugadores de seiva²²⁻⁵⁹⁻⁶⁰⁻⁷³, há também casos em que a colonização por RPCP apresenta efeitos neutros ou até negativos sobre a resistência da planta a insetos pragas^{20,21}. Assim, é importante estudar as particularidades de cada sistema, pois as interações parecem ser dependentes da estirpe de RPCP, espécie de planta e herbívoro²².

As substâncias húmicas (SH) são bioestimulantes igualmente importantes para plantas de interesse agrícola. Diferentemente das RPCP, as SH não consistem em organismos vivos e são derivadas da extração da matéria orgânica de turfas, solos vulcânicos, deposição de minerais, compostagem, vermicompostos e da ação metabólica dos microrganismos naturalmente encontrados na matéria orgânica do solo^{1,23}. Esse bioestimulante contém duas frações: os ácidos húmicos (AH), que é a fração hidrofóbica; e os ácidos fúlvicos correlacionados a parte hidrofílica. Ambos possuem conteúdo fenólico semelhantes e podem ser usados separadamente, ou em conjunto, em fórmula de bioestimulantes^{24,25}. A aplicação de AH é conhecida por modificar as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo¹³, além de ter ação hormonal na planta, resultando no aceleração do crescimento e desenvolvimento das plantas, alongamento radicular, aumento das taxas germinativas e incremento na biomassa⁷². Embora o efeito de AH na indução de resistência contra pragas seja pouco conhecido, sabe-se que a fertilização com AH modifica o perfil de metabólitos secundários das plantas e, por isso, tem o potencial como indutor de resistência a insetos²⁶.

Plantas leguminosas (*Fabaceae*), como soja e feijão, são dependentes da associação simbiótica com microrganismos benéficos do solo, como as bactérias fixadoras de nitrogênio que colonizam o sistema radicular das plantas e formam estruturas nodulíferas que fixam o nitrogênio atmosférico²⁷. Por exemplo, a inoculação de rizobactérias em plantas de feijão aumenta a formação de nódulos e a absorção de nutrientes, estimula a formação de pelos radiculares e incrementa a matéria seca da parte aérea, resultando no aumento da produtividade^{28,29}.

O feijão é a leguminosa mais relevante na América Latina devido a sua importância agrícola, econômica e social, além de constituir uma das fontes de proteína e energia mais consumidas mundialmente^{30,31}. No entanto, as cultivares de plantas de feijão são altamente suscetíveis a estresses abióticos e bióticos, em parte devido aos processos de melhoramento genético³². Como consequência, os produtores fazem o uso intensivo de químicos que atuam no controle de pragas e patógenos, acentuando o desequilíbrio do agroecossistema³³.

Entre as pragas chave da cultura do feijão, destaca-se a lagarta-falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), que provoca severa desfolha, deixando a folha com aspecto rendilhado. O controle por meio de pulverização encontra dificuldade para atingir o alvo devido a preferência do inseto pela parte abaxial da folha e a arquitetura da planta fechada^{34,35}. Além de *C. includens*, a mosca-branca *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) é uma praga global e frequentemente encontrada em feijão. A infestação pela mosca-branca em cultivos de feijão causa danos diretos devido a sucção de seiva que pode resultar no definhamento da planta³⁶; e indiretos em virtude da deposição de fumagina sobre a superfície da folha³⁷ e transmissão do vírus mosaico-dourado-do-feijoeiro (BGMV).

Uma das alternativas para incrementar a resistência e tolerância a estresses abióticos e bióticos das cultivares de feijão é por meio da aplicação de microrganismos e/ou substâncias que estimulam processos naturais, os bioestimulantes. O uso de bioestimulantes constitui uma tática promissora no manejo integrado de pragas (MIP), pois pode ser integrado a outras táticas de manejo, como o controle biológico¹, e reduz a quantidade de fertilizantes e insumos químicos que impactam o equilíbrio do ambiente³⁸. O uso combinado de bioestimulantes pode resultar em um efeito sinérgico sobre características desejáveis das plantas cultivadas quando comparado ao uso isolado dos bioestimulantes³⁹. Nesse sentido, a associação dos ácidos húmicos e as RPCP em uma leguminosa, como o feijão, tem alto potencial para atenuar os efeitos negativos do ataque das pragas sobre a produção.

Dado o eminente potencial dos bioestimulantes como métodos alternativos de controle de pragas, o presente trabalho investigou os efeitos do uso isolado e combinado de AH e RPCP no vigor vegetativo e resistência de plantas de feijão comum (*Phaseolus Vulgaris*) contra o inseto sugador *B. tabaci* e desfolhador *C. includens*. A hipótese inicial do trabalho era que a aplicação isolada de RPCP ou AH aumentaria a resistência do feijoeiro às duas pragas, mas a combinação dos bioestimulantes resultaria em um aumento da resistência ainda maior do que a aplicação isolada. Esperava-se um padrão semelhante em relação a ação isolada e combinada dos bioestimulantes sobre o vigor da planta. Avaliou-se o vigor das plantas pela análise de parâmetros de biomassa aérea, radicular e conteúdo de clorofila, enquanto a resistência por meio de ensaios comportamentais e biológicos com e sem chance de escolha.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Plantio e cultivo de *Phaseolus vulgaris*

O plantio de sementes de (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pérola) tipo carioca foi realizado em recipientes de polietileno (2 L de capacidade) contendo latossolo vermelho escuro (tipo horizonte C; pH 5.6, K 35.98 mg/dm³, P 1.08 mg/dm³; Ca 1.93 cmolc/dm³, Mg 0.16 cmolc/dm³, Al 0.04 H+AL 2.22 cmolc/dm³; SB 2.5, t 2.22, T 4.40, cmolc/dm³; V 49.60% , m 1.80%; M.O. 1.29 dag/kg P-Rem 7.49 mg/L; Zn 1.58, Fe 62.95, Mn 19.16, Cu 4.08, B 0.01, S 168.30 mg/dm³ , Argila 58 dag/kg, silte 30 dag/kg). As sementes foram tratadas com álcool 70% por trinta segundos e solução de hipoclorito de sódio a 0.1% por um minuto. As plantas tiveram as suas exigências nutricionais supridas seguindo as recomendações técnicas de Malavolta et al. (1997) (P = 300, K = 200, S = 50, B = 0.9, Cu = 1.5, Fe = 2 , Mn = 4, Mo = 0.15 e Zn = 5 mg/kg⁻¹). Os nutrientes foram supridos na forma Ca (H₂PO₄)₂, MgSO₄ 7H₂O, FeCL₃ + 6H₂O, Na₂MO O₄ 2H₂O, Zn SO₃ 7H₂O, Mn SO₄ H₂O, H₃BO₃ e Cu SO₄ 5H₂O. O cloreto de potássio foi fracionado em duas aplicações, a primeira foi realizada no preparo do solo e a outra aplicação de cobertura 25 dias após o plantio. O Nitrogênio foi fornecido na forma de Uréia em duas doses totalizando 40 kg/ha, sendo uma fornecida no décimo quinto dia após o plantio e a segunda com 30 dias após o plantio. A demanda hídrica da cultura foi suprida por meio de irrigação diária. As plantas foram mantidas em casa de vegetação até o estágio fenológico V4, quando foram usadas nos bioensaios.

4.2. Criação e manutenção de *Bemisia tabaci*

A criação foi iniciada a partir de uma população de adultos de *B. tabaci* provenientes de uma colônia já estabelecida e caracterizada anteriormente do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (Lavras, MG, Brasil). Os adultos foram mantidos no laboratório em condições controladas (25 ± 1°C, UR 70 ± 10% e fotofase de 12h) em plantas de couve manteiga (*Brassica Oleracea* L. var. *acephala*) no interior de uma gaiola de acrílico (40 cm x 60 cm). As plantas foram trocadas sempre que apresentavam sinais de senescência e após a migração voluntária dos insetos da planta velha para a nova.

4.3. Criação e multiplicação de *Chrysodeixis includens*

Ovos provenientes de uma criação já estabelecida na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil) foram fornecidos para iniciar a colônia. Todas as etapas da criação foram realizadas em condições controladas ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h). As lagartas recém eclodidas foram alimentadas com dieta artificial adaptada de Parra (2001). Foram colocadas 3 lagartas em cada recipiente de vidro (capacidade de 50 mL) contendo aproximadamente 5 g da dieta e vedados com algodão. Os adultos foram mantidos em gaiolas de PVC em formato cilíndrico (20 cm de altura e 10 cm de diâmetro) revestidas interiormente com papel tipo sulfite para a deposição dos ovos, e alimentados com solução de mel a 10%⁴⁰.

4.4. *Rhizobium tropici* (Ciat 899)

O inoculante Ciat 899 é oficialmente registrado e indicado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para aplicação em feijoeiro comum⁴¹. O inoculante foi fornecido pelo Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Lavras (Lavras, MG, Brasil), preparado na proporção 3:1 de turfa e cultura em meio semissólido YM na fase log, de acordo com a metodologia de Ferreira et al. (2009) e Soares et al. (2006). Foi aplicado o inoculante na proporção de 3 g para cada 100g de semente. Após o revolvimento das sementes no inoculante, elas foram adicionadas ao sulco de plantio. A mesma quantidade de turfa foi aplicada nos tratamentos que não foram inoculadas com *R. tropici*.

4.5. Ácidos Húmicos

O produto comercial Solohumics-solo® (SoloHumics Fertilizantes, Alcobaça, BA, Brasil) foi usado como fonte de AH extraído de turfa. O produto foi diluído na concentração de 15 mL/L de água destilada, conforme a recomendação do fabricante. Uma aplicação do tipo “*drench*” contendo 100 ml da solução foi realizada no dia seguinte ao plantio nos tratamentos AH e AH+RPCP, as plantas não tratadas com AH receberam 100 ml de água destilada no solo.

4.6.Tratamentos

Vinte e quatro horas antes da realização dos experimentos, as plantas de feijão no estágio V4 foram transferidas da casa de vegetação para o laboratório sob condições controladas (25 ± 2 °C, UR 60 ± 10 %, e fotofase de 12h). Em todos os ensaios comportamentais com *B. tabaci* e *C. includens* foram testados os seguintes tratamentos: (i) Planta inoculada somente com *R. tropici* (RPCP); (ii) Planta tratada somente com ácidos húmicos (AH); (iii) Planta inoculada com *R. tropici* e tratada com ácidos húmicos (RPCP+AH); Planta não inoculada com *R. tropici* e não tratada com ácidos húmicos (Controle).

4.7.Ganho de peso de larvas recém-eclodidas de *C. includens*

O desempenho biológico de *C. includens* em plantas de feijão controle, tratadas com AH e/ou RPCP foi realizado com base no ganho de peso de cada lagarta. O trifólio de cada planta recebeu duas larvas recém-eclodidas e foi coberto por um saco de tecido *voile* para evitar a fuga das lagartas. Após sete dias de herbivoria, as larvas foram individualmente pesadas em uma balança de precisão analítica (Marte - AY220). Após a remoção das larvas, o trifólio foi destacado, fotografado e posteriormente analisados no software BioLeaf para quantificar a área foliar consumida ⁴². O experimento foi realizado com 12 repetições em delineamento inteiramente casualizado em condições controladas (25 ± 2 °C, UR 60 ± 10 %, e fotofase de 10h).

4.8.Preferência alimentar de larvas recém-eclodidas de *C. includens*

A escolha hospedeira por larvas recém-eclodidas foi realizada em placa de Petri circular (14 cm diâmetro) contendo, na parte do fundo, quatro orifícios (3 cm diâmetro) equidistantes (3,5 cm). O folíolo central das plantas de feijão controle, tratadas com RPCP e/ou AH foram colocados abaixo dos orifícios de modo que as larvas foram expostas à mesma quantidade de tecido foliar ($\sim 28,2$ cm²) de cada tratamento (Figura 1C). No centro da arena foram liberadas 10 lagartas recém-eclodidas e, após 24 horas, a preferência foi medida com base no dado de consumo foliar. As folhas foram destacadas e submetidas ao software ImageJ para quantificar a área foliar consumida. O experimento foi realizado com 10 repetições em delineamento inteiramente casualizado em condições controladas (25 ± 2 °C, UR 60 ± 10 %, e fotofase de 10h).

4.9. Preferência hospedeira e de oviposição de *B. tabaci*

A preferência hospedeira e de oviposição de *B. tabaci* por plantas de feijão nos diferentes tratamentos foi realizada em gaiola (100 x 100 cm) contendo quatro plantas, uma de cada tratamento, dispostas de forma equidistante (Figura 1D). No centro de cada gaiola foi utilizado uma plataforma de papel para padronizar a altura de liberação dos 400 adultos de *B. tabaci* (razão sexual 1 fêmea:1 macho). A contagem do número de insetos em cada planta foi realizada após 0.30h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h e 72h da liberação dos adultos. Ao final das 72 horas, as plantas foram removidas para a contagem do número de ovos de *B. tabaci* sob um microscópio estereoscópio. O experimento contou com 12 repetições em delineamento inteiramente casualizado.

4.10. Desempenho de *B. tabaci* em diferentes tratamentos sem chance de escolha

Para mensurar a influência dos bioestimulantes no desempenho biológico de *B. tabaci*, 30 casais com idade de 6 dias foram colocados em cada tratamento. O trifólio infestado foi colocado dentro de um recipiente cilíndrico de poliestireno (10 x 7 x 13,5 cm), fechado com uma tampa com orifício central para a inserção do pecíolo. Esse recipiente evitou a fuga dos insetos e foi fixado de forma que não causou a quebra dos tecidos da planta (Figura 1E). Os casais permaneceram nos trifólios por 24 horas. Após esse período, os adultos foram removidos e os números de adultos vivos e mortos contabilizados. Os trifólios contendo apenas os ovos foram mantidos no recipiente. No décimo quinto dia, as folhas foram destacadas e sob microscópio estereoscópico foi registrado o número total de ovos, ovos inviáveis, número de ninfas de 1º, 2º e 3º instar mortas e vivas. O experimento foi realizado em laboratório, sob condições controladas (25 ± 2 °C, UR 60 ± 10 %, e fotofase de 10h), com 10 repetições por tratamento.

4.11. Biomassa de plantas

Plantas de feijão de cada tratamento foram mantidas em casa de vegetação dispostas de forma casualizada até que atingissem o estágio fenológico V4. Em seguida, vinte plantas foram levadas ao laboratório e secas em estufa (Ethik Technology - 402/5N). A matéria seca da parte aérea foi pesada após permanecer em estufa a 60° C por 48 horas e do sistema radicular por 24 horas a 60° C. O peso seco foi medido utilizando uma balança de precisão analítica. O experimento contou com 5 repetições de cada tratamento.

4.12. Teor de clorofila A e B

A quantificação dos teores de clorofila de plantas de feijão nos diferentes tratamentos foram mensuradas utilizando o clorofiLOG CFL1030, um medidor eletrônico do teor de clorofila. A análise foi realizada quando as plantas de feijão atingiram o estágio fenológico V4 em casa de vegetação dispostas aleatoriamente. O último trifólio foi selecionado como padrão de amostragem, desse trifólio foi escolhido o folíolo central e realizado a média de quatro pontos para representar clorofila A e B de cada repetição. O experimento contou com 10 repetições.

4.13. Análise estatística

Os testes de escolha com *B. tabaci* foram analisados usando modelos lineares mistos generalizados com distribuição binomial negativa com o tempo e efeito aleatório. O número de ovos de *B. tabaci* foi analisado usando modelos lineares. O desenvolvimento das ninfas nos testes sem chance de escolha foi analisado usando modelos lineares com a variável resposta transformada pela raiz quadrada para se adequar as premissas de normalidade e heterocedasticidade. O desenvolvimento dos adultos em testes de não escolha foram analisados usando testes de permutação. Os modelos de melhor ajuste foram escolhidos com consulta de análise de desvio, critérios de informação, testes de razão de verossimilhança e diagnóstico do modelo. As comparações post-hoc foram realizadas usando testes Dunnett para comparação com os controles.

O ganho de peso das neonatas de *C. includens* foram analisados usando modelos lineares. A alimentação foliar (área foliar consumida) foi analisada em modelos de obstáculos com distribuição gama para estimar a probabilidade de alimentação (regressão logística) e a quantidade consumida por tratamento dado à alimentação (modelo linear geral com distribuição gama). Os modelos de melhor ajuste foram escolhidos com consulta de análise de desvio, critérios de informação, testes de razão de verossimilhança e diagnóstico do modelo. As comparações post-hoc foram realizadas usando testes Dunnett para comparação com os controles.

As características das plantas foram submetidas a modelos lineares como desenvolvidos acima foram usados para modelar as métricas da planta de clorofila, biomassa e área foliar. Os modelos de melhor ajuste foram escolhidos com consulta de análise de desvio, critérios de

informação, testes de razão de verossimilhança e diagnóstico do modelo. Comparações post-hoc foram realizadas usando testes Dunnett para comparação com controles.

As análises foram realizadas por meio do software R 3.6.2 em conjunto com o RStudio IDE. Os pacotes tidyverse, car, lme4, MASS, vegan e emmeans, foram usados para aprimorar as análises⁴³.

5. RESULTADOS

5.1. Desempenho de *C. includens*

Larvas recém eclodidas que se alimentaram por 7 dias em plantas tratadas com AH, RPCP e/ou AH+RPCP apresentaram ganho de peso similar ao controle (one-way ANOVA; $F_{3,50} = 0.0033$, $p = 0.9545$; Figura 2).

5.2. Consumo de área foliar por *C. includens*

Plantas tratadas com RPCP e RPCP+AH apresentaram menor área foliar consumida por larvas de *C. includens* em relação a plantas controle durante um período de 7 dias (GLM, teste da razão de verossimilhança; $X^2 = 5.7329$, d. f. = 1, $p = 0.01665$). O consumo de área foliar em plantas tratadas com AH foi similar ao das plantas controle ($X^2 = 1.4370$, d. f. = 1, $p = 0.23063$; Figura 3).

5.3. Preferência alimentar de *C. includens*

No teste com chance de escolha, as larvas recém eclodidas de *C. includens* consumiram quantidades similares de tecido foliar das plantas de feijão controle, AH, RPCP e AH+RPCP, portanto, não tiveram preferência por nenhum dos tratamentos (GLM, teste da razão de verossimilhança; $X^2 = 1.4370$, d. f. = 1, $p = 0.23063$; Figura 4).

5.4. Preferência hospedeira de adultos de *B. tabaci*

Ao longo das 12h, 24h, 48h e 72h, adultos de *B. tabaci* preferiram plantas tratadas com RPCP e plantas tratadas com RPCP + AH em relação às plantas controle e AH (GLMM, teste Wald; $X^2 = 15.6052$, d. f. = 1, $p < 0.001$; Figura 5).

5.5. Preferência hospedeira de *B. tabaci* para oviposição

As plantas tratadas com RPCP e AH+RPCP receberam significativamente maior número de ovos quando comparadas a plantas controle em teste com chance de escolha (One-way ANOVA; $F_{3,44} = 4.1999$, $p = 0.01068$; Figura 6).

5.6. Ovos viáveis de *B. tabaci* sem chance de escolha

A viabilidade dos ovos depositados em plantas tratadas com AH e RPCP+AH foram significativamente reduzidas, respectivamente em $30,0\% \pm 5,7$ e $14,4\% \pm 6,1$ quando comparadas a plantas controle (One-way ANOVA; $F_{1,27} = 27.36$, $p < 0.001$; Figura 7). Apenas a aplicação isolada de RPCP não interferiu significativamente na viabilidade dos ovos quando comparadas a plantas controle ($F_{1,27} = 2.48$, $p = 0.1267$; Figura 7).

5.7. Desempenho de ninfas de *B. tabaci*

O tratamento com AH, RPCP e RPCP+AH reduziu significativamente o número de ninfas de 2º, 3º e 4º instares em comparação a plantas controle (Two-way ANOVA; $F_{3,114} = 38.5653$, $p < 0.001$, Figura 8). Com exceção das plantas tratadas com AH+RPCP, todos os tratamentos com bioestimulantes reduziram o número de ninfas do 1º instar em relação ao controle ($p < 0,05$), (Figura 8)

5.8. Número de ovos de *B. tabaci* sem chance de escolha

O número de ovos depositados por *B. tabaci* em plantas tratadas com AH foi menor em relação ao controle (one-way ANOVA $F_{1,27} 13.24$, $p = 0.0011$; Figura 9). Por outro lado, a quantidade de posturas em plantas tratadas com RPCP e RPCP+AH foi similar ao controle ($F_{1,27} = 2.069$, $p = 0.1229$; Figura 9).

5.9. Clorofila A e B

Os teores de clorofila A e clorofila B não diferiram significativamente entre plantas tratadas com AH, RPCP e RPCP+AH em relação a plantas controle (Figura 10 e 11).

5.10. Biomassa da parte aérea

As plantas inoculadas com RPCP apresentaram maior biomassa da parte aérea em relação às plantas controle (one-way ANOVA; $F_{1,15} = 2.18$ $p = 0.1598$; Figura 12). Plantas tratadas com AH e RPCP+AH não apresentaram diferença na biomassa da parte aérea quando comparadas ao controle (Figura 12).

5.11. Biomassa das raízes

A biomassa da parte radicular das plantas tratadas com RPCP, AH e AH+RPCP foi similar quando comparadas a plantas controle (teste Dunnet; $t = 2.37$, $df = 16$, $p = 0.0504$; Figura 13).

6. DISCUSSÃO

Muitos estudos têm investigado o efeito dos bioestimulantes na resistência em plantas contra patógenos, mas pouco se sabe sobre os efeitos na resistência a insetos herbívoros⁴⁴⁻⁵⁰. Neste trabalho, exploramos os efeitos de dois bioestimulantes, as substâncias húmicas e uma estirpe de rizobactéria promotora de crescimento, isolados e em conjunto, na indução de resistência da planta de feijão a duas importantes pragas com diferentes hábitos alimentares, *C. includens* e *B. tabaci*. Os resultados mostram efeitos distintos dos bioestimulantes no comportamento e biologia das duas espécies, sendo mais acentuados para a mosca-branca. Apesar das substâncias húmicas serem reportadas como estimulantes de crescimento de plantas²⁴, não foi verificado incremento na biomassa da parte aérea ou radicular da planta de feijão, ao contrário das RPCP, que promoveu maior crescimento da parte aérea. A RPCP selecionada *R. tropici* Ciat 899 já foi caracterizada como fixadora de nitrogênio em plantas de feijão e produtora de hormônios de crescimento, como auxina, citocinina e giberelina, que estimulam o crescimento e a produtividade do feijoeiro⁵¹⁻⁵³. O aumento no vigor vegetativo da planta tratada com RPCP não foi resultante de maiores níveis de clorofila, como alguns estudos indicam⁵⁴, pois tanto a clorofila A quanto a B não foram influenciadas pelos tratamentos com RPCP.

Apesar de ser conhecido como bioestimulante para diversas espécies vegetais^{39,55} o tratamento com AH não foi eficiente na indução de crescimento de plantas de feijão, como verificado por Barral⁵⁶. Alguns estudos sugerem que o tratamento com ácidos húmicos estimula mais o metabolismo secundário da planta, envolvido em defesas, do que metabolismo primário, responsável pela promoção de crescimento^{57,58}. De maneira interessante, a combinação do AH

e RPCP não estimulou o aumento da biomassa da planta (parte aérea e radicular) em relação às plantas do controle e contrariou a hipótese de efeito sinérgico.

Já foi reportado na literatura que a inoculação com RPCP promove o aumento da resistência de plantas contra herbívoros mastigadores, tais como lepidópteros e coleópteros^{22,59,60}. No entanto, verificamos que o tratamento com AH e/ou RPCP não afetou a biologia e a preferência alimentar de larvas de *C. includens*. Interessante notar que, ainda que as larvas tenham ganhado peso similar em plantas tratadas com RPCP e AH+RPCP, elas consumiram aproximadamente 1.67 e 1.10 vezes menos tecido foliar do que plantas controle. Esses resultados podem indicar a qualidade nutricional superior dos hospedeiros tratados com RPCP ou que a diferença no consumo foliar não foi suficiente para influenciar no ganho de peso das lagartas.

A maior atratividade e deposição de ovos nas plantas RPCP e AH+RPCP pelos adultos de *B. tabaci* dá suporte à hipótese de que a inoculação com *R. tropici* aumenta a qualidade nutricional das plantas de feijão. Há estudos que demonstram que plantas colonizadas por RPCP apresentam um aumento de N disponível^{61,62}, refletindo no conteúdo de aminoácidos e no conteúdo de nitrogênio presente no vegetal⁶³. O status nutricional da planta hospedeira, especialmente a razão carboidrato: aminoácido na seiva, desempenha papel importante na atratividade e escolha para deposição dos ovos por moscas-branca^{64,65}. Embora os metabólitos primários não tenham sido examinados neste estudo, nós verificamos que as plantas tratadas com RPCP apresentaram melhor qualidade nutricional em termos quantitativos, ou seja, tendo como base a maior biomassa.

Diferentemente de plantas tratadas com RPCP, os adultos de *B. tabaci* não diferenciaram plantas tratadas com apenas AH de plantas controle, e ovipositaram quantidades similares de ovos em ambos os tratamentos. Porém, cerca de 37% dos ovos de *B. tabaci* nas plantas com AH não eclodiram, e o tratamento de plantas AH+RPCP também afetou negativamente a eclosão dos ovos, embora em menor intensidade. Essa redução na viabilidade dos ovos pode ter sido influenciada por alterações nos compostos secundários de defesa das plantas, assim como relatado em outros estudos com diferentes espécies de plantas⁶⁶. Apesar dos relatos sobre o perfil metabólico das plantas tratadas com AH, pouco se sabe sobre o efeito de AH na resistência a insetos e o único estudo encontrado mostrou efeito neutro sobre afídeos⁶⁷.

Ainda que a viabilidade dos ovos tenha sido afetada apenas pelos tratamentos com AH, o número de ninfas de *B. tabaci* do 2º até 4º instar foi reduzido em todos os tratamentos com bioestimulantes. A população total de ninfas foi reduzida em 2,39, 1,77 e 1,60 vezes nos tratamentos AH, RPCP+AH e RPCP, respectivamente. Esses resultados sugerem que o tratamento com AH e/ou RPCP melhoraram a defesa induzida das plantas de feijão contra a mosca-branca.

Sabe-se que a associação com RPCP induz o aumento de hormônios envolvidos nas defesas das plantas (AJ e AS), que pode desencadear um efeito de *priming* na planta, resultando em resposta mais rápida e potencializada^{10,14,17}. Por sua vez, o AH promove aumento tanto nas atividades metabólicas primárias das plantas, como na síntese de carbono, nitrogênio e fotossíntese^{68,69}, quanto no metabolismo secundário da planta, como na síntese de compostos fenólicos, que são relacionados ao sistema de defesa das plantas^{66,70}.

Os nossos dados indicam que o tratamento com AH e RPCP, isoladamente, produzem efeitos distintos na resistência da planta de feijão contra os insetos herbívoros, provavelmente porque causam mudanças diferentes no perfil de metabólitos primários e secundários. A nossa hipótese inicial do efeito sinérgico pelo uso combinado de AH e RPCP foi negada para todos os parâmetros avaliados (desempenho da planta e resistência). Nós observamos que o tratamento AH+RPCP produziu efeitos variáveis, ora reproduzindo as respostas do tratamento do AH, ora das RPCP. Apesar de Olivares et al. (2017)³⁹ ter encontrado efeitos positivos no uso combinado desses bioestimulantes, outros trabalhos relatam resultados semelhantes aos nossos na combinação com RPCP e AH em parâmetros de produtividade das plantas⁷¹.

Além disso, os efeitos do AH e/ou RPCP foram distintos considerando a espécie de herbívoro. Por serem de hábitos alimentares diferentes, as vias de sinalização envolvidas na defesa induzida da planta contra *C. includens* e *B. tabaci* devem ser diferencialmente ativadas (BONAVENTURE, 2012), o que pode ter influenciado na interação planta-herbívoro. Ao mesmo tempo em que não foi detectada resistência das plantas de feijão tratadas com AH e/ou RPCP para *C. includens*, todos os tratamentos reduziram a população total de ninfas de *B. tabaci*.

A rizobactéria CIAT899 já é recomendada comercialmente para o cultivo feijão no campo, entretanto, até o momento não se sabia dos efeitos positivos provocados por essa rizobactéria na indução de defesa das plantas de feijão contra pragas. O nosso estudo fornece informações relevantes sobre o efeito dos bioestimulantes no comportamento e biologia dos insetos. Além disso, o uso desses bioestimulantes podem resultar na redução do uso de insumos

químicos utilizados nas lavouras e minimizar os custos de produção, favorecendo a microbiota e o ecossistema do solo, sendo aceitos em cultivos convencionais e orgânicos. Futuros estudos devem investigar os mecanismos envolvidos (i) no aumento da resistência das plantas tratadas com AH e AH+RPCP contra *B. tabaci*; e (ii) no aumento da atratividade das plantas tratadas com RPCP e AH+RPCP a *B. tabaci* que pode ser devido a alterações do metabolismo primário e secundário (compostos voláteis).

7. CONCLUSÃO

A interação entre plantas de feijão e os bioestimulantes é dependente do hábito alimentar do herbívoro e do tipo de bioestimulante utilizado. *Rhizobium tropici*, além de promover o crescimento, é mais eficiente na manipulação do sistema de defesa das plantas, induzindo resistência contra o inseto mastigador e o sugador. Ácido húmico, por sua vez, influencia somente no desempenho do inseto sugador. A utilização desses bioestimulantes atuam positivamente no controle biológico dessas pragas e sua utilização traz benefícios para a cultura do feijão.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradecemos ao pesquisador Dr Adalvan Daniel Martins e aos professores Dra Joyce Doria, Dr Moacir Pasqual do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFLA e ao Applied Chemical Ecology Laboratory – Cornell Agritech, pelo suporte na execução da pesquisa. Agradecemos a Profa. Dra Fátima Maria de Souza Moreira do Laboratório de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Lavras, por ter cedido a rizobactéria CIAT 899 utilizada neste trabalho. Agradecemos também ao Cleber Rodas e Dâmiany Oliveira pela assistência técnica e científica.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 du Jardin P, Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation, *Sci Hort (Amsterdam)* **196**:3–14, Elsevier (2015).
- 2 Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud ML, Touraine B, Moëne-Loccoz Y, Muller D, *et al.*, Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning, *Front Plant Sci* **4**:356, Frontiers Research Foundation (2013).
- 3 Craigie JS, Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture, *J Appl Phycol* **23**:371–393, Springer (2011).
- 4 Khan W, Rayirath UP, Subramanian S, Jithesh MN, Rayorath P, Hodges DM, *et al.*, Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development, *J Plant Growth Regul* **28**:386–399, Springer (2009).
- 5 Artursson V, Finlay RD, and Jansson JK, Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth, *Environ Microbiol* **8**:1–10, John Wiley & Sons, Ltd (2006).
- 6 Brown P and Saa S, Biostimulants in agriculture, *Front Plant Sci* **6**:671, Frontiers Research Foundation (2015).
- 7 Yigit V and Dikilitaş M, Effect of humic acid applications on the root-rot diseases caused by fusarium spp. on tomato plants, *Plant Pathol J* **7**:179–182 (2008).
- 8 Abdel-Monaim MF, Ismail ME, and Morsy KM, Induction of systemic resistance of benzothiadiazole and humic acid in soybean plants against Fusarium wilt disease, *Mycobiology* **39**:290–298, Taylor & Francis (2011).
- 9 Abdel-Kader M, el-mohamedy R, Abdel-Kader MM, El-Mougy NS, E Aly MD, Lashin SM, *et al.*, Soil Drench with Fungicides Alternatives Against Root Rot Incidence of Some Vegetables Under Greenhouse Conditions Fungicides alternatives dissemination View project Interaction between Fusarium species in Potato View project Soil Drench with Fungicides Alternatives Against Root Rot Incidence of Some Vegetables Under Greenhouse Conditions, *Int J Agric For* **2012**:61–69 (2012).
- 10 Pieterse CMJ, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, Van Wees SCM, and Bakker PAHM, Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes, *Annu Rev Phytopathol* **52**:347–375, Annual Reviews (2014).
- 11 Pieterse CMJ, Van Pelt JA, Van Wees SCM, Ton J, Léon-Kloosterziel KM, Keurentjes JJB, *et al.*, Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: Triggering, signalling and expression, *Eur J Plant Pathol* **107**, 51–61, Springer (2001).
- 12 Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, van Themaat EVL, and Schulze-Lefert P, Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants, *Annu Rev Plant Biol* **64**:807–838, Annual Reviews (2013).
- 13 Silva Filho AV Da and Silva MIV Da, Importância das substâncias húmicas para a agricultura, *An do II Emepa-Simpósio Nac sobre as Cult do Inhame e do Taro* (2002).
- 14 van Loon LC, Bakker PAHM, and Pieterse CMJ, SYSTEMIC RESISTANCE INDUCED BY RHIZOSPHERE BACTERIA, *Annu Rev Phytopathol* **36**:453–483, Annual Reviews (1998).
- 15 Barbosa FR, Yokoyama M, Silva PHS Da, Bleicher E, Han FNP, Alencar JA De, *et al.*, Proposta de manejo da mosca branca *Bemisia argentifolii* Bellows & Pering, no feijão *Phaseolus vulgaris* L., EMBRAPA (1998).
- 16 Van Wees SC, Van der Ent S, and Pieterse CM, Plant immune responses triggered by beneficial microbes, *Curr Opin Plant Biol* **11**:443–448, Elsevier Current Trends (2008).
- 17 Balmer A, Pastor V, Gamir J, Flors V, and Mauch-Mani B, The “prime-ome”: Towards

- a holistic approach to priming, *Trends Plant Sci* **20**:443–452, Elsevier Ltd (2015).
- 18 Martinez-Medina A, Flors V, Heil M, Mauch-Mani B, Pieterse CMJ, Pozo MJ, *et al.*,
Recognizing Plant Defense Priming, *Trends Plant Sci* **21**:818–822, Elsevier Ltd (2016).
- 19 van Hulten M, Pelsler M, van Loon LC, Pieterse CMJ, and Ton J, Costs and benefits of
priming for defense in Arabidopsis, *Proc Natl Acad Sci* **103**:5602–5607 (2006).
- 20 Boutard-hunt C, Smart CD, Thaler J, and Nault BA, Impact of Plant Growth-Promoting
Rhizobacteria and Natural Enemies on <I>Myzus persicae</I> (Hemiptera:
Aphididae) Infestations in Pepper, *J Econ Entomol* **102**:2183–2191, Oxford University
Press (OUP) (2009).
- 21 Kempel A, Brandl R, and Schädler M, Symbiotic soil microorganisms as players in
aboveground plant-herbivore interactions - The role of rhizobia, *Oikos* **118**:634–640,
John Wiley & Sons, Ltd (2009).
- 22 Brock AK, Berger B, Schreiner M, Ruppel S, and Mewis I, Plant growth-promoting
bacteria *Kosakonia radicincitans* mediate anti-herbivore defense in Arabidopsis thaliana,
Planta **248**:1383–1392, Springer Verlag (2018).
- 23 MacCarthy P, The principles of humic substances, *Soil Sci* **166**:738–751, LWW (2001).
- 24 Baldotto LE and Baldotto MA, Adventitious rooting on the Brazilian red-cloak and
sanchezia after application of indole-butyric and humic acids, *Hortic Bras* **32**:434–439,
Sociedade de Olericultura do Brasil (2014).
- 25 Ritchie JD and Michael Perdue E, Proton-binding study of standard and reference fulvic
acids, humic acids, and natural organic matter, *Geochim Cosmochim Acta* **67**:85–96,
Pergamon (2003).
- 26 Bong CFJ and Sikorowski PP, Effects of cytoplasmic polyhedrosis virus and bacterial
contamination on growth and development of the corn earworm, *Helicoverpa zea*
(Lepidoptera: Noctuidae), *J Invertebr Pathol* **57**:406–412, Academic Press (1991).
- 27 Moreira FM de S, Microbiologia e bioquímica do solo, Ufla (2006).
- 28 Burdman S, Volpin H, Kigel J, Kapulnik Y, and Okon Y, Promotion of nod Gene
Inducers and Nodulation in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) Roots Inoculated with
Azospirillum brasilense Cd., *Appl Environ Microbiol* **62**:3030–3033, American Society
for Microbiology (1996).
- 29 Burdman S, Kigel J, and Okon Y, Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and
growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Soil Biol Biochem* **29**:923–929,
Pergamon (1997).
- 30 Oliveira SHF, Manejo do mofo branco, *DBO Agrotecnologia* **2**:8–13 (2005).
- 31 Petry N, Boy E, Wirth J, and Hurrell R, Review: The Potential of the Common Bean
(*Phaseolus vulgaris*) as a Vehicle for Iron Biofortification, *Nutrients* **7**:1144–1173,
MDPI AG (2015).
- 32 Yokoyama LP, Tendências de mercado e alternativas de comercialização do feijão,
Embrapa Arroz e Feijão Santo Antônio de Goiás (2002).
- 33 Bergamin Filho A and Amorim L, Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle
econômico (1996).
- 34 SANTOS WJ dos, Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro,
Algodão no cerrado do Bras Brasília, Assoc Bras dos Prod Algodão, 918p:403–478
(2007).
- 35 Silvie PJ, Thomazoni D, Soria MF, Saran PE, and Bélot JL, Pragas e seus danos em
algodoeiro, *Inst Mato-grossense do Algodão, Primav do Leste*:184 (2013).
- 36 Inbar M and Gerling D, Plant-Mediated Interactions Between Whiteflies, Herbivores,
and Natural Enemies, *Annu Rev Entomol* **53**:431–448, Annual Reviews (2008).
- 37 Hoffmann-Campo CB, Moscardi F, Corrêa-Ferreira BS, Oliveira LJ, Sosa-Gómez DR,

- Panizzi AR, *et al.*, Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado, Embrapa soja Londrina (2000).
- 38 Alves BJR, Boddey RM, and Urquiaga S, The success of BNF in soybean in Brazil, *Plant Soil* **252**:1–9, Springer (2003).
- 39 Olivares FL, Busato JG, de Paula AM, da Silva Lima L, Aguiar NO, and Canellas LP, Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action, *Chem Biol Technol Agric* **4**:30, Springer International Publishing (2017).
- 40 Parra JRP, Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico (2001).
- 41 AGROFIT, Sistemas de agrotóxicos fitossanitários, 2020. http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.
- 42 Machado BB, Orue JPM, Arruda MS, Santos C V., Sarath DS, Goncalves WN, *et al.*, BioLeaf: A professional mobile application to measure foliar damage caused by insect herbivory, *Comput Electron Agric* **129**:44–55, Elsevier B.V. (2016).
- 43 R Core Team, R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (2019).
- 44 Howell CR and Stipanovic RD, Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens*, and its role in the biological control of *Pythium ultimum*, *Can J Microbiol* **29**:321–324, NRC Research Press Ottawa, Canada (1983).
- 45 Lifshitz R, Windham MT, and Baker R, Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp., *Phytopathology* **76**:720–725 (1986).
- 46 Nolla A, Korndörfer GH, and Coelho L, Efficiency of Calcium Silicate and Carbonate in Soybean Disease Control, *J Plant Nutr* **29**:2049–2061, Taylor & Francis Group (2006).
- 47 Harel YM, Kolton M, Elad Y, Rav-David D, Cytryn E, Ezra D, *et al.*, Induced systemic resistance in strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) to powdery mildew using various control agents, *IOBC/wprs Bull* **71**:47–51 (2011).
- 48 Chalfoun NR, Durman SB, Budeguer F, Caro MDP, Bertani RP, Di Peto P, *et al.*, Development of PSP1, a biostimulant based on the elicitor AsES for disease management in monocot and dicot crops, *Front Plant Sci* **9**:844, Frontiers Media S.A. (2018).
- 49 Hayat S, Ahmad H, Ali M, Hayat K, Khan M, and Cheng Z, Aqueous Garlic Extract as a Plant Biostimulant Enhances Physiology, Improves Crop Quality and Metabolite Abundance, and Primes the Defense Responses of Receiver Plants, *Appl Sci* **8**:1505, MDPI AG (2018).
- 50 Gunupuru LR, Patel JS, Sumarah MW, Renaud JB, Mantin EG, and Prithiviraj B, A plant biostimulant made from the marine brown algae *Ascophyllum nodosum* and chitosan reduce *Fusarium* head blight and mycotoxin contamination in wheat, ed. by Zhang A, *PLoS One* **14**:e0220562 (2019).
- 51 Ferreira AN, Arf O, Carvalho MAC de, Araújo RS, Sá ME de, and Buzetti S, Estirpes de *Rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro, *Sci Agric* **57**:507–512, Scientia Agricola (2000).
- 52 Figueiredo MVB, Martinez CR, Burity HA, and Chanway CP, Plant growth-promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *World J Microbiol Biotechnol* **24**:1187–1193, Springer (2008).
- 53 Soares BL, Ferreira PAA, Rufini M, Martins FAD, Oliveira DP, Reis RP, *et al.*, Agronomic and economic efficiency of Common-Bean inoculation with *Rhizobia* and mineral nitrogen fertilization, *Rev Bras Cienc do Solo* **40**, Revista Brasileira de Ciencia do Solo (2016).
- 54 Vafadar F, Amooaghaie R, and Otrushy M, Effects of plant-growth-promoting

- rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*, *J Plant Interact* **9**:128–136, Taylor and Francis Ltd. (2014).
- 55 Sarwar M, Akhtar ME, Hyder SI, and Khan MZ, Effect of biostimulant (humic acid) on yield, phosphorus, potassium and boron use efficiency in peas., *Persian Gulf Crop Prot* **1**:11–16, Islamic Azad University, Plant Protection Department, Dezful (2012).
- 56 Barral UM, Efeito de fontes e doses de ácidos húmicos na produção do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), UFVJM (2015).
- 57 Pereira MMA, Morais LC, Marques EA, Martins AD, Cavalcanti VP, Rodrigues FA, *et al.*, Humic Substances and Efficient Microorganisms: Elicitation of Medicinal Plants-A Review, *J Agric Sci* **11** (2019).
- 58 Aminifard MH, Aroiee H, Azizi M, Nemati H, and Jaafar HZE, Effect of Humic Acid on Antioxidant Activities and Fruit Quality of Hot Pepper (*Capsicum annuum* L.), *J Herbs Spices Med Plants* **18**:360–369, Taylor & Francis Group (2012).
- 59 Zehnder GW, Murphy JF, Sikora EJ, and Kloepper JW, Application of rhizobacteria for induced resistance, *Eur J Plant Pathol* **107**, 39–50, Springer (2001).
- 60 Disi JO, Zebelo S, Kloepper JW, and Fadamiro H, Seed inoculation with beneficial rhizobacteria affects European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) oviposition on maize plants, *Entomol Sci* **21**:48–58, Blackwell Publishing (2018).
- 61 Mantelin S, Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake, *J Exp Bot* **55**:27–34 (2003).
- 62 Antonella Di Benedetto N, Rosaria Corbo M, Campaniello D, Pia Cataldi M, Bevilacqua A, Sinigaglia M, *et al.*, The role of Plant Growth Promoting Bacteria in improving nitrogen use efficiency for sustainable crop production: a focus on wheat, *AIMS Microbiol* **3**:413–434, American Institute of Mathematical Sciences (AIMS) (2017).
- 63 Miller AJ, Fan X, Shen Q, and Smith SJ, Amino acids and nitrate as signals for the regulation of nitrogen acquisition, *J Exp Bot* **59**:111–119 (2007).
- 64 Bentz J-A and Larew HG, Ovipositional Preference and Nymphal Performance of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) on *Dendranthema grandiflora* Under Different Fertilizer Regimes, *J Econ Entomol* **85**:514–517, Oxford Academic (1992).
- 65 Bentz J-A, Reeves J, Barbosa P, and Francis B, Nitrogen Fertilizer Effect on Selection, Acceptance, and Suitability of *Euphorbia pulcherrima* (Euphorbiaceae) as a Host Plant to *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae), *Environ Entomol* **24**:40–45, Oxford Academic (1995).
- 66 Schiavon M, Pizzeghello D, Muscolo A, Vaccaro S, Francioso O, and Nardi S, High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (*Zea mays* L.), *J Chem Ecol* **36**:662–669, Springer (2010).
- 67 Sattari Nasab R, Pahlavan Yali M, and Bozorg-Amirkalae M, Effects of humic acid and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on induced resistance of canola to *Brevicoryne brassicae* L, *Bull Entomol Res* **109**:479–489, Cambridge University Press (2018).
- 68 Jannin L, Arkoun M, Ourry A, Lâiné P, Goux D, Garnica M, *et al.*, Microarray analysis of humic acid effects on *Brassica napus* growth: Involvement of N, C and S metabolisms, *Plant Soil* **359**:297–319, Springer (2012).
- 69 Trevisan S, Botton A, Vaccaro S, Vezzaro A, Quaggiotti S, and Nardi S, Humic substances affect *Arabidopsis* physiology by altering the expression of genes involved in primary metabolism, growth and development, *Environ Exp Bot* **74**:45–55, Elsevier (2011).

- 70 Dixon RA, Natural products and plant disease resistance, *Nature* **411**:843–847, Nature Publishing Group (2001).
- 71 Rodrigues LFOS, Guimarães VF, da Silva MB, Pinto AS, Klein J, and da Costa ACPR, Agronomic characteristics of wheat due to *Azospirillum brasilense*, humic acids and nitrogen in greenhouse, *Rev Bras Eng Agric e Ambient* **18**:31–37, Departamento de Engenharia Agrícola - UFCG/Cnpq (2014).
- 72 Chen Y, Magen H, H & Clapp, The effect of humic substances on plant growth and their impact on organic agriculture. In: Encontro Brasileiro de substâncias húmicas, Anais. Vicosa-MG, p. 36-37 (2001).
- 73 Brock A, Schreiner M, Ruppel S, Plant growth-promoting bacteria *Kosakonia radicincitans* mediate anti-herbivore defense in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* **248.6**:1383-1392 (2018).
- 74 Peix A, Ramirez-Bahena MH, Velazquez E, and Bedmar EJ, Bacterial associations with legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **34**:1-3, p. 17-42 (2015).

FIGURAS

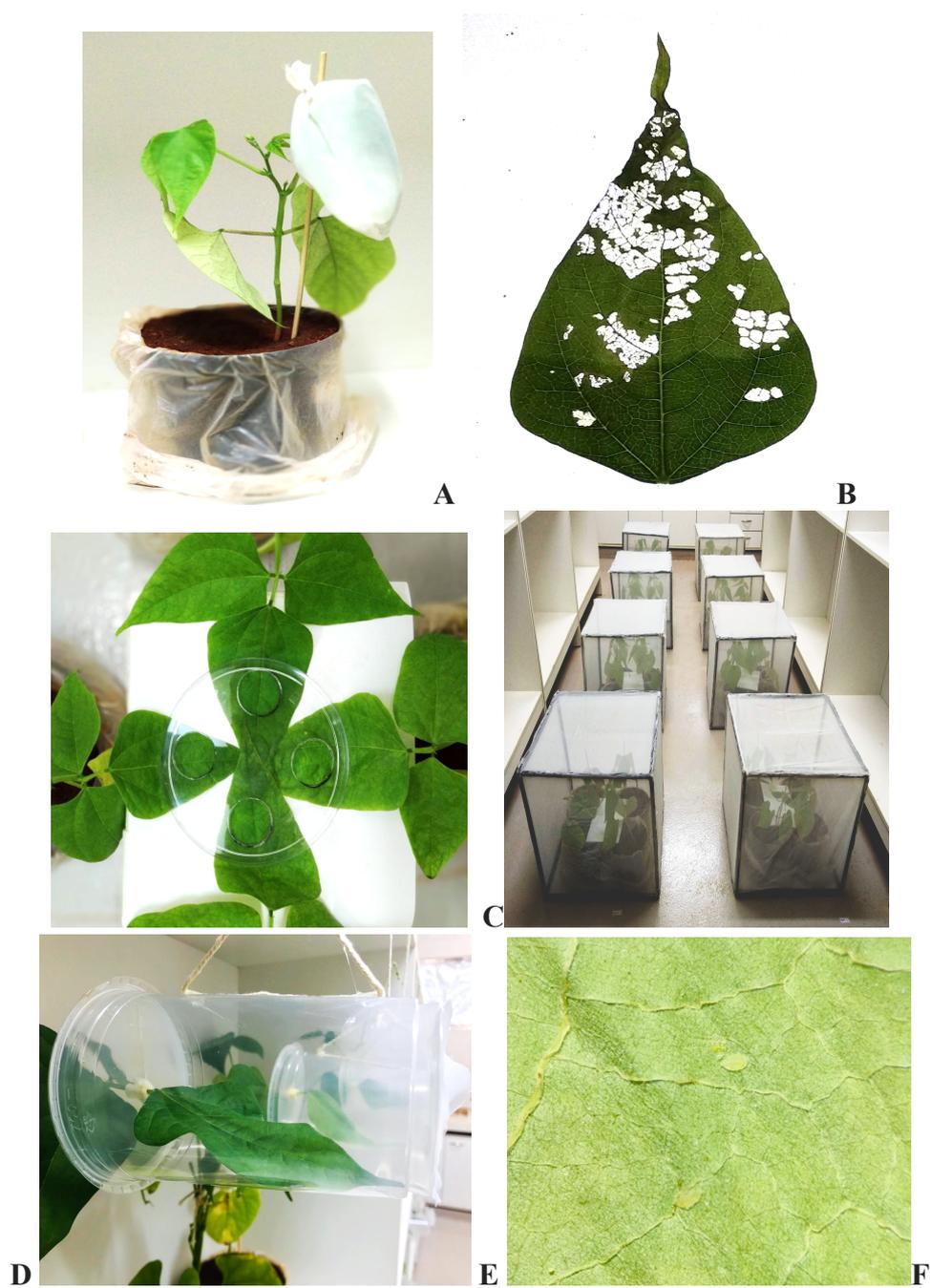


Figura 1 Experimentos de defesa direta de plantas de feijão tratadas com bioestimulantes.

Teste de desempenho de *Chrysodeixis includens* (A), Consumo de área foliar por *Chrysodeixis includens* (B), Arena com chance de escolha de neonatas de *Chrysodeixis includens* (C), Teste com chance de escolha de *Bemisia tabaci* (D), Desempenho de *Bemisia tabaci* sem chance de escolha (E) e Avaliação de ninfas de *Bemisia tabaci* (F).

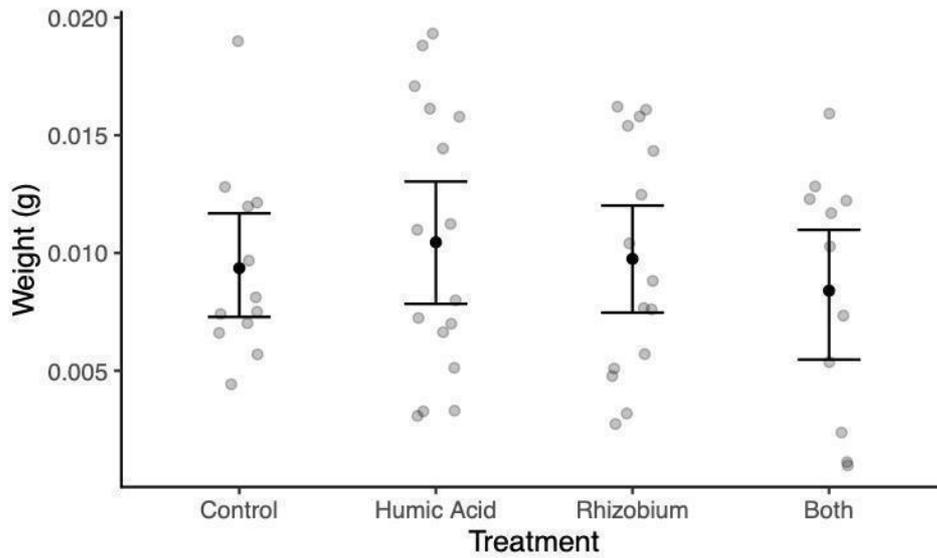


Figura 2 Ganho de peso de lagartas *Chrysodeixis includens* após sete dias, alimentadas com plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).

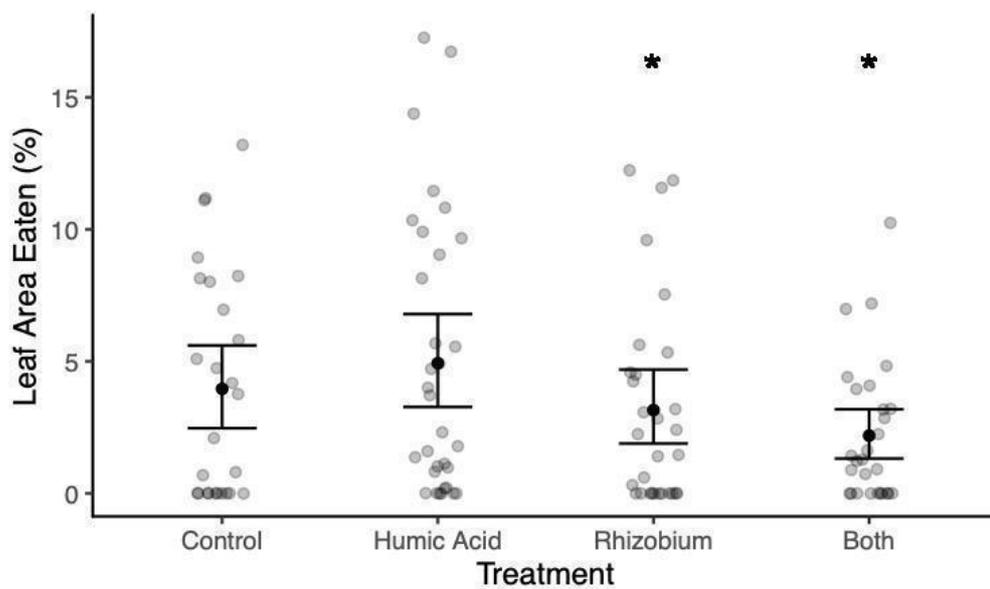


Figura 3 Consumo de área foliar (%) de lagartas *Chrysodeixis includens* em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por '*' diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

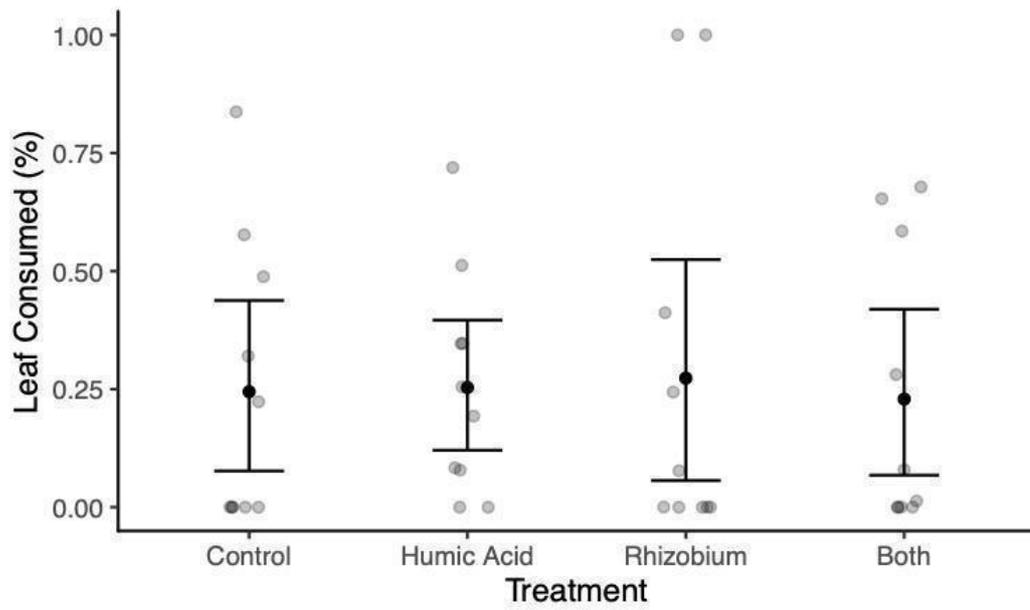


Figura 4 Teste com quatro chances de escolha feitas por lagartas *Chrysodeixis includens* por plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).

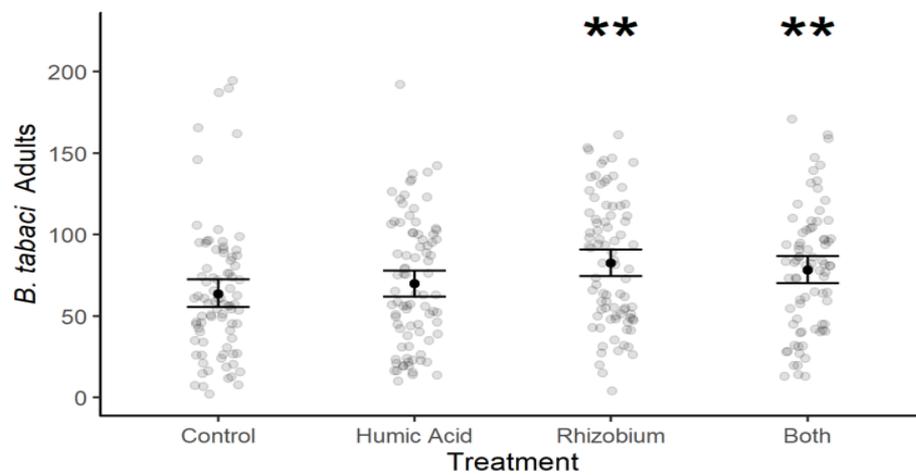


Figura 5 Escolha hospedeira de *B. tabaci* por plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). As Médias seguidas por '**' diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 1% de probabilidade.

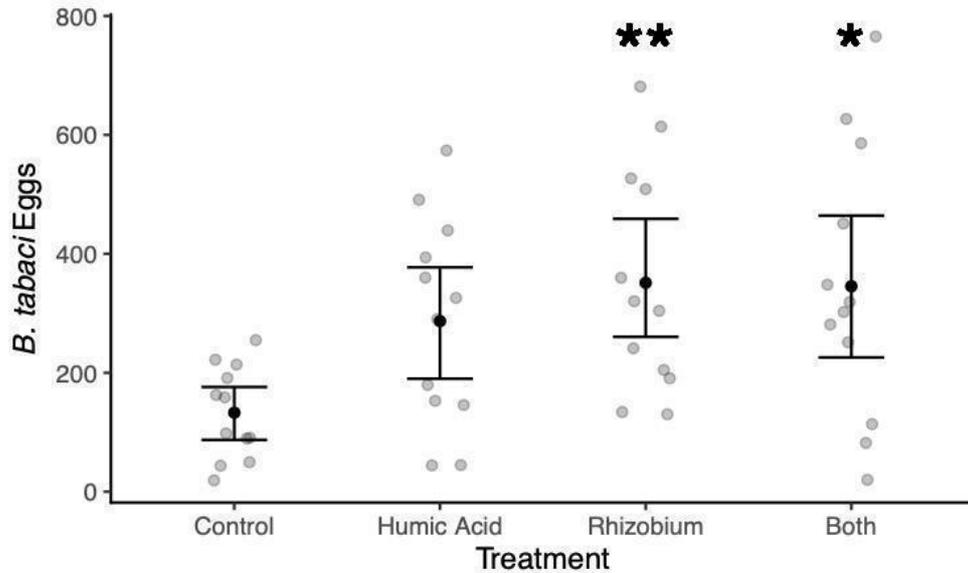


Figura 6 Número de ovos de *Bemisia tabaci* por tratamento com chance de escolha por plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por '*' e '**' diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett com probabilidade de 1% e 0.1% respectivamente.

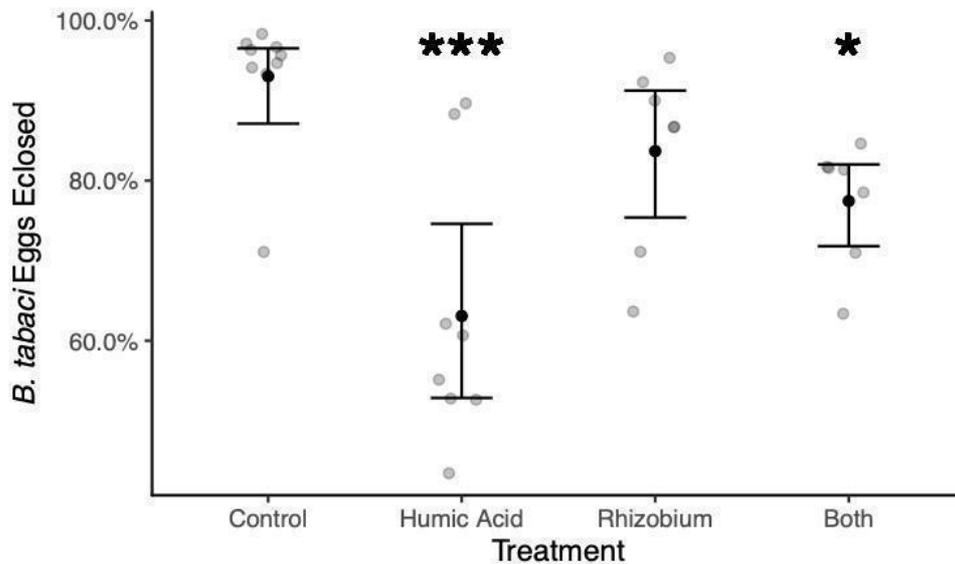


Figura 7 Número de ovos viáveis sem chance de escolha em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por '*' e '***' diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 5% e 0.1%, respectivamente de probabilidade.

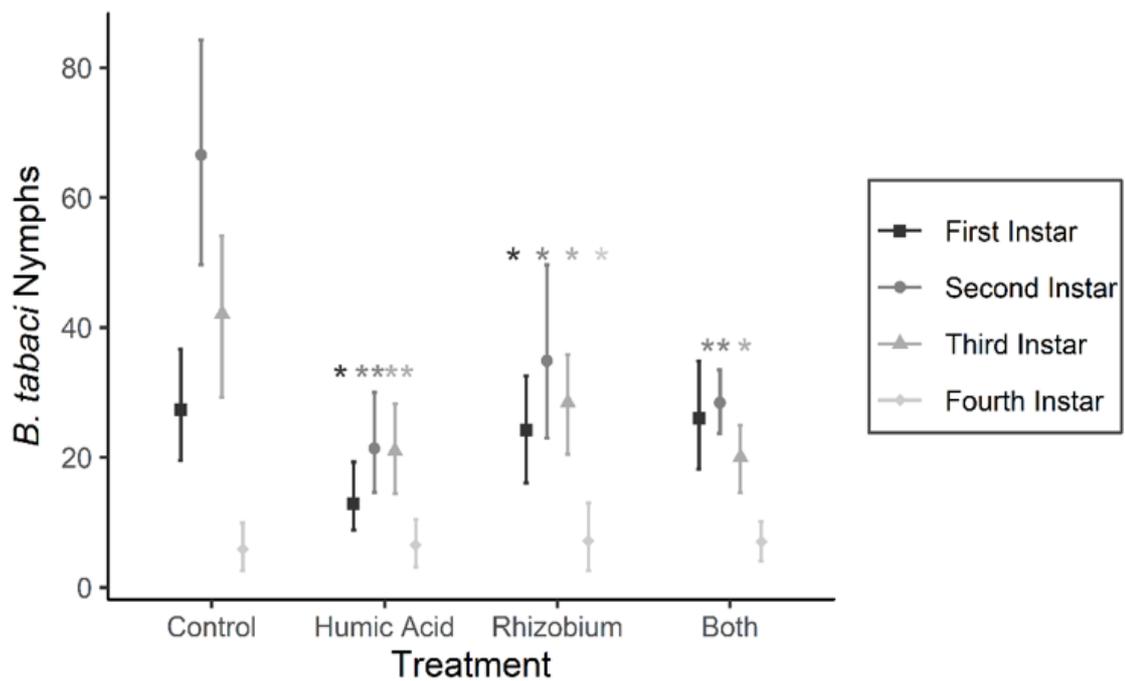


Figura 8 Desempenho de ninfas de mosca branca em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por ‘*’ diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

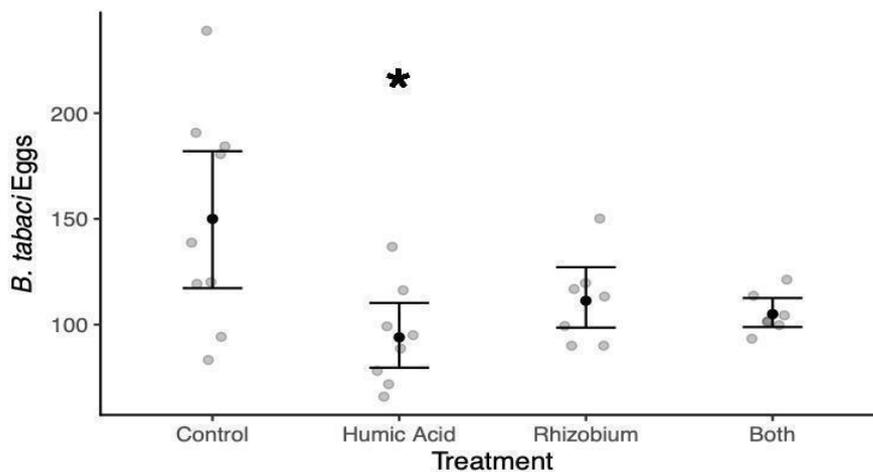


Figura 9 Número de ovos depositados sem chance de escolha em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por ‘*’ diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

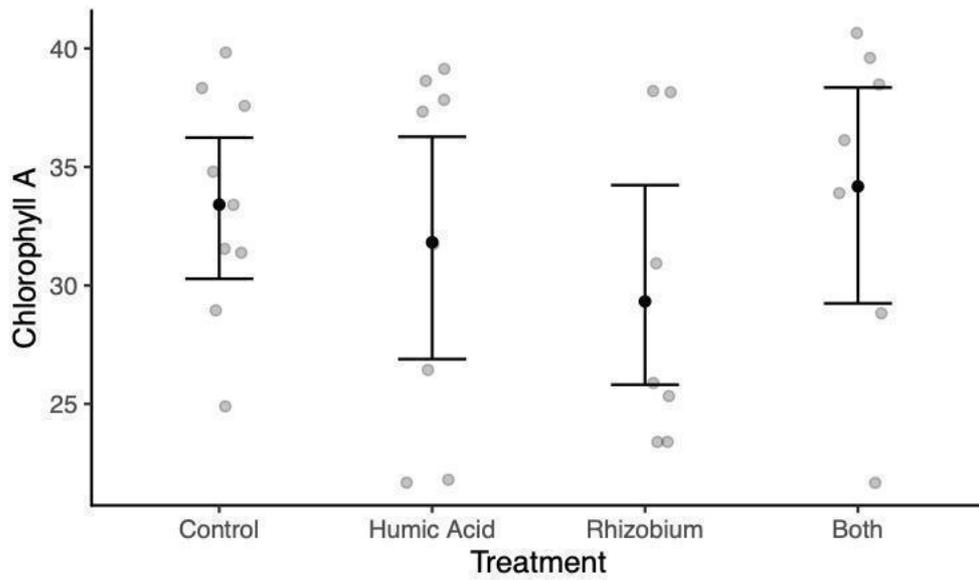


Figura 10 Clorofila A mensurada em plantas de feijão controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).

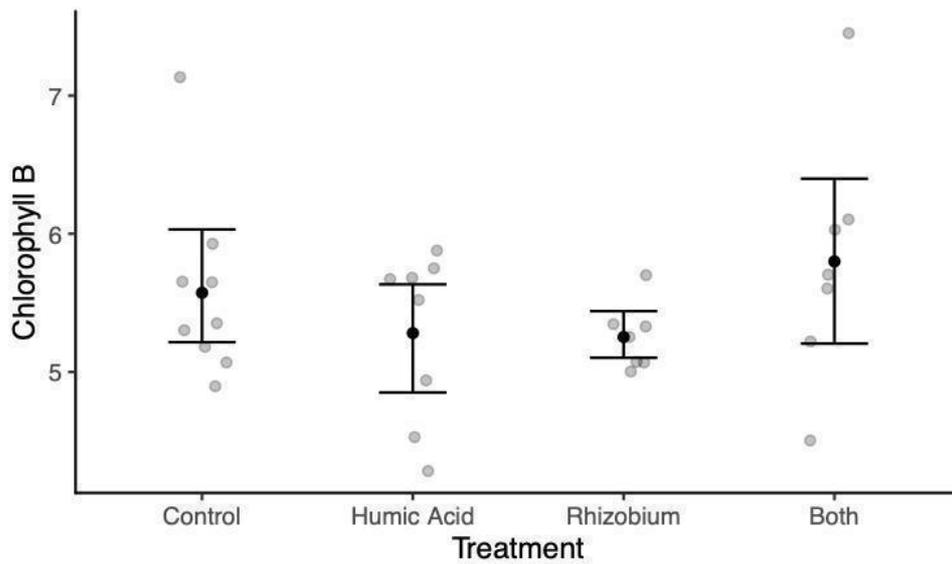


Figura 11 Clorofila B mensuradas em plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).

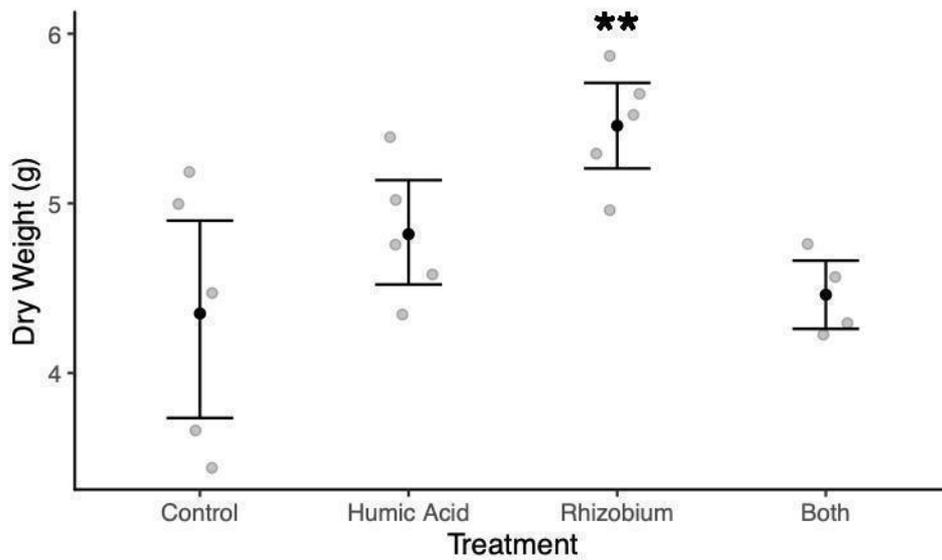


Figura 12 Biomassa da parte aérea de plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP). Médias seguidas por '**' diferem estatisticamente do tratamento controle pelo teste de Dunnett a 1% de probabilidade.

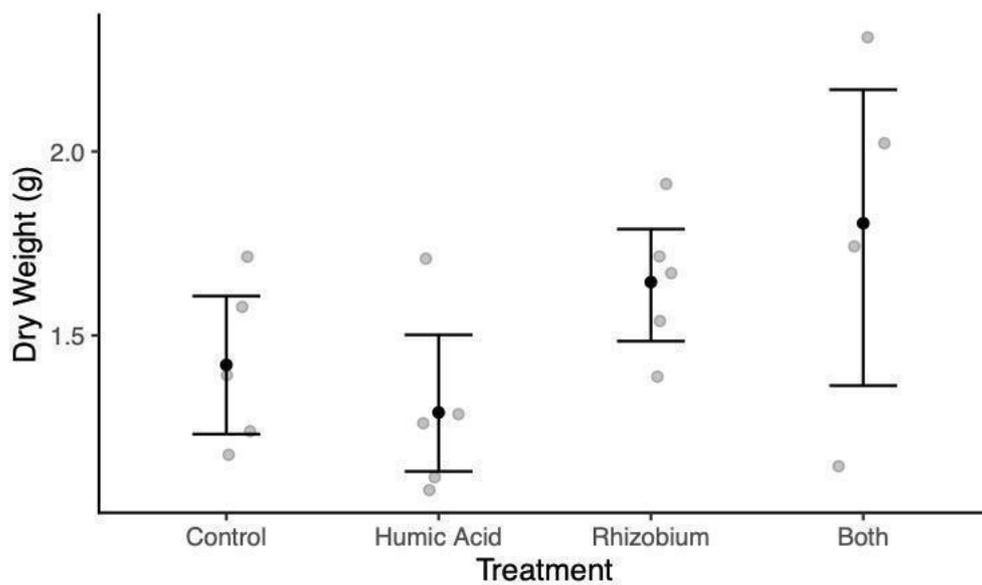


Figura 13 Biomassa das raízes de plantas controle e tratadas com Humic Acid (AH), Rhizobium (RPCP) e Both (AH+ RPCP).