



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE
TECNOLOGIA



Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

**“EFEITO DA RADIAÇÃO UV-VIS E INFRAVERMELHO NO
PERFIL METABOLÔMICO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS
VOLÁTEIS DE *Glycine max*”**

Jesus David Sierra Martinez*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

Orientador:

Prof. Dr. Moacir Rossi Forim.

* bolsista CAPES-88887.630504/2021-00

**São Carlos - SP
2023**

JESUS DAVID SIERRA MARTINEZ

**“EFEITO DA RADIAÇÃO UV-VIS E INFRAVERMELHO NO
PERFIL METABOLÔMICO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS
VOLÁTEIS DE Glycine max”**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

Orientador:

Prof. Dr. Moacir Rossi Forim

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Moacir Rossi Forim
Departamento de Química - UFSCar

Prof. Dr. Oldair Donizete Leite
Departamento de Química - UTFP

Prof. Dr. Flavio Henrique da Silva
Departamento de Genética e Evolução - UFSCar

São Carlos
2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Jesus David Sierra Martinez, realizada em 11/08/2023.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Moacir Rossi Forim (UFSCar)

Prof. Dr. Oldair Donizeti Leite (UTFPR)

Prof. Dr. Flavio Henrique da Silva (UFSCar)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

AGRADECIMENTOS

A Deus que guia os meus passos e me ajuda a sonhar com o que é possível.

À Universidade Federal de São Carlos por receber-me e oferecer a oportunidade de fazer parte da sua comunidade.

Ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia pela formação recebida e o esforço do seu corpo docente.

Ao meu orientador o professor Dr. Moacir Rossi Forim pelos valiosos conselhos, o apoio fundamental e sua valiosa amizade.

Aos professores que formaram minhas bancas examinadoras de Qualificação e defesa que com seus aportes fizeram deste um melhor trabalho e de mim um melhor profissional: Prof. Dr. Renato Lajarin Carneiro, Prof. Dr. Oldair Donizete Leite, Prof. Dr. Flavio Henrique da Silva e Prof. Dr. Bruno Campos Janegitz.

Aos docentes, colegas e técnicos do Laboratório de Produtos Naturais, que com seu apoio ajudaram na realização deste projeto, especialmente a Dr. Dorai Periotto Zandonai, doutoranda Maria Clara Santana Aguiar, doutoranda Victoria Patrícia Peña Arroyo, doutorando Luís Guillermo Cuadrado Durango e pós-doutorado Felipe Hilário.

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

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

Sierra, Jesus. **EFEITO DA RADIAÇÃO UV-VIS E INFRAVERMELHO NO PERFIL METABOLÔMICO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DE *Glycine max* (L.) Merr.** 2023. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia) – UFSCar, São Carlos, 2023.

RESUMO

Apesar dos avanços significativos nos meios de produção e controles agrícolas, os insetos ainda são os principais competidores dos humanos por alimento. Decorrente de programas de melhoramento para ganhos de produtividade entre outras características, a maioria dos cultivares atualmente disponíveis não apresentam eficientes mecanismos de resistência contra insetos pragas. Deste modo, o estudo metabolômico comparativo entre genótipos selvagens e cultivares comerciais pode recuperar informações fundamentais de mecanismos de resistências constitutivas e induzidas associando estes resultados a genes, proteínas e metabólitos secundários de defesa vegetal abrindo um campo de pesquisa para o desenvolvimento de produtos e práticas sustentáveis de controle de pragas. Assim, este projeto teve como objetivo principal avaliar o efeito da radiação UV-Vis e infravermelho no perfil metabolômico de compostos orgânicos voláteis de *Glycine max* (L.) Merr. buscando entender como fatores ambientais modificam e estimulam seu metabolismo. Além disso, buscamos também o reconhecimento de mecanismos de defesa que possam ser estimulados e usados para o controle de insetos pragas. As análises por HS/GC-MS detectaram 16 compostos voláteis, majoritariamente aldeídos, álcoois, derivados do furano e hidrocarbonetos, entre eles alguns com reconhecida atividade quimioprotetora frente a radiações luminosas como o linalool e relacionados com a defesa direta e indireta da planta frente a herbívoros. Os cultivares selvagem (PI407270), convencional (BRS-284) e transgênico (RR2PRO) influenciam a escolha de alimento de *S. frugiperda* antes que qualquer tratamento de irradiação aplicado, sendo o cultivar selvagem o maior dissuasivo, especialmente quando recebe irradiação de amplo espectro. Os compostos hexanal; (E)-2-hexenal, n-hexano; 2-ethyl-furano, e 1-octen-3-ol são os principais compostos orgânicos voláteis que respondem aos tratamentos de irradiação UV-Vis-IV, servindo como marcadores da resposta frente ao estímulo abiótico. A presença de compostos como n-hexano coincide com altos índices de deterrência de *S. frugiperda*.

Palavras-chave: Mecanismos de resposta vegetal; *Glycine max* (L.) Merr; Análises metabolômicas; Controle de insetos pragas; *Spodoptera frugiperda*.

Sierra, Jesus. **EFFECT OF UV-VIS AND INFRARED RADIATION ON THE METABOLOMIC PROFILE OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS OF *Glycine max* (L.) Merr.** 2022. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia) – UFSCar, São Carlos, 2022.

ABSTRACT

Despite significant advances in means of production and agricultural controls, insects are still humans' main competitors for food. As a result of breeding programs for productivity gains, among other characteristics, most cultivars currently available do not present efficient mechanisms of resistance against insect pests. In this way, the comparative metabolomics study between wild genotypes and cultivars can recover fundamental information on mechanisms of constitutive and induced resistances associating these results to genes, proteins, and secondary metabolites of plant defense, opening a field of research for the development of products and sustainable practices of pest control. Thus, the main objective of this project was to evaluate the effect of UV-Vis radiation on the metabolomic profile of volatile organic compounds from *Glycine max* (L.) Merr. seeking to understand how environmental factors modify and stimulate their metabolism. In addition, we also seek the recognition of defense mechanisms that can be stimulated and used to control insect pests. The HS/GC-MS analyses detected 16 volatile compounds, mostly aldehydes, alcohols, Furan derivatives, and hydrocarbons, including some with recognized chemoprotective activity against light radiation such as Linalool, and related to the direct and indirect defense of the plant against herbivores. The wild (PI407270), conventional (BRS-284,) and transgenic (RR2PRO) cultivars influence the choice of food for *S. frugiperda* before any irradiation treatment is applied, with the wild cultivar being the greatest deterrent, especially when it receives broad-spectrum irradiation. Hexanal; (E)-2-hexenal; n-hexano; 2-ethyl-furano and 1-octen-3-ol are the main VOCs that respond to UV-Vis-infrared irradiation treatments, serving as markers of the response to the abiotic stimulus and the presence of compounds such as n-hexano coincides with high rates of deterrence of *S. frugiperda*.

Keywords: Abiotic plant response mechanisms. *Glycine max* (L.) Merr. Metabolomic analyses. Insect pest control. *Spodoptera frugiperda*.

LISTA DE FIGURAS

	página
Capítulo 1 – Introdução	
Figura 1.1. Espectro eletromagnético	12
Figura 1.2. Larva de <i>S. frugiperda</i>	13
Figura 1.3. Criptocromo	17
Figura 1.4. Espectro de ação de alguns fotorreceptores	18
Figura 1.5. Fototropina	20
Figura 1.6. Estrutura da Zeaxantina	21
Figura 1.7. Exemplos da soja doméstica (<i>Glycine Max</i>).	23
Figura 1.8. Exemplos da soja selvagem (<i>Glycine soja</i>).	24
Figura 1.9. Esquema geral do sistema GC-MS.	28
Figura 1.10. Extração por Headspace.	29
Capítulo 2 – Materiais e Métodos	
Figura 2.1. Sementes de soja cultivadas.	31
Figura 2.2. Localização da área de estudo.	32
Figura 2.3. Casa de vegetação (a) e cultivo (b).	32
Figura 2.4. Câmera de irradiação.	33
Figura 2.5. Placas LED instaladas no teto da câmera de irradiação.	34
Figura 2.6. Módulo de controle de irradiação.	34
Figura 2.7. (a) Cromatógrafo a Gás Multidimensional Shimadzu MDGC 2010AF Plus, (b) injetor headspace AOC-5000, (c) detector Espectrômetro de Massas Sequencial TQ8030.	36
Figura 2.8. <i>Spodoptera frugiperda</i> . (a) vista dorsal, (b) vista ventral.	39
Figura 2.9. Testes de escolha.	41
Figura 2.10. Teste de não-escolha. (a) com disco tratado (b) com disco controle.	42
Capítulo 3 - Resultados	
Figura 3.1. Cultivo de soja	43
Figura 3.2. Estimulação UV-Vis	44
Figura 3.3. Larvas de <i>S. frugiperda</i>	45
Figura 3.4. Índice dissuasivo no teste de escolha 24 horas após	46
Figura 3.5. Distribuição normal de dados no teste de escolha-24.	47

Figura 3.6. Índice antiapetitivo após 24 horas de radiação	48
Figura 3.7. Distribuição normal de dados no teste sem escolha-24.	49
Figura 3.8. Projeção em duas dimensões dos grupos presentes no cultivar selvagem	54
Figura 3.9. Variáveis importantes identificados pelo PLS-DA para o cultivar selvagem	55
Figura 3.10. Projeção em duas dimensões dos grupos presentes no cultivar convencional	57
Figura 3.11. Variáveis importantes identificados pelo PLS-DA para o cultivar convencional	58
Figura 3.12. Projeção em duas dimensões dos grupos presentes no cultivar transgênico	59
Figura 3.13. Variáveis importantes identificados pelo PLS-DA para o cultivar transgênico.	60
Figura 3.14. Mapa de calor compostos presentes no cultivar selvagem.	61
Figura 3.15. Mapa de calor compostos presentes no cultivar convencional.	62
Figura 3.16. Mapa de calor compostos presentes no cultivar transgênico.	63

LISTA DE TABELAS

	página
Capítulo 1 – Introdução	
Tabela 1.1. Bandas de ondas significantes.	15
Tabela 1.2. Composição do espectro UV.	16
Capítulo 2 – Materiais e Métodos	
Tabela 2.1. Condições de irradiação e controle.	35
Tabela 2.2. Parâmetros de extração Por Headspace para análise de compostos orgânicos voláteis de folhas de soja.	36
Tabela 2.3. Parâmetros do GC-MS.	38
Capítulo 3 – Resultados e Discussão	
Tabela 3.1. Resultado teste de normalidade para dados do experimento de escolha-24.	47
Tabela 3.2. Resultado teste de normalidade para dados do experimento sem chance de escolha-24.	49
Tabela 3.3. Compostos orgânicos voláteis detectados no fenótipo selvagem (PI407270).	50
Tabela 3.4. Compostos orgânicos voláteis detectados no fenótipo convencional (BRS-284).	51
Tabela 3.5. Compostos orgânicos voláteis detectados no fenótipo transgênico (RR2-PRO).	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Uv-Vis	Ultravioleta-Visível
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta – A
UVB	Ultravioleta – B
UVC	Ultravioleta - C
Vis	Visível
IV	Infravermelho
COV	Compostos Orgânicos Voláteis
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo fosfato
ROS	<i>Reactive Oxygen species</i> - Espécies reativas do oxigênio
LED	<i>light-emitting diode</i> - Diodo emissor de luz
VGSC	<i>Voltage gated sodium channel</i> - Canal de sódio controlado por voltagem
GC	<i>Gas Chromatography</i> – Cromatografia gassosa
MS	<i>Mass Spectrometry</i> – Espectrometria de massa
HS	<i>Headspace</i>
S-HS	<i>Headspace</i> estático
D-HS	<i>Headspace</i> dinâmico
PLSDA	<i>Partial Least Squares Discriminant Analysis</i> – Análise parcial discriminante de mínimos quadrados.
GLV	<i>Green leaf volatiles</i>

SUMÁRIO

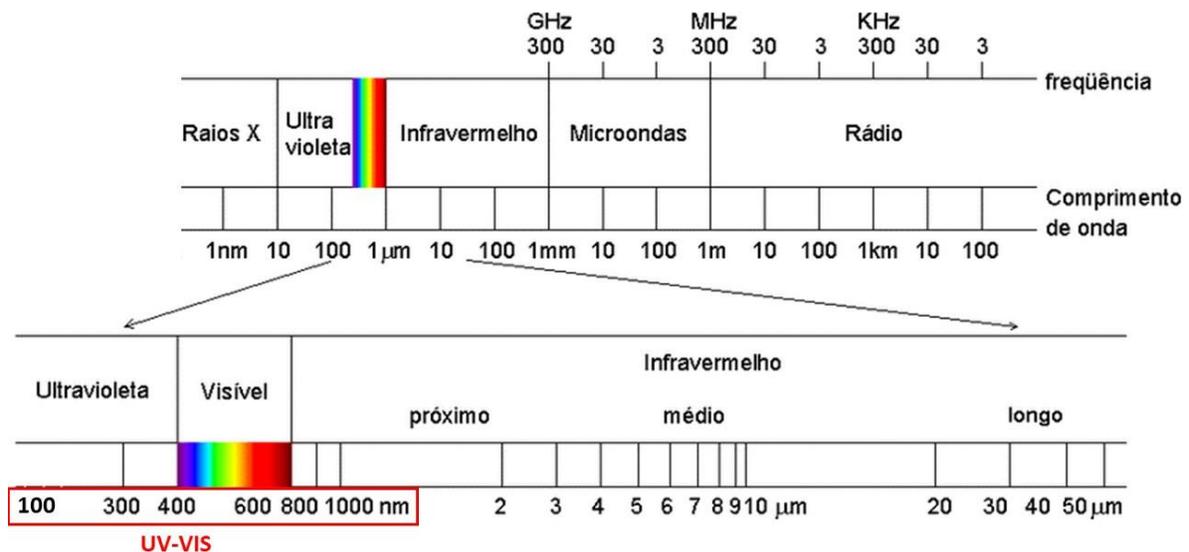
	página
1 – Introdução	11
1.1 – <i>Estado-da-arte</i>	14
<i>Radiação e luz em plantas</i>	14
<i>Radiação ultravioleta em plantas</i>	15
<i>Luz violeta-azul em plantas.</i>	19
<i>Luz vermelha em Plantas</i>	20
<i>Radiação infravermelha</i>	21
<i>Glycine max (L.) Merr.</i>	22
<i>Defesa da soja frente a herbivoria.</i>	24
<i>Resistência de S. frugiperda a inseticidas e culturas transgênicas.</i>	25
<i>Estudo de compostos orgânicos voláteis por HS-GC-MS</i>	26
1.2 - Objetivos	29
Objetivo geral	29
Objetivos específicos	29
2 – Materiais e Métodos	30
<i>Sementes de soja</i>	30
<i>Cultivo vegetal</i>	30
<i>Irradiação UV-Vis-IR</i>	32
<i>Coleta e conservação de amostras</i>	34
<i>Preparo de amostra para análise HS-GC-MS.</i>	34
<i>Análise por cromatografia gasosa associada a espectrometria de massa (GC-MS)</i>	34
<i>Cultivo de S. frugiperda</i>	38
<i>Efeito da radiação UV-Vis-IR na preferência alimentar de S. frugiperda</i>	38
<i>Análise estatístico</i>	41
3 – Resultados e Discussão	42
<i>Cultivo vegetal e estimulação UV-VIS-IV</i>	42
<i>Cultivo de S. frugiperda</i>	43
<i>Efeito da radiação UV-Vis-IR na preferência alimentar de S.</i>	45

<i>frugiperda</i>	
<i>Compostos Orgânicos Voláteis</i>	49
Análise discriminante de mínimos quadrados parciais ou <i>Partial Least Squares - Discriminant Analysis (PLS-DA)</i>	51
<i>Mapa de Calor ou Heatmap</i>	59
6 – Conclusões e perspectivas	63
7 – Referências	65

1 – INTRODUÇÃO

A radiação ultravioleta próxima e visível (UV-Vis) é uma pequena porção do espectro eletromagnético compreendida entre 100 a 800 nm (**Figura 1.1**). Os raios ultravioletas constituem cerca de 5% da luz solar terrestre enquanto que a luz visível representa cerca de 43% da luz solar e varia de 400 a 780 nm, dentro desse campo se incluem as cores violeta, azul, verde, amarelo e vermelho. As plantas são organismos sensíveis aos estímulos da luz visível (Vis) e a suas porções extremas, como UV e infravermelho (IV). A luz visível é muito importante para as plantas porque abrange à radiação fotossinteticamente ativa (400 aos 700 nm), e exerce ação na fotomorfogênese, germinação, desetiolação, fototropismo, oscilação circadiana, resposta de reprodução e produção de metabólitos secundários da planta (Dou & Niu, 2019; Mao et al., 2017).

Figura 1.1. Espectro eletromagnético.



Adaptado de Dornelles, 2008.

Na fisiologia vegetal, o estresse ambiental é de grande importância devido ao seu impacto na produtividade dos cultivos. Portanto, a influência de fatores abióticos (estresse hídrico, salinidade, temperatura, poluentes, radiação, etc.) e

bióticos (herbivoria, fitopatógenos, etc.) é estudada para entender a forma como as plantas modificam seu metabolismo para manter o equilíbrio fisiológico, além das possíveis aplicações biotecnológicas.

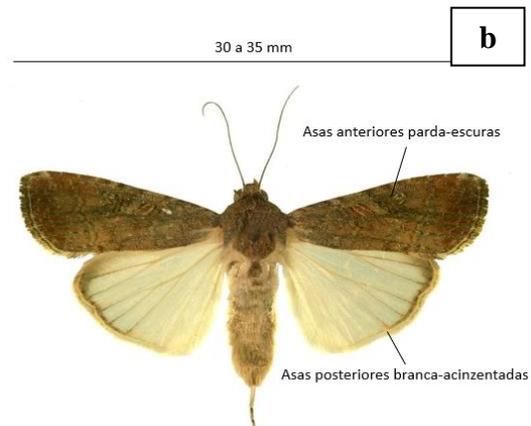
Como resultado da exposição a radiações, as plantas expressam e acumulam metabólitos secundários com atividades biológicas diversas, quimioproteção, resistência a patógenos e herbívoros ou para influenciar o crescimento de plantas vizinhas, etc. (Hectors et al., 2014; S. Wang et al., 2019). Os compostos orgânicos voláteis (COV), podem ser gerados de estímulos bióticos ou abióticos e atuam como repelentes para herbívoros (defesa direta) ou como atrativos para predadores (defesa indireta), entre outras funções. Terpenoides é o grupo mais abundante de COV, seguido pelos fenilpropanoides, benzenoides e derivados de ácidos graxos voláteis. Os COV são de importância para a agricultura devido ao potencial que apresentam em resistência a pragas e infecções (Brilli et al., 2019; Michereff et al., 2011).

Entretanto, no continente americano as pragas afetam extensas plantações de diferentes cultivos anualmente. *Spodoptera frugiperda* é uma espécie da família Noctuidae (Lepidoptera) e uma das principais pragas do continente americano (**Figura 1.2**) (Montezano et al., 2018). Larvas de *S. frugiperda* historicamente atacam um grande número de espécies cultiváveis como milho, sorgo, algodão e soja, entre os mais afetados (Yu et al., 2003).

Figura 1.2. Larva (a) e adulto (b) de *S. frugiperda*.



Obtida pelo autor.



Adaptado de Robert J. Bauernfeind.

No Brasil, a aplicação de inseticidas a cada ano para o controle de *S. frugiperda* representa um enorme gasto. Mesmo com o uso de sementes transgênicas as perdas globais por infestações ainda são bilionárias, além dos riscos para a saúde humana e ecossistêmica relacionados com o uso excessivo de produtos agroquímicos (Rani et al., 2021). Ainda, a evolução da resistência de insetos pragas, especialmente *S. frugiperda*, continua sendo um desafio para a implantação sustentável de culturas (Carvalho et al., 2013), mesmo aqueles com mecanismos de resistência transgênica (D. Bernardi et al., 2015; Omoto et al., 2016; Storer et al., 2010).

Do mesmo modo, as plantações de soja (*Glycine max* (L.) Merr) um dos cultivos básicos mais importantes do agronegócio brasileiro, são suscetíveis ao ataque de *S. frugiperda* e até de outras espécies do mesmo gênero (D. M. Silva et al., 2017). A preocupação no Brasil com essa ameaça é crescente, pois se sabe que variedades de soja transgênica altamente cultivadas (MON 87701 e MON 89788) podem ser atacadas por indivíduos total ou parcialmente resistentes às proteínas Cry1Ac (resistência *Bt*) (O. Bernardi et al., 2014). Isso levando em consideração que o complexo soja (grão de soja, farinha e óleo) representa cerca de 50% da área plantada no Brasil (Peruca et al., 2018) gerando no ano de 2017 receitas de USD 35,4 bilhões, correspondentes a 21,7% da produção agrícola do país (Cattelan & Dall'Agnol, 2018).

No entanto, com o desenvolvimento e avanço nas tecnologias de cromatografia e espectrometria de massa, a quantidade de estudos de metabolômica de plantas é crescente, o que permite uma compreensão maior das respostas fisiológicas das plantas ante os estímulos ambientais. O estresse ambiental induz a expressão de genes, proteínas e metabolitos que modificam o fenótipo da planta e por ser os metabolitos um produto final de essa complexa rede, são excelentes para medir a resposta induzida, uma vantagem frente a outras disciplinas ômicas. (Feng et al., 2020).

Em definitiva, os estímulos ambientais baseados em radiação de tipo UV-Vis e infravermelho, pode aportar conhecimento sobre os mecanismos de proteção bioquímica de diferentes genótipos da espécie *Glycine max* ainda pouco

estudados e contribuir para novas abordagens no controle integrado do inseto-praga *S. frugiperda*.

1.1. – Estado-da-arte.

Radiação e luz em plantas

A Radiação solar se compõe de diferentes regiões espectrais (luminosas e não luminosas), todas elas com propriedades físicas distintas e algumas com mais incidência que outras na fisiologia de plantas. Em primeiro lugar a radiação solar (espectro completo) é variável em quantidade e qualidade ao longo do dia e ano, motivo que marca uma dinâmica complexa estímulo-resposta nos diferentes momentos do dia e temporadas ou estações do ano. Portanto, a radiação solar influencia durante a vida toda dos organismos, cobrindo etapas vitais: germinação, crescimento, maturação, reprodução, etc. (Grant, 1997).

A radiação solar é percebida nas plantas por meio de receptores (fotorreceptores) que são sensíveis a fótons de energia e captam as diferentes bandas de ondas incidentes sobre o tecido que os conter para dar início aos correspondentes sistemas de resposta que serão mencionados na sequência. Antes que isso, é preciso entender a composição do espectro solar, as bandas de ondas significantes são caracterizadas na **tabela 1.1**, baseado na faixa do seu comprimento de onda.

Tabela 1.1. Distribuição da radiação solar por bandas espectrais.

Cumprimento de onda (nm)	Denominação
280-230	UVB
350-500	UVA-B e Violeta
400-700	Radiação fotossinteticamente ativa
700-800	Vermelho distante
800-1100	Infravermelho próximo

Fonte: Elaborado pelo autor com base em (Grant, 1997).

Respostas da planta são avaliadas levando em consideração o fluxo de radiação que estas recebem, lembrando também que regiões com comprimento de onda menor e.g. UV e violeta, são mais energéticas que as regiões com comprimentos de onda maiores e.g. infravermelho próximo. Isto é muito importante em termos biológicos, porque bandas com comprimentos de onda curtos contribuem na produção, modificação e/ou destruição de componentes bioquímicos na planta (Grant, 1997).

Radiação ultravioleta em plantas

Radiações UV (ver na **tabela 1.2**) são consideradas um fator de estresse para o crescimento vegetal devido ao excesso de energia excitante que leva à produção de espécies reativas de oxigênio em organelas celulares. Radiação UVA é a menos absorvida pelo ozônio atmosférico e é a banda mais abundante na superfície, UVB é altamente filtrada pelo ozônio porém, consegue ter um grande impacto fisiológico, por último, UVC é a banda mais prejudicial por ser ela a mais energética, mas também sua presença é quase nula nos ecossistemas terrestres. Criptocromo (**figura 1.3**) é um fotorreceptor de tipo proteico responsável pela captação de luz azul-violeta e parte do espectro UV, também, clorofilas conseguem absorver parte dessa radiação em menor proporção e finalmente, carotenoides e flavinas são possíveis receptores (**figura 1.4**) (Grant, 1997).

Tabela 1.2. Composição do espectro UV.

Banda	Cumprimento de onda (nm)
UVA	315-400
UVB	280-315
UVC	100-280

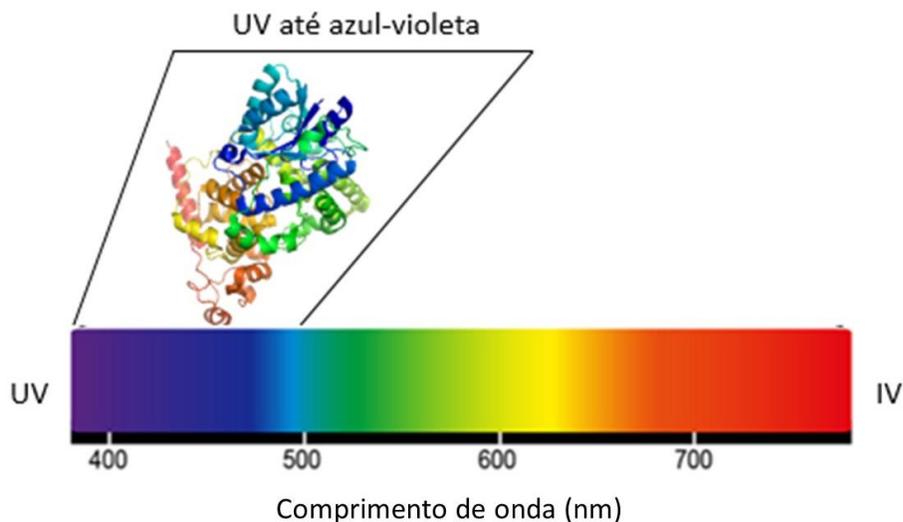
Fonte: Elaborado pelo autor com base em Stapleton, 1992.

Diversos autores descrevem adaptações sistêmicas dirigidas ao processamento de estímulos luminosos e resposta defensiva à radiação UV, as respostas adaptativas variam desde o nível anátomo-morfológico, metabólico e molecular. Os vegetais pelo fato de não poderem se deslocar e evadir o dano das

radiações só tiveram opção de evoluir com adaptações que diminuem os efeitos adversos do seu entorno. Dentro das adaptações anátomo-morfológicas desenvolvidas por plantas destaca-se a orientação das folhas, o que é uma estratégia útil para diminuir o intercepto de radiação. Em plantas monocotiledôneas, por exemplo, as folhas com formato alongado e estreito recebem menos radiação que as folhas mais largas e horizontais das plantas dicotiledôneas (Carrasco-Ríos, 2009; Dou & Niu, 2019).

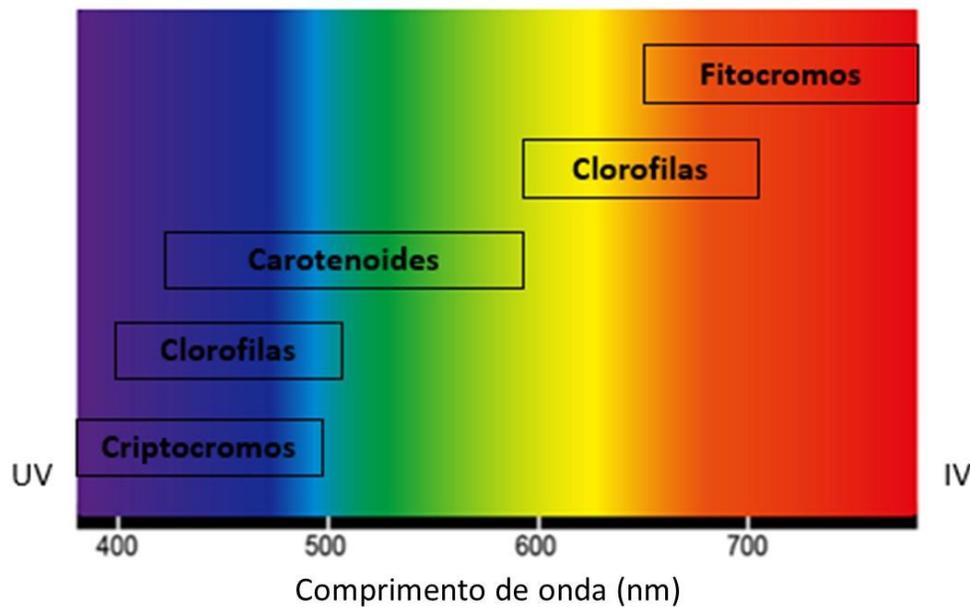
De forma semelhante, plantas com maior exposição aos raios UVB, por exemplo, no caso da alta montanha, os vegetais apresentam caules e galhos curtos. Estudos associam radiação UVB com oxidação de fito hormônios indutores do tamanho celular, tais como o ácido indolilacético. Na soja, estudos demonstram uma menor área foliar ante a exposição UVB, possivelmente pela redução da extensibilidade da parede celular, evidencia-se aumento do ácido ferúlico e inibição da divisão celular nos epitélios, assim como também em outros modelos de estudo como o trigo ou o pepino. Finalmente, aumento na produção de ceras na superfície foliar e mudanças na sua composição conseguem aumentar a reflexão de radiação incidente e proporciona maior resistência (Carrasco-Ríos, 2009).

Figura 1.3. Criptocromo, fotorreceptor de luz azul-violeta.



Adaptada de Brautigam, C.A., *et. al.* – Protein Data Base.

Figura 1.4. Espectro de ação de alguns fotorreceptores.



Adaptada de González, 2008.

As mudanças metabólicas são relacionadas com três processos fundamentais na dinâmica fisiológica vegetal, *i.e.*, fotossíntese, síntese de metabolitos secundários e desintoxicação de espécies reativas do oxigênio. A radiação UVB compromete diretamente o processo fotossintético, devido principalmente a desnaturalização das proteínas D1 no complexo fotossintético PSII, isto porque os fótons de alta energia geram rearranjos estruturais nas cadeias proteicas inviabilizando seu funcionamento, seguidamente o descontrole no fluxo de elétrons leva na oxidação da maquinaria fotossintética. Como resposta adaptativa foram observadas algumas mudanças subcelulares tais como, diminuição do número de grânulos e menor número de tilacóides por grânulos que se relaciona com uma maior capacidade de retenção dos pigmentos fotossintéticos (Carrasco-Ríos, 2009).

A síntese de metabolitos secundários é descrita em diferentes trabalhos os quais explicam que um aumento na expressão de alguns compostos orgânicos de estrutura variável conseguiria neutralizar ou pelo menos minimizar o dano da radiação UVB e das posteriores reações que causa. Metabolitos secundários

como fenóis e flavonoides se acumulam nas células da epiderme de várias espécies vegetais e, por serem compostos que absorvem radiação entre 280-360 nm, reduzem o efeito deletério da luz UV-B. Os terpenoides estão incluídos também na lista de compostos com uma marcada presença quando radiação UV é elevada, dentro desse grupo encontram-se os carotenoides, que são pigmentos amplamente descritos no seu rol fotoprotetor. De forma semelhante, alcalóides (compostos reconhecidos pelas suas propriedades farmacológicas) e fenilpropanoides (metabólitos secundários de tipo fenólico) participam em funções biológicas fundamentais como regulação hormonal e defesa, mas também, cumprem um papel na proteção frente UV, especialmente os flavonoides já mencionados (Carrasco-Ríos, 2009; Dou & Niu, 2019; Mao et al., 2017).

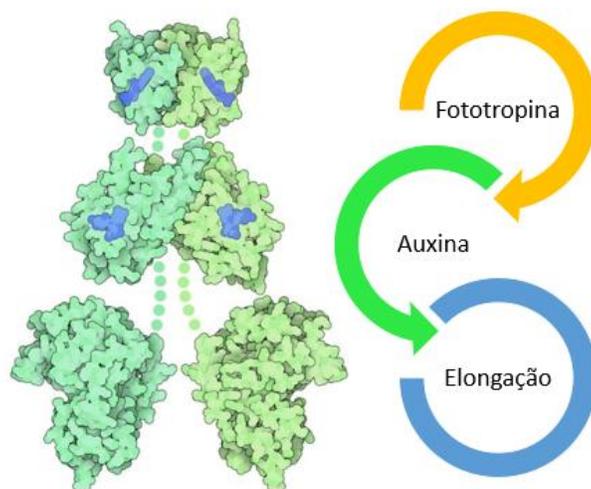
Comumente na horticultura, diferentes espectros e intensidades de luz são usados para influenciar as características do produto, como morfologia da planta, metabolismo secundário e floração. Assim é o caso do cultivo de Cannabis, onde, Existe a prática de aumentar a intensidade de UV causando uma maior expressão de canabinóides, que podem desempenhar um papel na proteção da planta a nível bioquímico, mas também são de grande interesse pela qualidade que conferem ao produto (Eichhorn Bilodeau et al., 2019).

Um modelo vegetal amplamente estudado que apresenta alta expressão de Tocoferol, poliaminas e flavonóides após exposição controlada aos raios UV-A e UV-B é *Arabidopsis thaliana*. Nesse caso, os tocoferóis atuam na captação de espécies reativas de oxigênio (ROS), muitas delas geradas em membranas celulares ricas em lipídios, que são sensíveis à luz e tendem a se oxidar facilmente. Os flavonóides desempenham um papel importante na absorção da radiação ultravioleta e também possuem propriedades antioxidantes; até mesmo, a quercetina é suspeitada como um composto protetor do DNA porque é encontrada em maior quantidade no núcleo da célula, lembrando que o DNA é particularmente sensível à radiação UV-B, pois os fótons do tipo ultravioleta promovem transições $\pi-\pi^*$ nas bases nitrogenadas que compõem os nucleotídeos, alterando diretamente o estabelecimento normal das ligações químicas. (Carrasco-Ríos, 2009; Hectors et al., 2014).

Luz violeta-azul em plantas.

Radiação *violeta-azul* é percebida por criptocromos e Fototropinas (**figura 1.5**), que são basicamente receptores de luz azul (400-500 nm). O criptocromo já anteriormente mencionado, controla funções tais como alongamento celular, floração fotoperiódica e abertura estomática, assim mesmo, regulam o desenvolvimento do cloroplasto e o acúmulo de antocianina nas plantas. Fototropinas regulam alguns processos em comum com os criptocromos como o estiolamento de mudas, fototropismo, movimento do cloroplasto, ritmos circadianos, crescimento de raízes e abertura estomática, *etc.* Ao falar da influência da luz azul é difícil pensar nela como uma banda isolada que impacta na fisiologia vegetal, como já se explicou com a radiação UV, isso é dado pelo alto grau de coordenação das respostas fisiológicas para uma combinação de luz azul e vermelha. Plantas crescidas sob luz azul mostram menos irregularidades em biomassa total e longitude dos caules em comparação com plantas crescidas sob luz multiespectral. Além disso, folhas de plantas sob luz azul mostram ser mais grossas e com maior densidade de estomas que plantas semelhantes sob luz vermelha, fato que pode estar em concordância com a alta absorvância da luz azul pelos pigmentos fotossintéticos (clorofila a/b) e uma maior eficiência na fotossínteses, como também um incremento nos carotenoides (papel fotoprotetor) (Landi et al., 2020).

Figura 1.5. Fototropina, receptor de luz azul-violeta.



Adaptada de Goodsell, 2015.

Finalmente a influência da luz vermelha na fotossíntese da planta desencadeia um grande transtorno fisiológico que é causado por estômatos não responsivos, baixa capacidade fotossintética, baixa eficiência de uso do nitrogênio fotossintético, *etc.* (Landi et al., 2020).

Radiação infravermelha.

Radiação infravermelha próxima (começando nos 800 nm) é ainda uma banda com um grau de influência na fisiologia vegetal, mesmo quando não é percebido visualmente e quando não faz parte das bandas luminosas mais energéticas. Poucos estudos detalham a dinâmica que exercem os raios infravermelhos na fisiologia vegetal, no entanto, o trabalho de DEUTCH & RASMUSSEN, 1974 procurou observar as diferenças no crescimento e desenvolvimento de diferentes espécies cultiváveis sob diferentes lâmpadas com espectros luminosos variáveis, um dos tratamentos testados estava composto por 27% de luz visível (405-750nm) e 73% de infravermelho (acima de 750nm) proporcionado por uma lâmpada de mercúrio. Os autores descrevem plantas com desenvolvimento normal e aparência saudável crescidas em condições com suficiente radiação infravermelha em comparação com tratamentos com baixa proporção de infravermelho, parâmetros como altura, número de ramificações e conteúdo de clorofila foram avaliados também. O processo de floração mostrou a maior demora em grupos com maior exposição ao infravermelho, isto é explicado porque o infravermelho simula dias mais cumpridos, quando os modelos vegetais estudados iniciam floração em dias mais curtos. Finalmente os autores do estudo defendem o poder estimulante do infravermelho na fisiologia vegetal, mesmo quando não é bem conhecido o mecanismo de captação e processamento do estímulo, o fitocromo é mencionado como possível ator na captação de parte da radiação (porção mais próxima), porém, não descartam o possível efeito térmico ao nível dos tecidos internos dos órgãos expostos (DEUTCH & RASMUSSEN, 1974).

Glycine max (L.) Merr.

A Soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é uma planta originária da Ásia, possivelmente do Vale do Rio Amarelo, na China, é uma espécie da família Fabaceae de grande importância agrônômica a nível mundial pelos seus grãos, as quais são muito ricas em óleo e proteínas. A soja é uma leguminosa de verão e a maior parte da produção ocorre em zonas temperadas dos hemisférios norte e sul. No hemisfério norte é comum encontrar cultivares da temporada iniciando em maio o começo do junho, já no hemisfério sul as safras são plantadas em novembro (Burton, 1997).

A soja cultivada tem hábito de crescimento ereto (**figura 1.7**), enquanto a soja selvagem (*Glycine soja*) tende a ser rasteira (**figura 1.8**), e muitos dos tipos de soja desenvolvidos para uso forrageiro também são rastejantes. A soja pode ter uma única haste principal sem ramificação ou vários graus de ramificação. A resposta de ramificação é fortemente influenciada pela densidade populacional da planta, assim, mais ramificação ocorre em baixas densidades de plantas (Burton, 1997).

Figura 1.7. Exemplos da soja doméstica (*Glycine Max*).



Obtida pelo autor.

Figura 1.8. Exemplos da soja selvagem (*Glycine soja*).



Obtida pelo autor.

Estudos pioneiros da ação de radiações na bioquímica da soja foram feitos ainda na década dos 90's, assim foi relacionada a concentração de flavonoides glicosilados e carotenoides em espécimes de *G. max* sob lâmpadas emissoras de UV baseados em técnicas espectrofotométricas. Nesse momento as descobertas foram explicadas como um mecanismo de preservação de atividade fotossintética, correlacionando maior produção daqueles metabólitos com uma maior tolerância aos raios UV-B (Middleton & Teramura, 1993). Estudos seguintes mostram que o crescimento e desenvolvimento da soja são influenciados negativamente pelos raios ultravioleta. Basicamente, a exposição à radiação UV-A/B condiciona menor biomassa, menor tamanho de planta e menor rendimento (número e peso de sementes). O anterior se explica porque esse fator de estresse induz a geração de espécies reativas do oxigênio (ROS) (como em outros modelos de plantas) e a maquinaria bioquímica enzimática e do metabolismo secundário também deve se

concentrar na proteção. Foi reportada uma maior atividade e concentração de Superóxido dismutase, Guaiacol peroxidase, Ascorbato peroxidase, Glutathione redutase, ácido ascórbico e α -tocoferol nos tratamentos expostos a UV (Baroniya et al., 2013).

A tecnologia de diodos emissores de luz (LED: light-emitting diode) favorece de forma mais simples o estudo da influência de qualquer banda de onda o comprimento de onda específico dentro do espectro visível e infravermelho próximo na bioquímica da soja, estudos deste tipo demonstram por exemplo, que a luz azul (450-495 nm) é o tipo de iluminação mais efetiva para a síntese de compostos flavonoides (daidzina, glicitina, genistina, daidzeína, glicerina e genisteína) estimulando a fenilalanina amônia-liase em comparação com bandas de tipo verde (510-550 nm) e controle (Obyedul Kalam Azad et al., 2018).

Defesa da soja frente a herbivoria.

As plantas desenvolvem diferentes mecanismos de proteção para evadir a herbivoria, entre eles a produção de compostos que neutralizam os ataques e mantem as infestações ao mínimo. Os compostos orgânicos voláteis antes mencionados são um grupo destacado no controle de inimigos, sejam eles, lepidópteros ou afídios por meio de deterrência direta com compostos de tipo sesquiterpeno, hemiterpeno ou voláteis de folhas verdes, ou atraindo inimigos herbívoros, como vespas parasitas, artrópodes predadores e possivelmente pássaros insetívoros (Unsicker et al., 2009).

Os estudos de deterrência de insetos praga com plantas de soja estimuladas com algum tipo de radiação são mínimos, limitando-se só a radiações altamente enérgicas de tipo UV. Por exemplo, ensaios foram feitos em condições de exclusão de radiação UV solar com filtros, onde as plantas de soja foram condicionadas a 5, 10 ou 30 dias com radiação UV atenuada, os investigadores encontraram um aumento na concentração de flavonoides nas plantas com total acesso a UV e concentrações menores em plantas atenuadas, contudo, não encontraram diferenças na preferência alimentar de *Spodoptera frugiperda* nos diferentes tratamentos e controles. De forma semelhante, o inimigo natural *Cotesia*

marginiventris (Hymenoptera) foi atraída até as plantas estudadas sem mostrar preferência por nenhum grupo tratado ou controle. Os resultados desse estudo levantam grande interesse e motivam a continuar estudando a influência de radiações específicas no perfil de compostos defensivos da soja (Winter & Rostás, 2008).

Em estudos subsequentes conduzidos sob condições semelhantes de exclusão de UV no campo, uma diminuição significativa na herbivoria de *S. frugiperda* foi encontrada. Os autores reconhecem um possível efeito mediado pela fitoquímica vegetal, onde vários metabólitos (principalmente compostos fenólicos) causados pela radiação solar UV-B têm dupla função, atuando como fotoprotetores e defesas anti-herbívoros (Mazza et al., 2012).

Resistência de S. frugiperda a inseticidas e culturas transgênicas.

O uso extenso de inseticidas e culturas transgênicas com tecnologia Bt exerceu uma pressão seletiva intensa sobre *S. frugiperda*, que em resposta desenvolveu resistência a diferentes defensivos e variedades geneticamente modificadas. Em estudos genômicos, cepas de *S. frugiperda* (OP e PYR) do Brasil resistentes ao clorpirifós apresentaram mutações em genes responsáveis pela resistência a organofosforados (*ace-1*) e piretróides (VGSC). Além disso, foi encontrada uma superexpressão de glutathione S-transferases, citocromo P450s e carboxilesterases relacionada à desintoxicação e resistência metabólica nessas cepas (Carvalho et al., 2013).

Por outro lado, a efetividade das variedades de soja geneticamente modificada é uma preocupação adicional. Duas variedades Bt (MON 87701 e MON 89788) que expressam a proteína Cry1Ac foram expostas a três espécies do gênero *Spodoptera* em casa de vegetação e em laboratório, encontrando eficácia intermediária no controle de *S. frugiperda* e baixa para *Spodoptera cosmioides* e *Spodoptera eridania*. Os autores destacaram a importância de integrar outras estratégias de controle desses insetos nos cultivos transgênicos estudados (O. Bernardi et al., 2014).

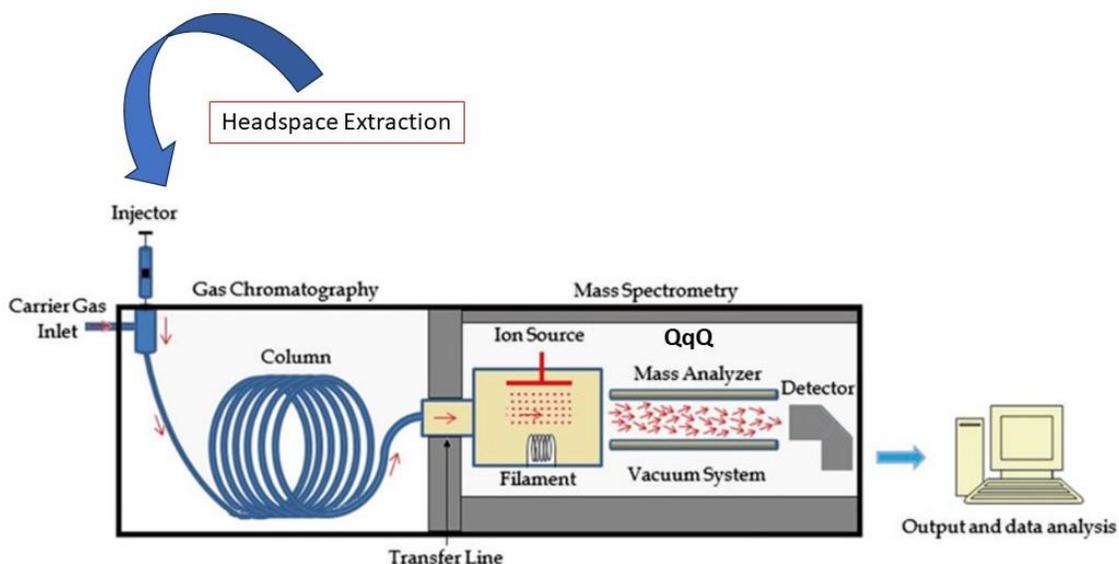
Estudo de compostos orgânicos voláteis por HS-GC-MS

A Cromatografia gasosa (GC do inglês) é uma técnica bem estabelecida e apropriada para análises qualitativas e quantitativas de COVs foliares de plantas. O instrumento GC (**Figura 1.9**) consiste em um forno com temperatura controlada, capaz de aumentar rapidamente de forma reprodutível desde a temperatura ambiente até mais de 300 °C. O instrumento também abriga uma série de sistemas de controle de pressão e fornece as interfaces para a introdução de amostras e detectores analíticos. Dentro do forno há uma coluna tubular aberta (30–60 m), contendo um filme de fase estacionária capaz de separar os compostos de acordo com suas propriedades físicas e químicas. Uma extremidade da coluna do cromatógrafo a gás é conectada à entrada (geralmente um injetor) e a outra extremidade (saída) é conectada ao detector. As amostras são introduzidas por meio de uma entrada aquecida e, em seguida, transportadas pelo fluxo de gás de arraste (geralmente hélio) através da coluna. Cada um dos compostos interage de maneira diferente com a fase estacionária da coluna e, portanto, é particionado diferencialmente entre a fase estacionária e a fase móvel (hélio). Um aumento na temperatura altera o coeficiente de partição, resultando, em última instância, no composto sendo completamente movido para a fase móvel e sendo arrastado para o detector, por meio de uma linha de transferência aquecida. Assim, diferentes compostos saem da coluna em tempos diferentes (conhecidos como tempo de retenção) e, após saírem da coluna, podem ser identificados e quantificados por um espectrômetro de massa ou outro detector. Os sistemas modernos de cromatografia a gás são altamente reprodutíveis e, portanto, tanto os tempos de retenção característicos (conhecidos como índice de retenção) quanto o padrão de fragmentação de massa podem ser usados para identificar e quantificar os compostos injetados (Materić et al., 2015).

A análise cromatográfica acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), geralmente, requer uma etapa prévia de preparo de amostra, na qual os voláteis são isolados da matriz e, se possível, pré-concentrados. Diferentes técnicas baseadas na extração por solvente surgiram nos últimos anos para amostragem

de voláteis. No entanto, as vantagens inegáveis dos métodos baseados em headspace (HS), como procedimentos amigáveis do ambiente, fáceis de implementar e versáteis, promoveram a sua aplicação em diferentes campos (Soria et al., 2015).

Figura 1.9. Esquema geral do sistema GC-MS.

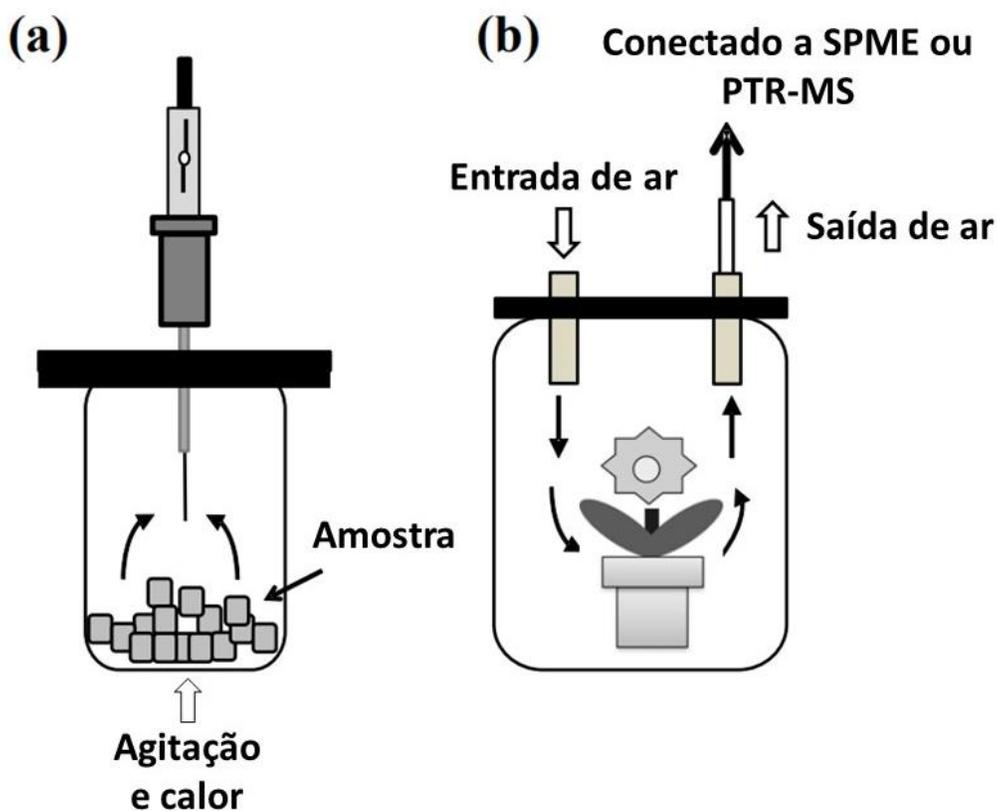


Adaptada de Emwas et al., 2015.

O termo “headspace” (HS) refere-se à fase gasosa (em equilíbrio ou não com a matriz) acima de uma amostra sólida ou líquida quando esta é colocada em um recipiente fechado (geralmente um frasco lacrado com um septo). A amostragem HS é geralmente classificada em dois tipos: estática (S-HS) ou dinâmica (D-HS). Na extração S-HS (**Figura 1.10 (a)**), esse sistema é aquecido por um determinado período de tempo a uma temperatura definida e os voláteis são distribuídos entre a fase da amostra e a fase gasosa até que o equilíbrio seja alcançado. Uma pequena fração do HS é posteriormente removida e, por manter somente compostos voláteis, pode ser analisada diretamente por CG. A extração S-HS também pode ser realizada em condições de não equilíbrio, desde que os parâmetros operacionais sejam cuidadosamente definidos para análise reprodutível. Por outro lado, a técnica D-HS (**Figura 1.10 (b)**), ao contrário do S-HS, têm a característica de usar um fluxo de gás inerte para extração contínua de

compostos voláteis de uma amostra e sua pré-concentração adicional em um adsorvente ou armadilha. A liberação de compostos voláteis dessa armadilha, geralmente realizada pelo aumento da temperatura, permite sua transferência para o sistema cromatográfico para posterior análise (Soria et al., 2015; Y. Wang et al., 2008).

Figura 1.10. Extração por *Headspace*. (a) *Headspace* estático, (b) *Headspace* dinâmico.



Adaptada de Iijima, 2014.

1.2. OBJETIVOS.

Objetivo geral

Analisar o efeito de diferentes radiações do espectro UV-Vis-IR no perfil químico de compostos orgânicos voláteis de *Glycine max* (L.) Merr. e sua ação na preferência alimentar do inseto praga *Spodoptera frugiperda*.

Objetivos específicos

1) Cultivar três genótipos de soja sendo: a) cultivar selvagem; b) cultivar comercial convencional; e c) cultivar comercial transgênico.

2) Realizar ensaios fotoquímicos expondo os cultivares de soja a diferentes fontes de radiação UV-Vis-IR.

3) Avaliar o efeito dos genótipos previamente expostos a radiações UV-Vis-IR sobre ensaios de preferência alimentar do inseto *S. frugiperda*.

4) Sobrepor e comparar os perfis químicos dos compostos orgânicos voláteis aos ensaios inseticidas.

2 – MATERIAIS E MÉTODOS

Sementes de soja

As sementes de soja do cultivar comercial-convencional **BRS 284** foram cedidas pela Di Solo Sementes (São Carlos-SP), para o cultivar selvagem **PI 407270** (*Glycine max* subsp. soja (Siebold & Zucc.) H. Ohashi) foram cedidas pelo Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Soja (Londrina-PR), finalmente para o cultivar comercial-transgênico **RR2 PRO Intacta** as sementes foram adquiridas no comércio de São Carlos-SP (**figura 2.1**).

Figura 2.1. Sementes de soja cultivadas.



Obtida pelo autor.

Cultivo vegetal

As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, no Jardim Experimental do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos, no município de São Carlos, São Paulo, região sudeste de Brasil (**Figura 2.2**), coordenadas: -21.983181832589356 S, -47.879889301290824 O, na metade do

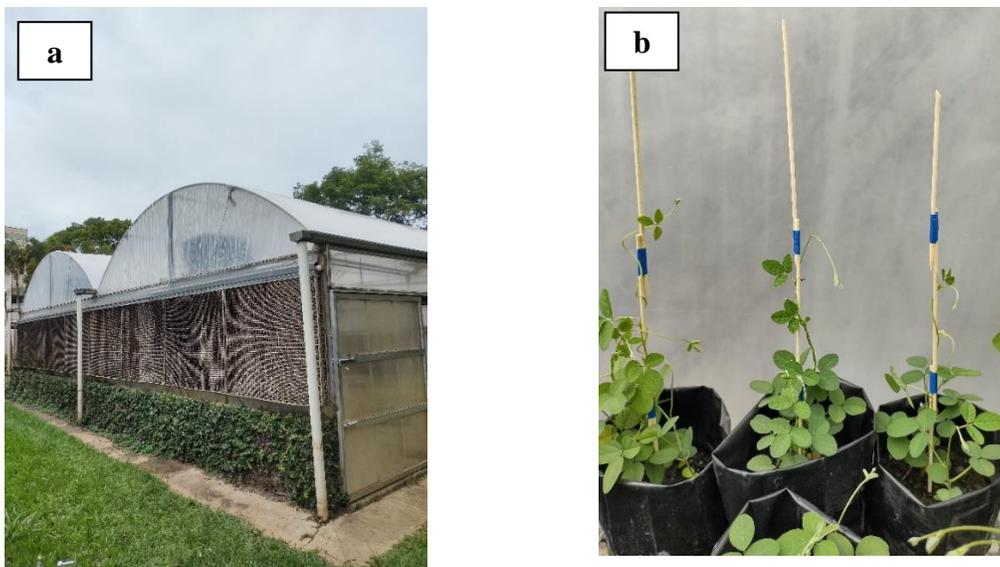
verão (janeiro) de 2022. Todas as plantas foram cultivadas em condições homogêneas de temperatura ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) e fotoperíodo natural de 14 h de luz e 10 h de escuridão em sacos plásticos de 4.5 L preenchidos com uma mistura de terra vegetal (carvão ativado, húmus de minhoca, casca de pínus e terra preta) e areia grossa na proporção 2:1 com irrigação e umidade ambiental regular (**Figura 2.3**).

Figura 2.2. Localização da área de estudo.



Adaptada de Lorenzeto, 2006 por meio de Wikipedia.org

Figura 2.3. Casa de vegetação (a) e cultivo (b).



Obtida pelo autor.

Irradiação UV-Vis-IR

Uma vez as plantas alcançaram o estágio de desenvolvimento V4 (presença de quatro folhas trifoliadas), foram levadas ao laboratório uma noite antes de entrar na câmara de exposição UV-Vis-IR com exclusão de radiação externa. A câmara (**Figura 2.4**) foi equipada com lâmpadas LED (**Figura 2.5**) configuradas em 4 longitudes de onda (**Tabela 2.1**) por meio de um módulo de controle externo (**Figura 2.6**). Os três fenótipos em estudo foram expostos aos tratamentos (radiações) por período de 2 h cada grupo em condições constantes de temperatura (27°C) e humidade (51%). A quantidade de luz emitida pelo sistema de LED's, conhecida como Densidade de Fótons de luz (DFL) foi quantificada com ajuda de um radiômetro *Quantum meter MQ-500* (Apogee Instruments Inc.). Após irradiação as plantas foram mantidas no laboratório junto com as plantas controle (não irradiadas), fora da câmara UV-Vis-IR sob uma exposição a luz artificial convencional até o momento da coleta 24 horas depois.

Figura 2.4. Câmera de irradiação, coberta com lona preta para bloqueio de luz exterior.



Obtida pelo autor.

Figura 2.5. Placas LED instaladas no teto da câmara de irradiação.



Obtida pelo autor.

Figura 2.6. Modulo de controle de irradiação.



Obtida pelo autor.

Tabela 2.1. Condições de irradiação e controle.

Tratamento	Cumprimento de Onda (nm)	DFL ($\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$)
Violeta	400	13
Vermelho	630	38
Infravermelho	850	Indeterminado
Full espectro	400-850 Aprox.	11
Controle	Luz ambiental (400-850 Aprox.)	3

Fonte: Elaborado pelo autor.

Coleta e conservação de amostras

Um período de 24 h após exposição, folhas saudáveis e morfológicamente semelhantes foram coletadas do terceiro conjunto de folhas trifoliadas, para serem congeladas instantaneamente com nitrogênio líquido e armazenadas separadamente por tratamentos e réplicas em sacos de papel alumínio, em ultra-freezer a -80°C .

Preparo de amostra para análise HS-GC-MS.

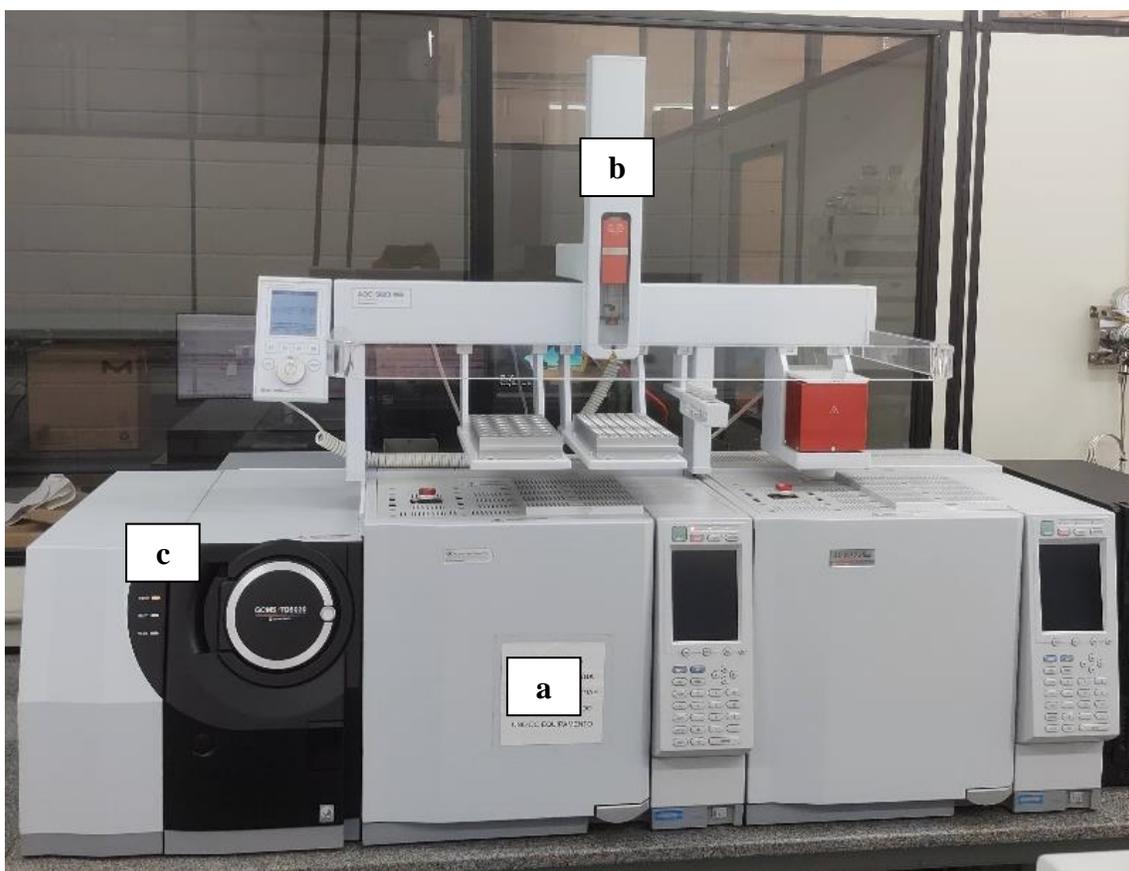
As amostras foram retiradas do ultra-freezer a -80°C e maceradas com nitrogênio líquido até ficar um pó de textura fina, imediatamente foram pesados 200 mg de amostra dentro de um vial de 20 ml para Headspace, da mesma forma foram colocados no vial, 300 mg de Na_2SO_4 anidro que serviu como dessecante. Após homogeneizar manualmente o conteúdo do vial, foram adicionados 10 μL do padrão interno Levomenthol na concentração de 1 mg/ml.

Análise por cromatografia gasosa associada a espectrometria de massa (GC-MS)

As amostras foram analisadas por HS-GC-MS com Cromatógrafo a Gás Multidimensional Shimadzu MDGC 2010AF Plus (a) com injetor headspace AOC-5000 (b) e detector Espectrômetro de Massas Sequencial TQ8030 (c) (**Figura 2.7**). O sistema de injeção Headspace foi testado experimentalmente sob

diferentes condições de extração até encontrar as condições ótimas de extração descritas na **tabela 2.2**.

Figura 2.7. (a) Cromatógrafo a Gás Multidimensional Shimadzu MDGC 2010AF Plus, (b) injetor headspace AOC-5000, (c) detector Espectrômetro de Massas Sequencial TQ8030.



Obtida pelo autor.

Tabela 2.2. Parâmetros de extração Por Headspace para análise de compostos orgânicos voláteis de folhas de soja.

Parâmetro	Seleção
Método	HS-GCMS
Ciclo	HS-Inj
Seringa	2.5 mL-HS
Volume de amostra	1.00 mL
Temperatura de incubação	70.0 °C

Tempo de incubação	00:30:00
Velocidade de agitação	250 rpm
Duração de cada agitação	3 s
Duração de cada descanso entre agitação	2 s
Temperatura da seringa	70.0 °C
Velocidade de preenchimento	100 µL/s
Atraso de pull-up	1 s
Puerto de injeção	GC Inj1
Velocidade de injeção	500 µL/s
Atraso de pre-injeção	0 ms
Atraso pós-injeção	0 ms
Lavado da seringa	00:05:00
Tempo de corrida do GC	00:30:00

Fonte: Elaborado pelo autor.

O cromatógrafo a gás foi equipado com uma coluna DB-5MS UI Agilent (30m x 0.250mm, 0.25 Micron) usando Hélio como gás transportador. Cada experimento foi realizado em triplicata seguindo as condições cromatográficas e de aquisição de dados descritos na **tabela 2.3**. Os dados obtidos foram processados com o *software* do fabricante *CGMS Postrun Analysis* e Microsoft Excel para correção de área baseado no padrão interno Levomenthol. A identificação dos compostos foi feita por comparação do padrão de fragmentação e intensidade de íons com a base dados para GC/MS NIST17 do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia dos Estados Unidos (fornecido pelo fabricante do equipamento) e determinação do índice de retenção dos compostos. Para determinar o índice de retenção dos compostos foi injetado em triplicata uma mistura padrão de alcanos saturados C7 - C40 SIGMA – ALDRICH (49452-U) nas mesmas condições cromatográficas descritas na **tabela 2.3**. O cálculo dos índices de retenção (RI) foi feito usando a **Formula 1**, onde: n é o número de átomos de carbono n -alcano que elui antes do composto de interesse (seu tempo de retenção é t_{Rx}); t_{Rn} e t_{RN} são tempos de retenção dos n -alcanos com números

de carbono n e N, respectivamente, eluindo imediatamente antes e depois do analito de interesse (Stashenko & Martínez, 2010).

Formula 1. Índice de retenção.

$$LRI = 100n + 100 (tRx - tRn)/(tRN - tRn)$$

Fonte: Stashenko & Martínez, 2010.

Tabela 2.3 Parâmetros do GC-MS.

Parâmetros do GC	Seleção
Temperatura inicial do forno de coluna	30
Temperatura de injeção	250.0
Modo de injeção	Split
Modo de controle de fluxo	Pressão
Pressão	54.4 kPa
Fluxo total	9 mL/min
Fluxo de coluna	1.00 mL/min
Velocidade linear	35.9 cm/sec
Fluxo de Purga	3.0 mL/min
Split Ratio	5.0
Programa de temperatura do forno de coluna	30°C (3 min.), 30 – 250°C taxa de 10°C/min, 250°C (5 min.)
Parâmetros MS	
Temperatura da fonte de íons	290°C
Temperatura da interface	290°C
Tempo de corte do solvente	0 min
Voltagem do detetor	Relativo ao resultado do ajuste
Tempo de início (min)	0.00
Tempo final (min)	30.00
Modo de aquisição	Q3 Scan
Tempo de evento (seg.)	0.300

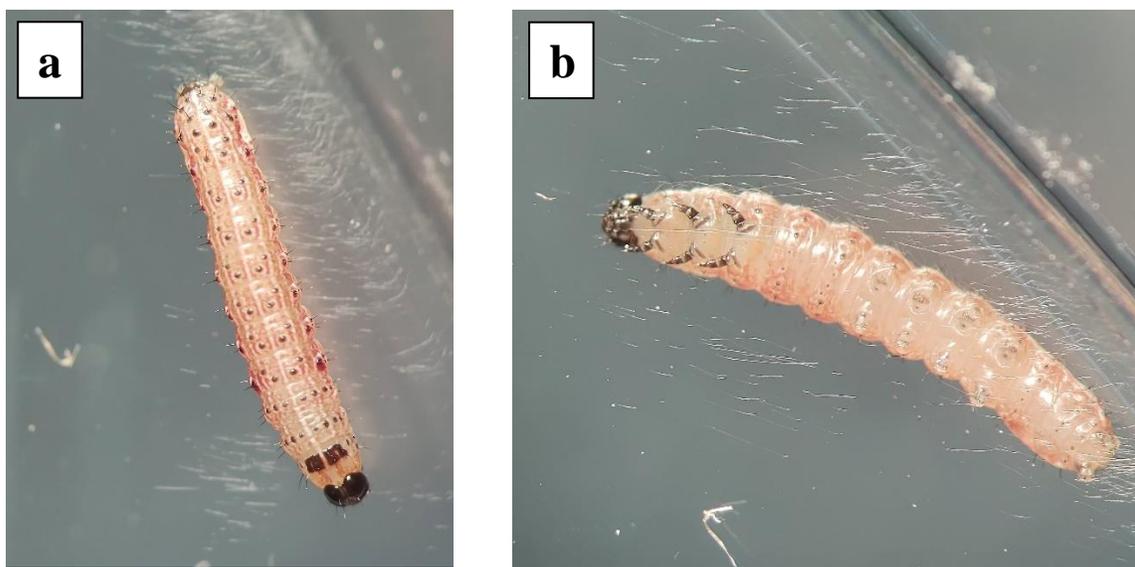
Velocidade de Scan	2500
m/z inicial	45.00
m/z final	700.00

Fonte: Elaborado pelo autor.

Cultivo de S. frugiperda

Lagartas de *S. frugiperda* foram adquiridas comercialmente na empresa especializada *Pragas.com* (Rua Princesa Isabel, 575, Jardim Pacaembu, CEP: 13.424-586, Piracicaba – SP) em estágio ovo e foram incubadas a 24°C, umidade relativa à 60% e um fotoperíodo 12:12 até eclosão total. Seguidamente, os insetos foram individualizados em caixas de Petri e alimentados com dieta artificial a base de farinha de feijão branco até atingir o terceiro ínstar (**Figura 2.8**), que foi o estágio indicado para os testes biológicos (Jiménez R. et al., 2013). Em todo momento as condições de temperatura, umidade e luz foram controladas para garantir a homogeneidade da população.

Figura 2.8. *Spodoptera frugiperda*. (a) vista dorsal, (b) vista ventral.



Obtida pelo autor.

Efeito da radiação UV-Vis-IR na preferência alimentar de S. frugiperda

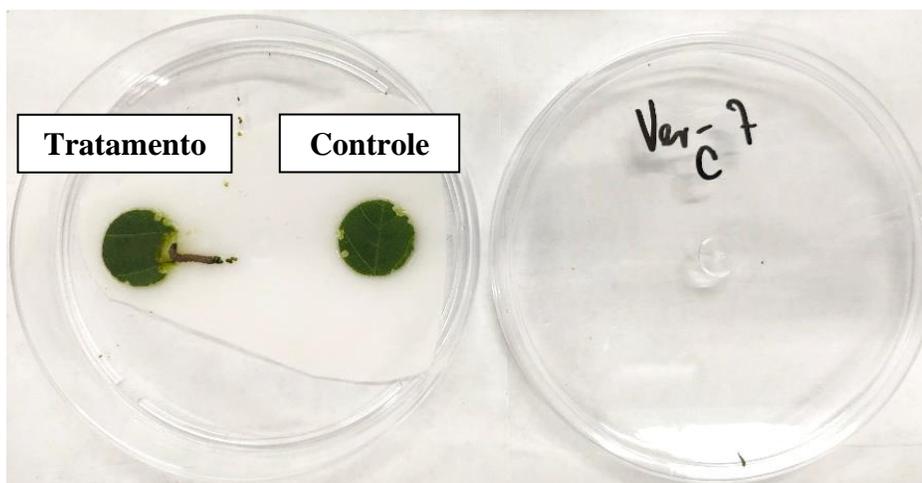
Foram realizados ensaios de preferência alimentar com e sem chance de escolha empregando plantas de soja tratadas com radiação UV-Vis-IR e lagartas de *S. frugiperda* no instar L3 segundo o protocolo de Jiménez R. et al., 2013. Os testes de preferência para alimentação com e sem chance de escolha foram instalados em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições em cada teste.

Para os testes com chance de escolha, foram preparados discos foliares de 2,5 cm de diâmetro, os quais foram dispostos em placas de Petri de 11 cm de diâmetro sendo comparados separadamente em cada placa de Petri discos foliares de plantas induzidas por UV-Vis-IR vs. plantas controle dos diferentes genótipos após 24 horas de irradiação. Em cada placa de Petri, usou-se um disco foliar de cada tratamento e um disco controle, dispostos de forma equidistante entre si. Em seguida, uma lagarta de terceiro instar de *S. frugiperda* foi liberada no centro da placa com o auxílio de um pincel fino (**Figura 2.9**).

O teste finalizou as 24 horas ou quando a lagarta de cada unidade de amostragem consumiu até 50% do disco foliar escolhido. Ao final do ensaio, a área foliar consumida foi quantificada utilizando-se o medidor de área foliar BioLeaf (Machado et al., 2016) com ajuda de um telefone Motorola G9 Plus equipado com câmera de 64 Megapixels.

O índice de deterrência (*ID*) foi calculado com a **Formula 1**, onde: *C* = Consumo de discos de folhas de controle e *T* = consumo de discos de folhas tratadas.

Figura 2.9. Testes de escolha.



Obtida pelo autor.

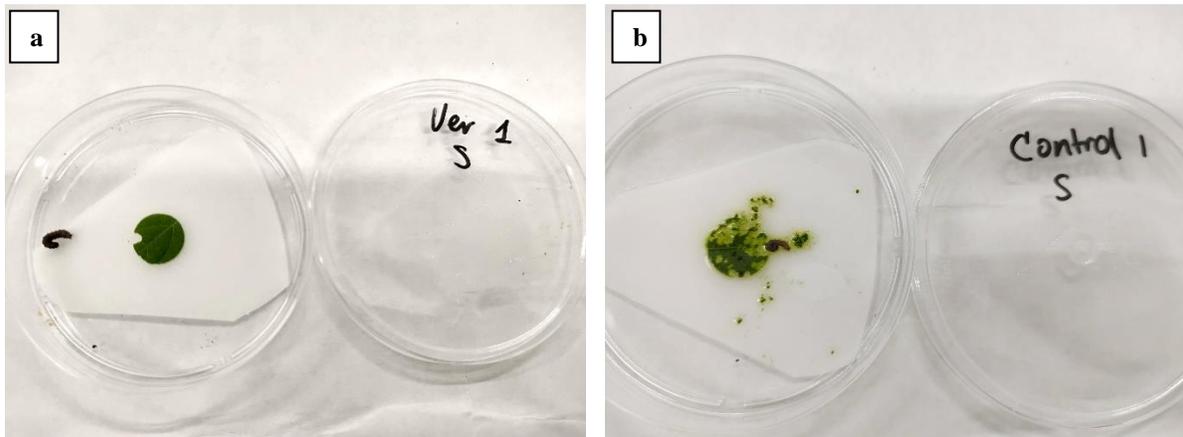
Formula 1. Índice de deterrência.

$$ID = [(C-T)/(C+T)] \times 100\%$$

Fonte: Jiménez R. et al., 2013.

No teste sem chance de escolha, apenas um disco foliar representando cada um dos tratamentos e controle foi disposto em uma placa de Petri de 9,0 cm de diâmetro, onde uma lagarta de terceiro instar de *S. frugiperda* foi liberada por meio de um pincel fino (**figura 2.10**). O teste finalizou quando a lagarta de cada unidade de amostragem consumiu até 50% do disco foliar escolhido ou as 24 horas após liberação da lagarta. Ao final do ensaio, a área foliar consumida foi quantificada utilizando-se o medidor de área foliar BioLeaf (Machado et al., 2016) com ajuda de um telefone Motorola G9 Plus equipado com câmera de 64 Megapixels. O índice de anti-apetitivo foi calculado com a **Formula 2**, onde: *C* = Consumo de discos de folhas de controle e *T* = consumo de discos de folhas tratadas.

Figura 2.10. Teste de não-escolha. (a) com disco tratado (b) com disco controle.



Obtida pelo autor.

Formula 2. Índice de anti-apetitivo.

$$ID = [(C-T)/(C+T)] \times 100\%$$

Fonte: Jiménez R. et al., 2013.

Análise estatístico.

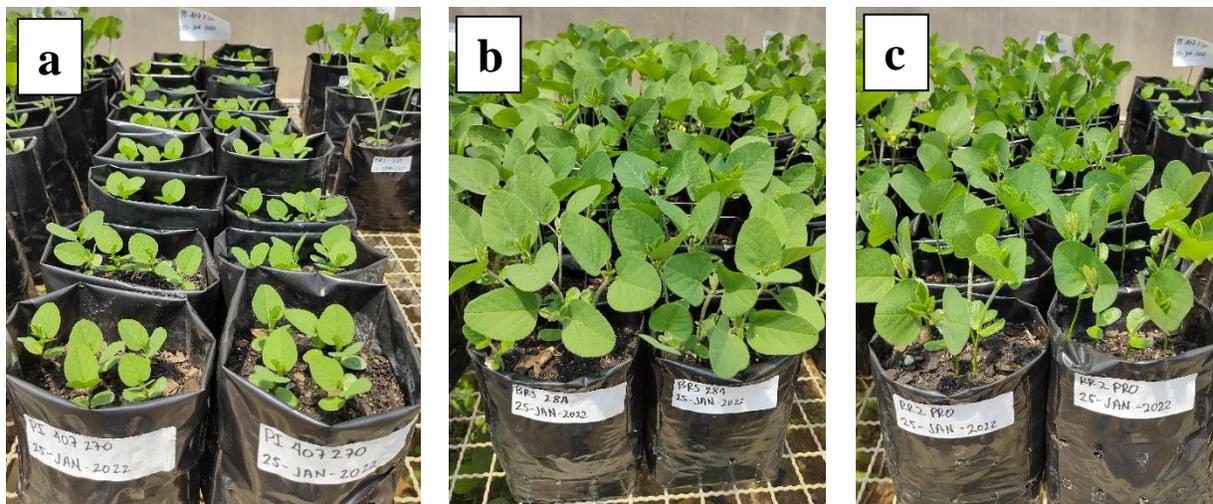
Os dados da atividade biológica foram tabulados com o *software* Microsoft Excel versão 2019. Análises estatísticos e gráficos foram preparados usando GraphPad Prism 8. Todos os dados foram expressos como a média \pm desvio padrão (DP) das repetições independentes em cada experimento. Os dados obtidos do estudo químico foram analisados usando a ferramenta *on-line* Metaboanalyst, com ela se realizou uma análise discriminante de mínimos quadrados parciais ou *Partial Least Squares - Discriminant Analysis* (PLS-DA) contendo gráficos de VIP score que servem para entender quais variáveis são responsáveis pela diferenciação nos dados. Por último, foram feitos mapas de calor que ajudaram na compreensão do efeito dos tratamentos sobre os grupos de *G. max*.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cultivo vegetal e estimulação UV-Vis-IR

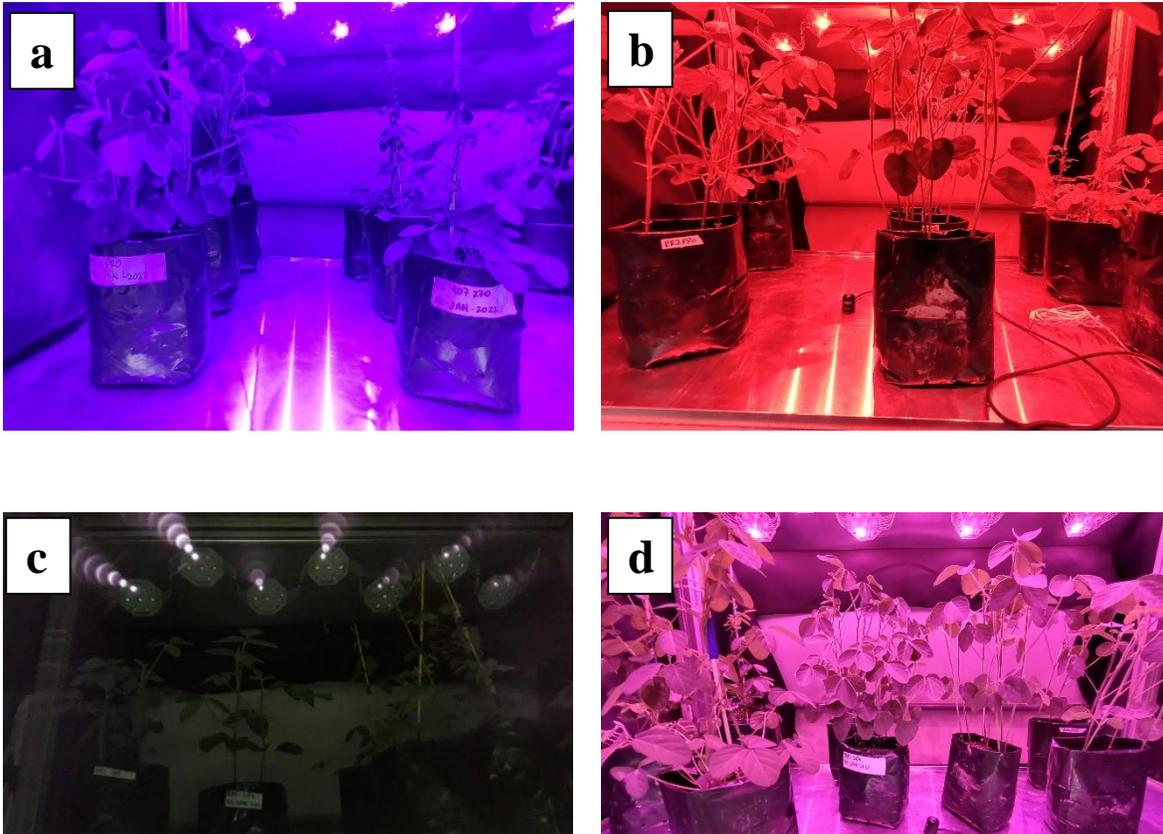
Cultivares de soja PI407270, BRS-284 e RR2 PRO foram estabelecidos com sucesso na temporada de janeiro-fevereiro de 2022, em casa de vegetação com temperatura média de 23°C, radiação solar média de 1532 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e umidade relativa média de 70%. Os exemplares dos cultivares comerciais cresceram uniformemente entanto que o cultivar selvagem apresentou uma morfologia de tamanho menor característica (**Figura 3.1**), não se identificou infestação de insetos praga interferentes no estudo. Irradiações foram feitas satisfatoriamente nos diferentes comprimentos de onda sob as condições preestabelecidas (**Tabela 3**) (**Figura 3.2**).

Figura 3.1. Cultivo de soja. (a) Cultivar selvagem (PI407270). (b) cultivar comercial convencional (BRS-284). (c) cultivar comercial transgênico (RR2 PRO).



Obtidas pelo autor.

Figura 3.2. Estimulação UV-Vis. (a) Violeta-400 nm, (b) Vermelho-630 nm, (c) Infravermelho-850 nm. (d) Full espectro.

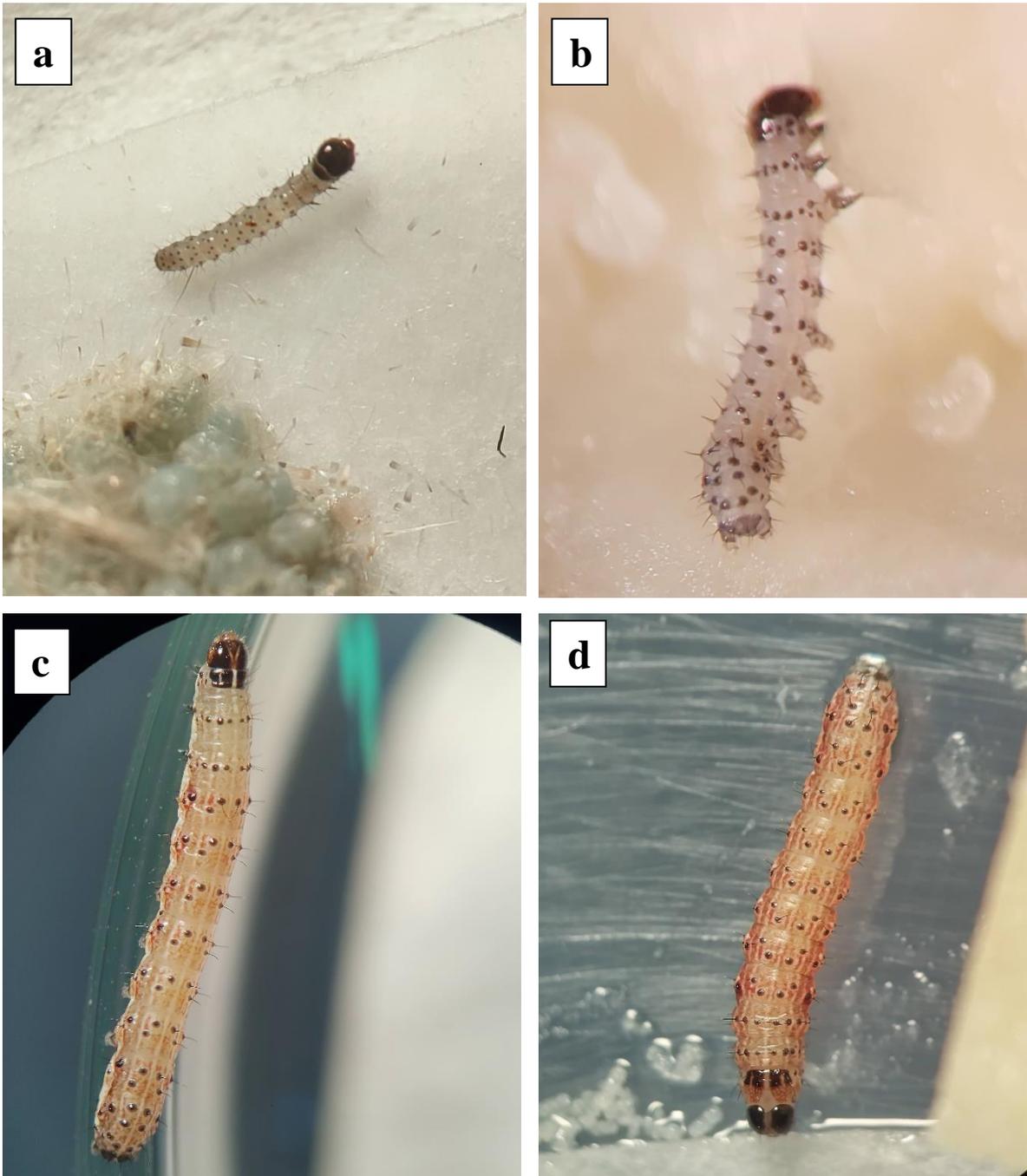


Obtida pelo autor.

Cultivo de S. frugiperda

As lagartas de *S. frugiperda* apresentaram alta sobrevivência na etapa de eclosão e seu desenvolvimento foi monitorado com regularidade (**figura 3.3**). Caracterizações do estágio larval foram feitas baseado em critérios morfológicos tais como o número de pelos por segmento, comprimento total, largura da cabeça, coloração da região ventral e dorsal (Schmidt-Durán et al., 2015; Villa Castoreña & Catalán Valencia, 2004).

Figura 3.3. Larvas de *S. frugiperda*. (a) Ovos e larva instar L1. (b) Larva instar L2. (c) Larva instar L3. (d) Larva instar L3 evoluído.

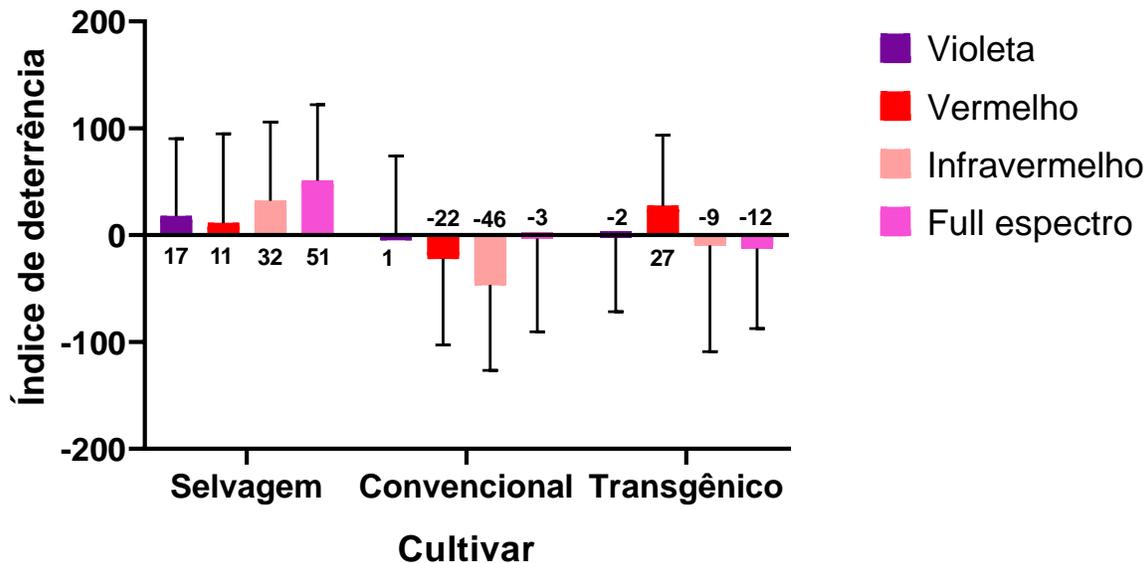


Obtidas pelo autor.

Efeito da radiação UV-Vis-IR na preferência alimentar de *S. frugiperda*

Experimentos *in vivo* para determinar comportamento de deterrência de *S. frugiperda* em relação aos tratamentos (UV-Vis-IR) mostraram resultados descritos a continuação: O teste de escolha mostrou uma resposta diferencial das lagartas frente aos cultivares e os tratamentos (**Figura 3.4**), evidencia-se efeito de deterrência no cultivar selvagem em todos os tratamentos e no cultivar transgênico sob a irradiação Vermelho-630 nm, provado pelos valores positivos do índice. O efeito mais intenso correspondeu ao tratamento [Selvagem-Full espectro] com uma média de 51%, entanto que, outros trabalhos referem que valores dos índices acima de 50% são indicadores de deterrência significativa de *S. frugiperda* (Jiménez R. et al., 2013).

Figura 3.4. Índice de deterrência no teste de escolha 24 horas após radiação. Valores são expressados em forma de medias com SD.

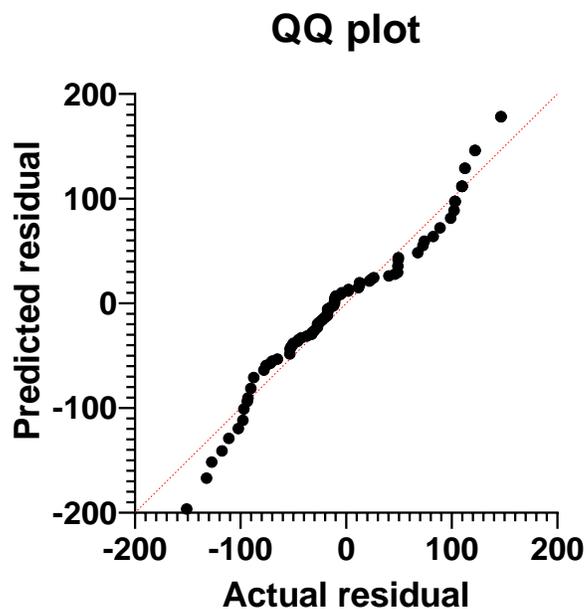


Obtida pelo autor.

A ANOVA realizada (alpha **0.05**) mostrou que o fator “cultivar” foi responsável pela variação observada (P-valor **0.0353**), porém, os tratamentos de irradiação não mostraram uma significância estatística que explicara o comportamento dos dados (P-valor 0.7943). Adicionalmente foi gerado um gráfico

QQplot que mostra a distribuição normal dos dados analisados (**Figura 3.5**) e a **Tabela 3.1** contém os P-valor do teste de Shapiro-Wilk que avalio a normalidade dos dados do teste de escolha após 24 horas de irradiação.

Figura 3.5. Distribuição normal de dados no teste de escolha-24.



Obtida pelo autor

Tabela 3.1. Resultado teste de normalidade para dados do experimento de escolha-24.

Teste Shapiro-Wilk	Violeta	Vermelho	Infravermelho	Full espectro
W	0.8710	0.9623	0.9987	0.8582
P valor	0.2983	0.6268	0.9301	0.2627
Passou no teste de normalidade (alfa=0,05)?	Sim	Sim	Sim	Sim

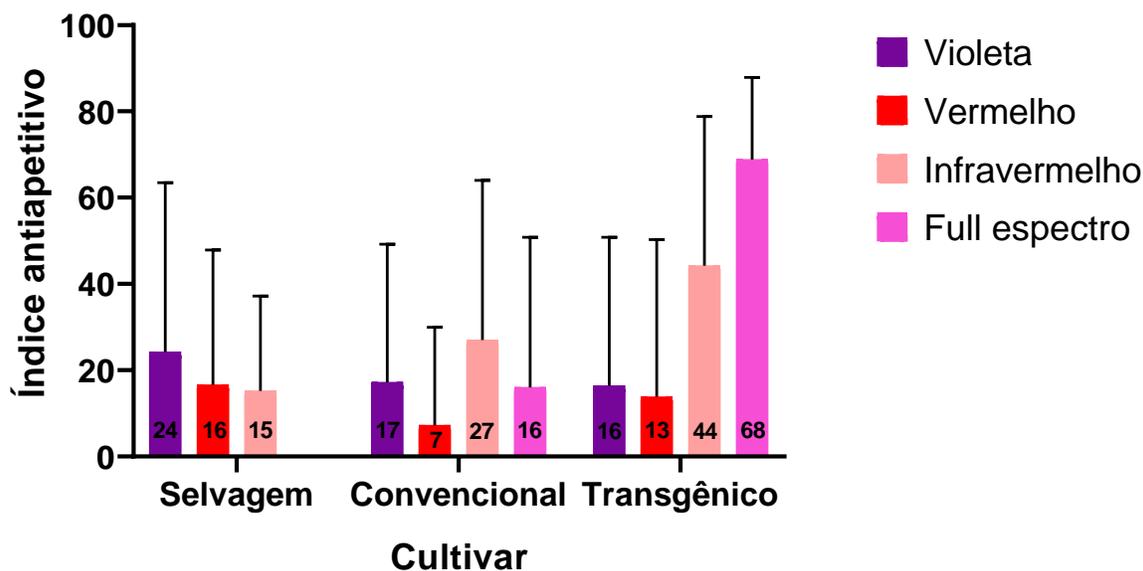
Fonte:Elaborado pelo autor.

Um segundo estudo de comportamento foi feito na modalidade Não-escolha, determinou-se o índice antiapetitivo após 24 horas de irradiação (**Figura 3.6**) obtendo-se índices antiapetitivos positivos para todos os tratamentos. Valores mais altos foram obtidos no cultivar transgênico nos tratamentos Full espectro

(68%) e infravermelho (44%), enquanto que o cultivar selvagem registrou valor 0% para o tratamento full espectro.

Os resultados da análise estatística (ANOVA, alpha **0.05**) mostraram que o fator “cultivar” influenciou significativamente o comportamento de *S. frugiperda* na hora de comer a única fonte de alimento que tinha disponível (P-valor 0.0033), sendo o cultivar transgênico o menos consumido (maiores índices antiapetitivos). Por outro lado, o fator “radiações” não afetou o resultado do teste (P-valor 0.1249) dentro da janela de significância estabelecida mesmo quando o valor do índice para o tratamento Full espectro no cultivar selvagem superou o umbral do 50% considerando-se uma resposta intensa. O gráfico *QQplot* mostra a distribuição normal dos dados analisados devido a sua tendencia lineal (**Figura 3.7**) e a **Tabela 3.2** contém os P-valor do teste de Shapiro-Wilk que avalio a normalidade dos dados do teste sem chance de escolha após 24 horas de irradiação.

Figura 3.6. Índice antiapetitivo após 24 horas de radiação. Valores são expressados em forma de medias com SD.



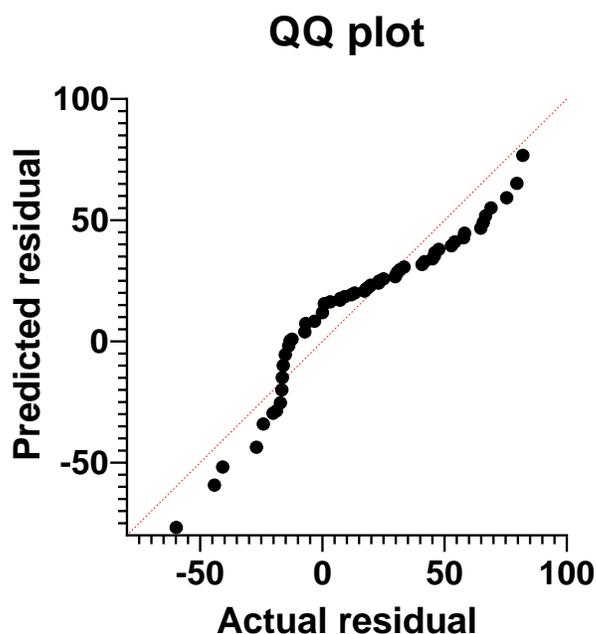
Obtida pelo autor

Tabela 3.2. Resultados teste de normalidade para dados do experimento sem chance de escolha-24.

Teste Shapiro-Wilk	Violeta	Vermelho	Infravermelho	Full espectro
W	0.8260	0.9483	0.9886	0.9129
P valor	0.1783	0.5621	0.7955	0.4279
Passou no teste de normalidade (alfa=0,05)?	Sim	Sim	Sim	Sim

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.7. Distribuição normal de dados no teste sem escolha-24.



Obtida pelo autor.

Compostos orgânicos voláteis.

A análise por cromatografia gasosa associada a espectrometria de massa permitiu a detecção de 16 compostos voláteis a partir das folhas de soja. A maior parte dos compostos são álcoois, aldeídos, e hidrocarbonetos voláteis de seis e oito carbonos. Os compostos pertencem ao tipo conhecido como voláteis de folhas verdes (GLV, *Green leaf volatiles*), emitidos em pequenas quantidades no tecido

vegetal não estressado, mas são rapidamente liberados em grandes quantidades após o estresse. A liberação de GLV geralmente ocorre após lesão mecânica e é influenciada por condições ambientais, entre elas, a luz é um fator importante que influencia sua liberação e pode estar relacionada à biodisponibilidade de alguns lipídios das membranas do cloroplasto, que em momentos de alta excitação luminosa podem ser integrados nas vias de síntese de GLV,s (Scala et al., 2013).

Experimentos anteriores detectaram (E)-2-hexenal- em Arabidopsis quando expostos a condições de alta luminosidade (Loreto et al., 2006), o mesmo composto foi registrado em nosso estudo como um dos principais constituintes dos perfis voláteis, esteve presente em todas as amostras acompanhadas de, Hexanal; 1-octen-3-ol; Furan, 2-etil-; 1-penten-3-ol; e n-hexano que indicam que são todos compostos da soja com funções comuns independentemente do fenótipo ou tratamento de exposição à luz. Os compostos detectados no fenótipo selvagem estão listados na **Tabela 3.3**.

Tabela 3.3. Compostos orgânicos voláteis detectados no fenótipo selvagem (PI407270).

Composto	Fenótipo selvagem (PI 407270)			Abundancia relativa (%)				
	t _R (min.)	I.R.	I.R. _{Ref}	Control e	Violet a	Vermelho	IV	Full espectro
n-hexano	2.584	-	-	3.58	3.49	2.15	2.76	6.76
1-Penten-3-ol	3.933	-	-	7.84	8.7	9.2	6.27	11.08
2-ethyl-furano-	4.209	702	701 a	22.01	23.61	24.59	23.49	20.75
(Z)-2-penten-1-ol	5.852	775	767 b	0.79	1.42	1.35	-	1.27
Hexanal	6.482	803	803 c	15.82	15.76	18.58	17.92	16.7
(E)-2-hexenal- *	7.539	851	857 d	0.44	0.4	0.37	0.31	0.38
(E)-2-hexenal-	7.678	857	857 d	31.3	31.42	29.19	28.35	27.69
1-octen-3-ol	10.281	982	982 e	18.28	13.78	14.45	17.41	15.71

t_R(min.) = Tempo de retenção; I.R. = Índice de retenção; I.R._{Ref}. = Índice de retenção de referência; IV = Infravermelho. Referencias: a. (Venskutonis et al., 2002) b. (Jordán et al., 2002) c. (Carunchia Whetstine et al., 2005) d. (Radulović et al., 2007) e. (Majcher & Jeleń, 2005).

Os compostos detectados no fenótipo convencional estão listados na **Tabela 3.4**, sendo os mesmos compostos detectados no cultivar selvagem porem com diferenças na abundancia relativa dos constituintes. A maioria dos compostos

detectados no fenótipo convencional são menos abundantes em comparação com o fenótipo selvagem, contudo, o composto 1-Octem-3-ol apresenta uma maior abundancia relativa. O perfil do cultivar transgênico é apresentado na **Tabela 3.5** com a anotação de mais dois compostos o (E)-2-pentenal e o linalool no tratamento com luz vermelha, o primeiro é um aldeído que pode atuar como atraente de inimigos naturais de algumas pragas quando testado individualmente ou em misturas com outros compostos voláteis próprios da planta (Huang et al., 2009; Mu et al., 2012). O linalool é um composto de expressão e acúmulo aprimorados quando o vegetal é exposto à radiação luminosa (Sasaki et al., 2016; Semenova et al., 2022; Zeng et al., 2021), outros trabalhos já aproveitam a bioatividade do linalool e o usam em misturas com inseticidas piretróides para melhorar a eficácia no controle de *s. frugiperda*, principalmente porque o linalool gera um efeito neurotóxico no inseto, por isso a relevância da sua presença no perfil químico das plantas tratadas (S. M. Silva et al., 2017, 2020).

Tabela 3.4. Compostos orgânicos voláteis detectados no fenótipo convencional (BRS-284).

Fenótipo Convencional (BRS 284)	Abundancia relativa (%)							
	Composto	t _R (min.)	I.R.	I.R. _{Ref}	Control e	Violet a	Vermelho	IV
n-hexano	2.584	.	.	1.94	2.74	2.56	2.06	2
1-Penten-3-ol	3.933	.	.	5.88	5.73	8.86	8.86	7.52
2-ethyl-furano-	4.209	70 2	701 a	17.3	21.58	22.42	22.6 4	18.41
(Z)-2-penten-1-ol	5.852	77 5	767 b	0.91	0.95	1.42	1.65	1.3
Hexanal	6.482	80 3	803 c	14.25	14.07	13.66	13.6 8	12.62
(E)-2-hexenal- *	7.539	85 1	851 d	0.47	0.44	0.3	0.3	0.49
(E)-2-hexenal-	7.678	85 7	857 d	33.45	29.66	26.84	26.6 7	33.56
1-octen-3-ol	10.281	98 2	982 e	25.63	24.13	23.67	23.6 7	23.13

t_R(min.) = Tempo de retenção; I.R. = Índice de retenção; I.R._{Ref}= Índice de retenção de referência; IV = Infravermelho. Referencias: a. (Venskutonis et al., 2002) b. (Jordán et al., 2002) c. (Carunchia Whetstine et al., 2005) d. (Radulović et al., 2007) e. (Majcher & Jeleń, 2005).

Tabela 3.5. Compostos orgânicos voláteis detectados no fenótipo transgênico (RR2-PRO).

Fenótipo Transgênico (RR2 PRO)		Abundancia relativa (%)						
Composto	t _R (min.)	I.R.	I.R.Ref.	Control e	Violet a	Vermelho	IV	Full espectro
n-hexano	2.584	.	.	1.19	2.76	2.93	5.36	1.62
1-Penten-3-ol	3.933	.	.	7.54	8.37	9.65	9.57	10.88
2-ethyl-furano-	4.209	702	701 a	21.91	20.37	23.36	25.13	20.01
(E)-2-Pental	5.504	760	752 b	0.44	0.32	-	0.3	0.52
(Z)-2-penten-1-ol	5.852	775	767 c	1.35	1.33	1.49	2.46	2.04
Hexanal	6.482	803	803 d	16.45	13.18	12.36	13.64	15.76
(E)-2-hexenal- *	7.539	851	851 e	0.46	0.54	0.31	0.38	0.38
(E)-2-hexenal-	7.678	857	857 e	32.73	33.7	32.2	28.17	33.11
1-octen-3-ol	10.281	982	982 f	17.74	19.68	18.2	15.66	14.87
Linalool	12.486	1102	1101g	-	-	0.28	-	-

t_R(min.) = Tempo de retenção; I.R. = Índice de retenção; I.R.Ref.= Índice de retenção de referência; IV = Infravermelho. Referencias: a. (Venskutonis et al., 2002) b. (Liu et al., 2007) c. (Jordán et al., 2002) d. (Carunchia Whetstine et al., 2005) e. (Radulović et al., 2007) f. (Majcher & Jeleń, 2005) g. (Angioni et al., 2006).

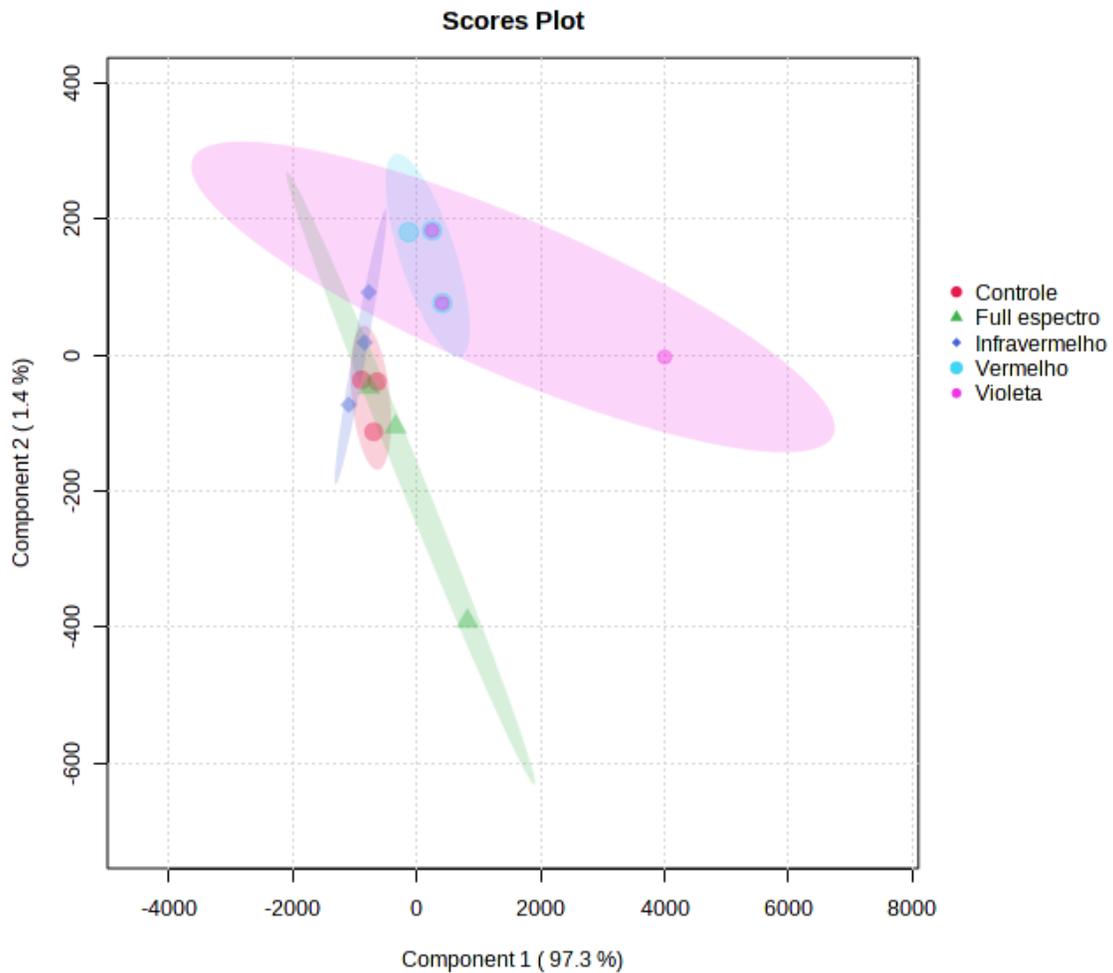
Análise discriminante de mínimos quadrados parciais ou *Partial Least Squares - Discriminant Analysis (PLS-DA)*

O PLS é um método supervisionado que utiliza técnicas de regressão multivariada para extrair por meio de combinação linear de variáveis originais (X) as informações que podem prever a pertinência da classe (Y), isto serve para testar se as variáveis (Compostos) permitem discriminar os grupos tratados do controle, e visualizar as observações em um mapa bidimensional que mostre o melhor possível o quanto separados estão os grupos. Os resultados da análise HS-GC/MS foram divididos em três grupos, utilizando o fenótipo como caractere distintivo para estudar o efeito das radiações em cada um, assim, os dados foram divididos em três sets contendo: Nome da amostra, categoria (Controle ou tratamento) e resposta analítica normalizada pelo padrão interno (intensidade de pico).

Os conjuntos de dados dos três cultivares foram submetidos a filtrado de dados baseado na média com o objetivo de identificar e remover variáveis que provavelmente não seriam úteis ao modelar os dados, desta forma a análise do cultivar selvagem e convencional teve 8 variáveis (*features*) que foram processadas dentro de um total de 11 variáveis em cada um, enquanto no cultivar transgênico 10 variáveis foram processadas das 11 totais.

A análise do cultivar selvagem permitiu identificar dois grupos marcadamente diferentes do controle, corresponde aos tratamentos violeta e vermelho que no gráfico de projeção em duas dimensões do PLSDA (**Figura 3.8**) aparecem no quadrante positivo do componente principal 1, enquanto os grupos, controle, infravermelho e Full espectro localizam-se no quadrante negativo além de apresentar grande proximidade entre eles. A proximidade entre grupos pode interpretar-se como uma semelhança na presença e abundância relativa dos compostos voláteis.

Figura 3.8. Projeção em duas dimensões dos grupos presentes no cultivar selvagem. Pontuações entre os componentes principais 1 (97.3%) e 2 (1.4%).

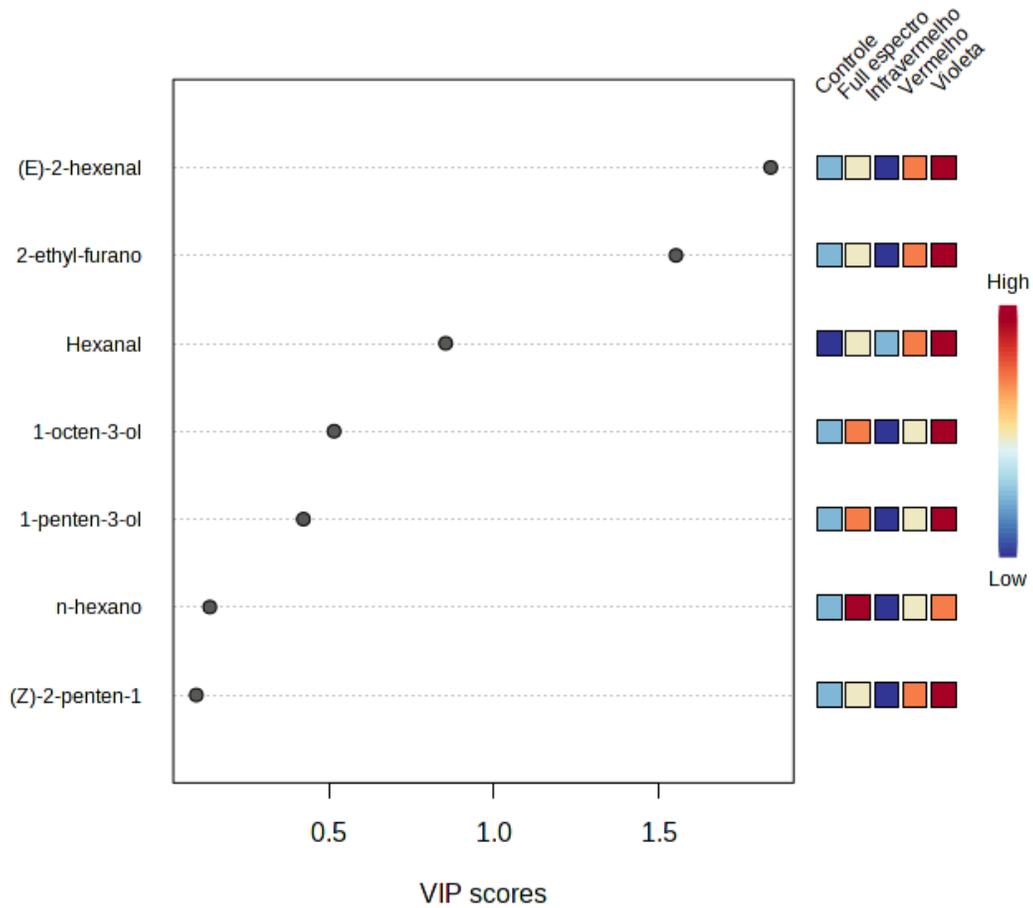


Obtida pelo autor.

Com ajuda do cálculo *VIP Score* representado na **Figura 3.9.** é possível observar quais são os compostos ou *features* mais importantes no cultivar Selvagem. Os compostos (E)-2-hexenal e 2-ethyl-furano apresentam valores acima de 1, considerando-se de grande importância para explicar a diferenciação dos tratamentos Violeta e Vermelho que apresentam maior concentração relativa

desses voláteis frente ao resto de tratamentos e grupo controle. Outros compostos como Hexanal e 1-octen-3-ol ainda apresentam valores acima de 0.5 e uma maior concentração no cultivar violeta, porém, com menor importância estatística.

Figura 3.9. Variáveis importantes identificados pelo PLS-DA para o cultivar selvagem. As caixas coloridas à direita indicam as concentrações relativas do metabólito correspondente em cada grupo em estudo.



Obtida pelo autor.

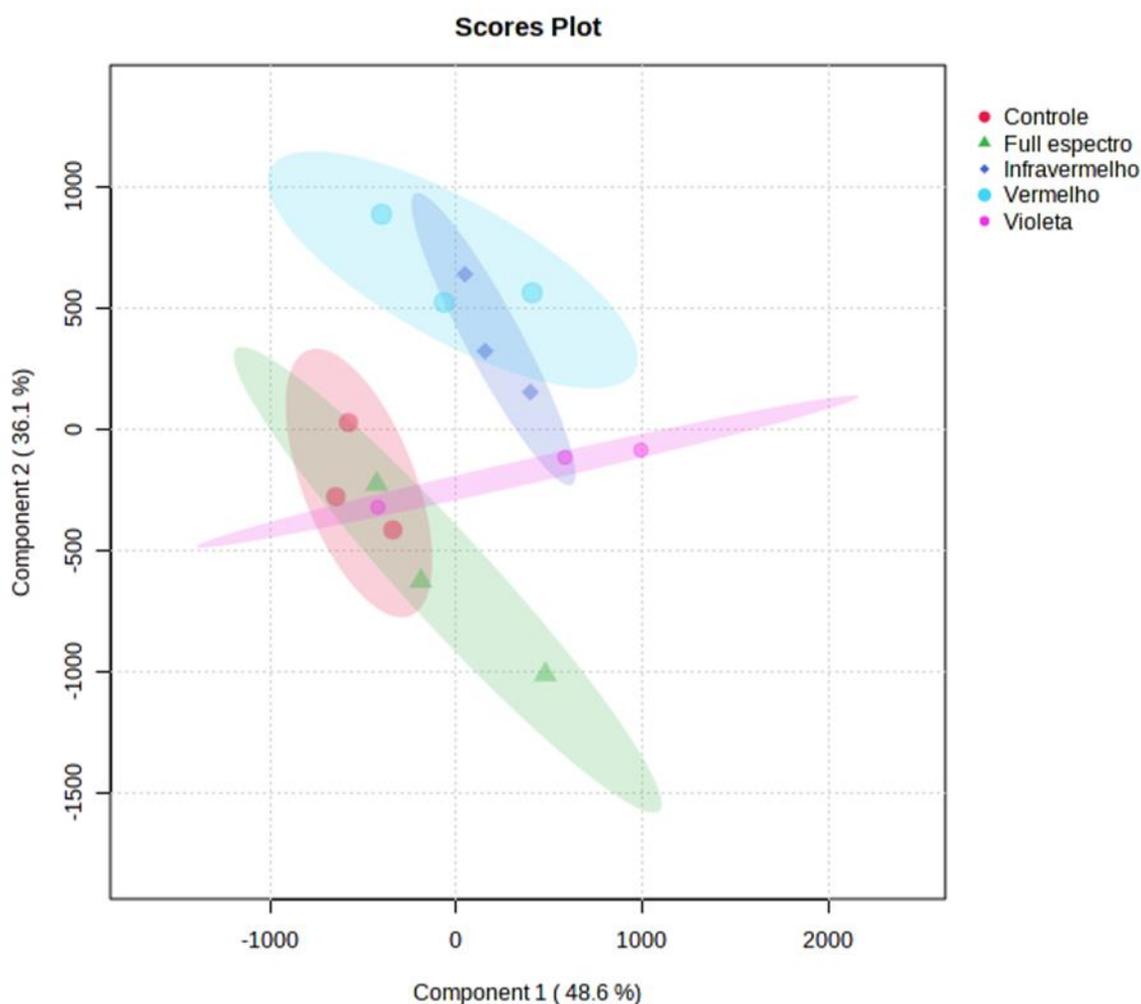
Por outro lado, o cultivar convencional apresentou também dois grupos marcadamente separados no gráfico em duas dimensões do PLSDA (**Figura 3.10.**), foram o tratamento vermelho e infravermelho os quais estão localizados no quadrante positivo do componente principal 1 (direita) e no quadrante positivo do componente principal 2 (acima), esta separação dos dados representa mais uma

vez um diferencial na expressão de compostos orgânicos voláteis quando submetido a radiações de comprimento de onda fixa. O tratamento vermelho (630 nm) novamente apresenta distanciamento do grupo controle da mesma forma que aconteceu quando o fenótipo selvagem foi estudado, nesta oportunidade os dados apresentam uma área maior de confiança a 95% que é interceptada pelo conjunto de dados do cultivar infravermelho. Curiosamente o tratamento Violeta localiza-se no quadrante negativo do componente principal 2 junto com o grupo controle e a dispersão dos seus dados, gera intercepção com o grupo mencionado significando que existem *features* ou compostos que apresentam um comportamento/expressão com semelhanças em relação ao grupo que não foi irradiado.

O tratamento full espectro novamente apresenta uma proximidade do grupo controle, indicando que as variáveis respondem de maneira muito semelhante nos dois grupos e isto pode estar relacionado com a natureza do tratamento aplicado ao grupo full espectro, como foi descrito na **Tabela 3**, o grupo controle esteve exposto a luz ambiental que é composta por uma ampla faixa dentro do espectro visível, enquanto o grupo Full espectro recebeu irradiação numa faixa desde os 400 nm até 850 nm aproximadamente, desta forma os dois grupos compartilham condições fotossintéticas ou de estímulo que poderiam influenciar de forma parecida a geração e acúmulo de compostos relacionados com a fotobiologia da soja.

Seguidamente, o gráfico de *VIP Score* para o cultivar convencional (**Figura 3.11.**) apresenta o 2-etil-furano como *feature* de maior importância na segregação dos tratamentos, especialmente aqueles onde o composto é mais abundante: o cultivar violeta e vermelho. Logo após, o n-hexano e 1-octen-3-ol ainda apresentam valores significativos para explicar a distribuição dos grupos na análise.

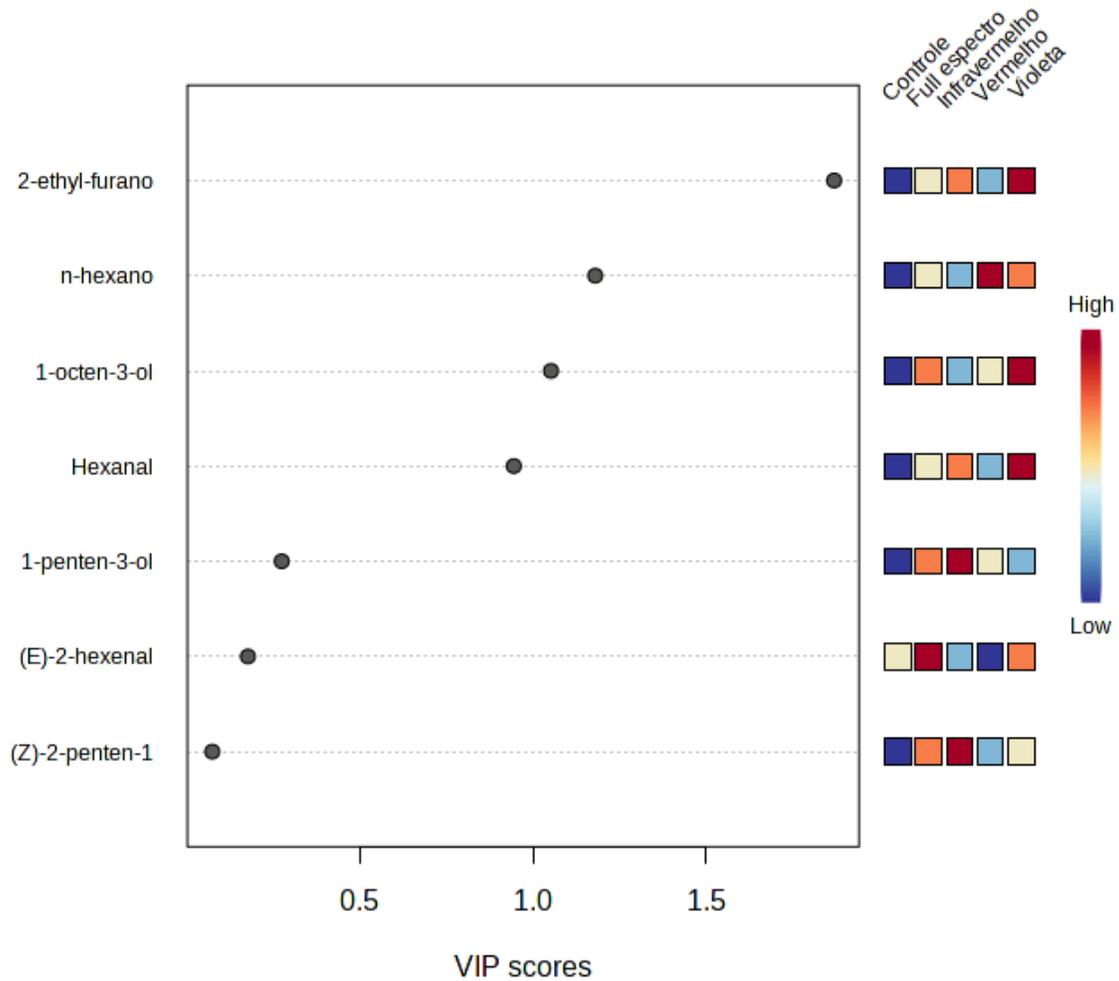
Figura 3.10. Projeção em duas dimensões dos grupos presentes no cultivar convencional. Pontuações entre os componentes principais 1 (48.6%) e 2 (36.1%).



Obtida pelo autor.

O aldeído Hexanal aparece como um composto com *VIP score* próximo a 1, com uma expressão proporcionalmente parecida com a do composto 2-ethyl-furano, porem com menor importância no PLSDA. Compostos como 1-Penten-3-ol; (E)-2-hexenal e 2-Penten-1-ol registram valores de *VIP score* baixos, indicando que são de menor importância enquanto a diferenciação estatística de um tratamento para outro, o que não descarta por completo a sua importância no desenvolvimento dos ensaios de atividade biológica.

Figura 3.11. Variáveis importantes identificados pelo PLS-DA para o cultivar convencional. As caixas coloridas à direita indicam as concentrações relativas do metabólito correspondente em cada grupo em estudo.

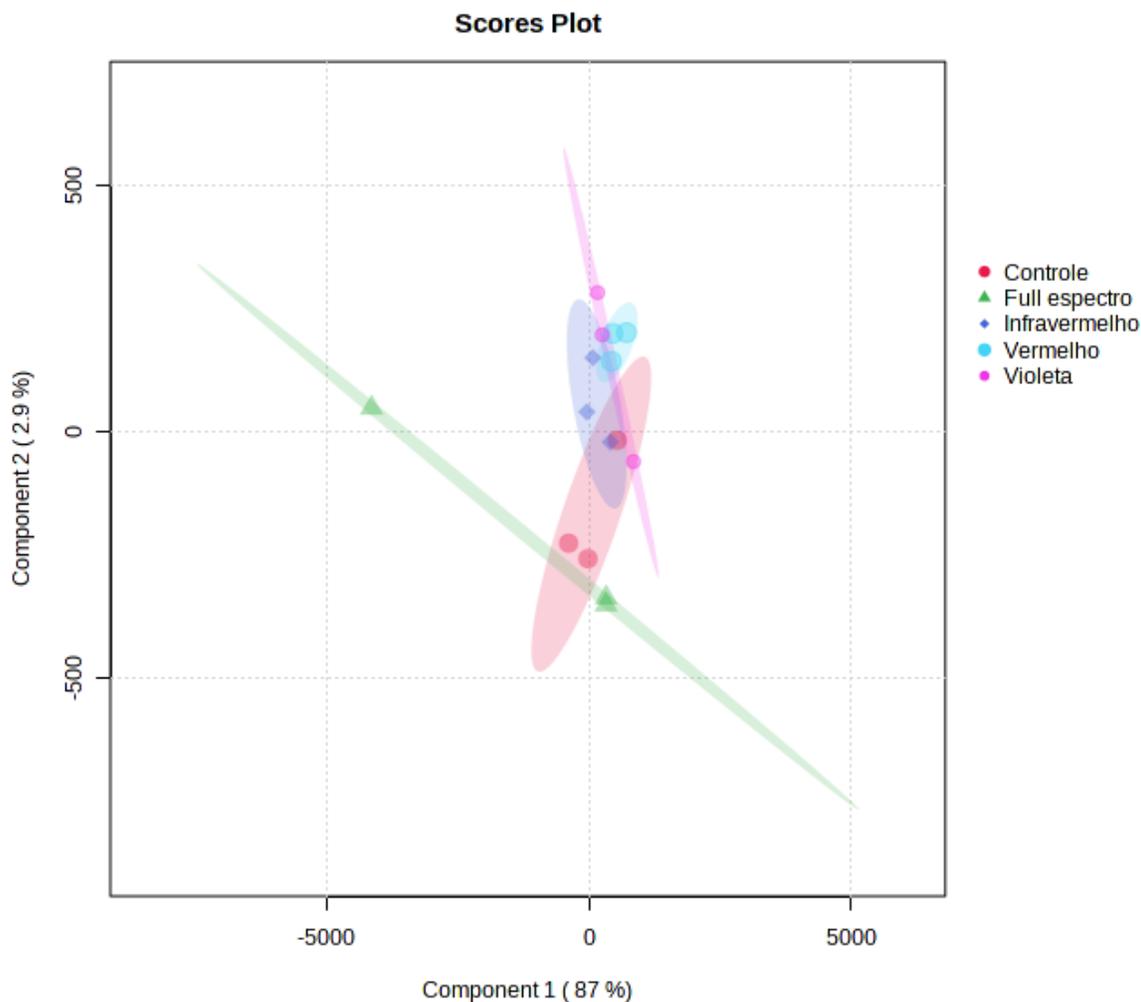


Obtida pelo autor.

Finalmente, o resultado do perfil metabolômico do cultivar transgênico passou por análise PLSDA também (**Figura 3.12**) mostrando maior proximidade entre os grupos no gráfico em duas dimensões. O grupo controle ocupa uma posição entre os quadrantes negativo e positivo do componente principal 1, que explica o 87% do comportamento dos dados, de forma semelhante o tratamento Full espectro apresenta essa mesma distribuição e só os tratamentos Violeta e Vermelho localizam-se apenas no quadrante positivo do componente principal 1. Mesmo assim, o tratamento violeta apresenta um intercepto com o grupo controle

e só a área de confiança do tratamento Vermelho fica sem cruzamento com o grupo controle.

Figura 3.12. Projeção em duas dimensões dos grupos presentes no cultivar transgênico. Pontuações entre os componentes principais 1 (87%) e 2 (2.9%).

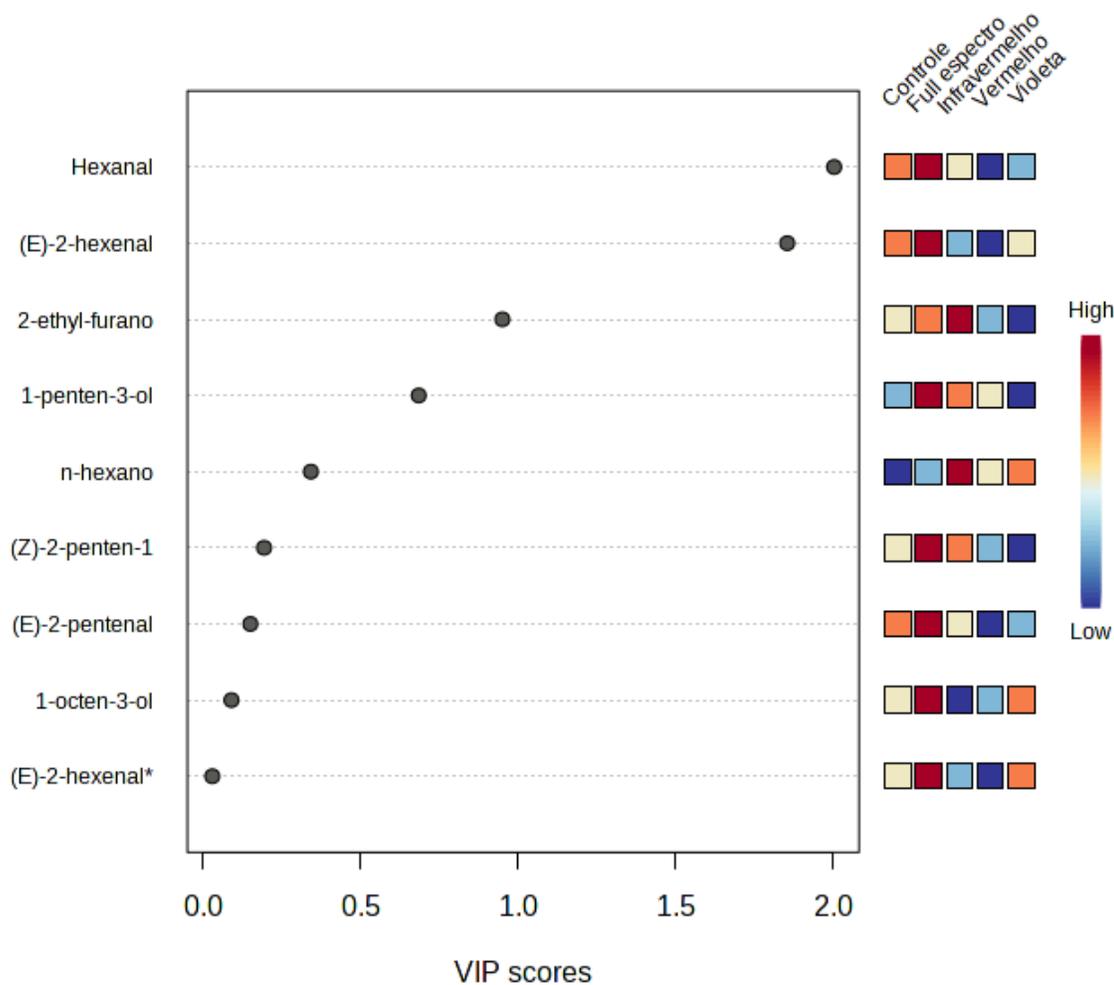


Obtida pelo autor.

Conseqüentemente o gráfico de *VIP Score* mostra o Hexanal e (E)-2-hexenal como *features* mais importantes para a análise dos tratamentos aplicados no cultivar transgênico (**Figura 3.13**), sendo eles compostos com concentração relativa elevada nos grupos controle e Full espectro. 2-etil-furano e 1-Penteno-3-ol ainda apresentam valores próximos a 1, enquanto os demais compostos foram categorizados com a menor importância estatística no PLSDA. Curiosamente, no

cultivar transgênico o n-hexano e 1-octen-3-ol parecem não cumprir um papel importante na diferenciação dos grupos em comparação com o cultivar convencional onde esses compostos voláteis fizeram diferença na hora de analisar os perfis metabolômicos.

Figura 3.13. Variáveis importantes identificados pelo PLS-DA para o cultivar transgênico. As caixas coloridas à direita indicam as concentrações relativas do metabólito correspondente em cada grupo em estudo.

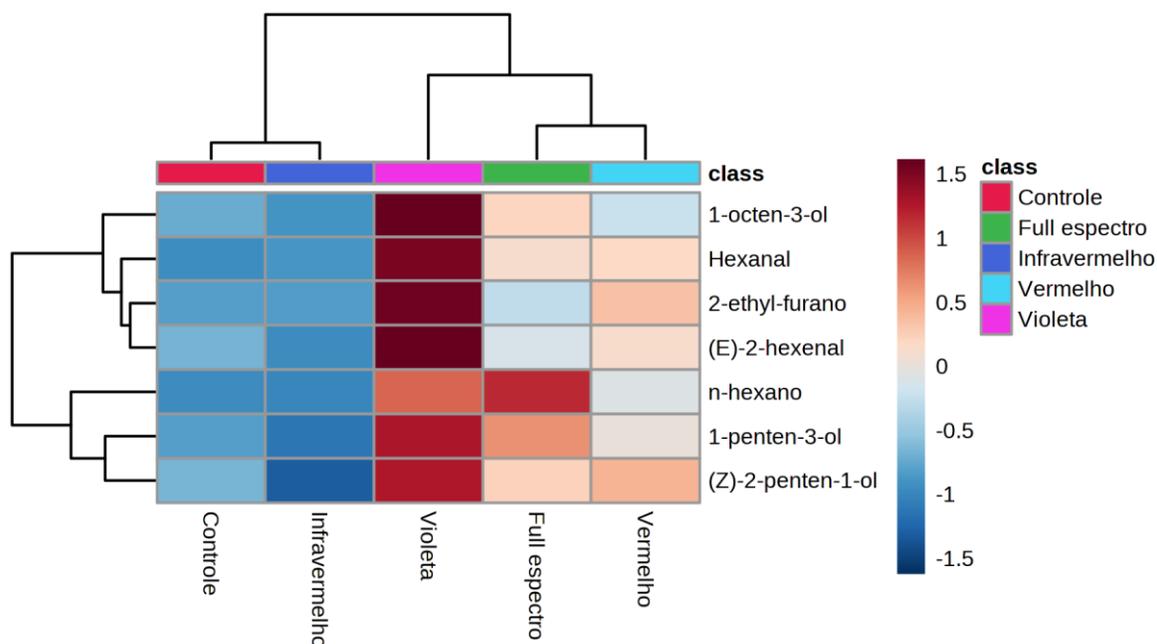


Obtida pelo autor.

Mapa de calor ou *Heatmap*.

O *Heatmap* (mapa de calor) é uma ferramenta que permite visualizar o agrupamento dos tratamentos com base na presença de compostos e sua abundancia relativa. Além disso, permite visualizar de forma simples as mudanças na expressão de um composto tanto em um grupo como em outro segundo uma escala de cor. O mapa de calor do cultivar selvagem (**Figura 3.14.**) permite destacar uma maior concentração dos COVs nas plantas tratadas com luz violeta, exceto o n-hexano que apresentou maior concentração no tratamento Full espectro. O grupo controle e tratamento com radiação infravermelha mostraram menor concentração de todos os compostos o que permitiu separar eles em um cluster próprio enquanto os tratamentos Violeta, Full espectro e Vermelho pertencem ao mesmo cluster onde há maior expressão de compostos.

Figura 3.14. Mapa de calor compostos presentes no cultivar selvagem.



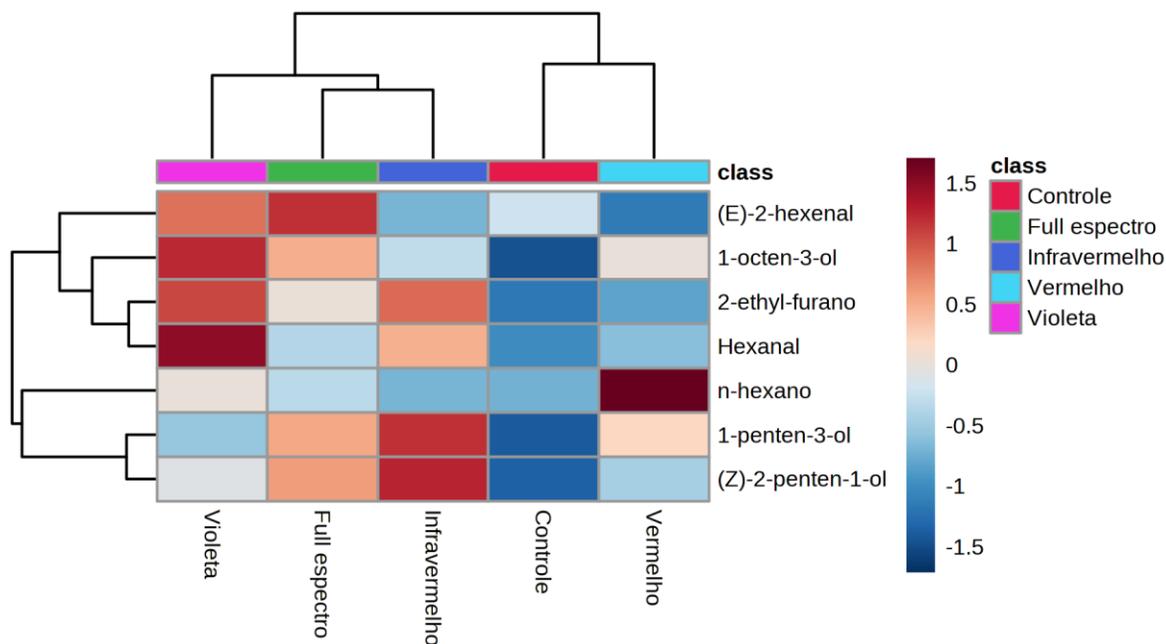
Obtida pelo autor

Interpolando a expressão de COVs com os índices de deterrência é interessante destacar que a maior atividade no teste de escolha para o cultivar

selvagem (**Figura 3.4**) aconteceu quando testado o tratamento Full espectro, quem apresentou maior concentração de n-hexano e 1-Penten-3-ol no seu perfil químico. No entanto, outros tratamentos apresentaram índices de deterrência baixos mesmo quando a expressão de outros COVs foi elevada, por exemplo, no caso do tratamento com luz violeta, que mostrou concentrações mais elevadas de 1-octeno-3-ol; Hexanal; 2-etil-Furano e (E)-2-hexenal; porém, uma menor quantidade de n-hexano em comparação com o grupo que teve melhor atividade biológica. Em relação ao teste sem chance de escolha (Índice antiapetitivo) para o cultivar selvagem (**Figura 3.6**), os valores do índice foram todos baixos (sob 50%), especialmente com o tratamento Full espectro que apresentou valor de zero, porém, vale a pena lembrar que a ANOVA realizada mostrou que o fator “radiações” não afetou o resultado do teste (P-valor 0.1249).

O cultivar convencional conta também com seu *Heatmap* (**Figura 3.15.**) que permite identificar mais uma vez três grupos predominantes devido a maior acumulo de COVs, sendo eles o tratamento com luz Violeta, Full espectro e Infravermelho.

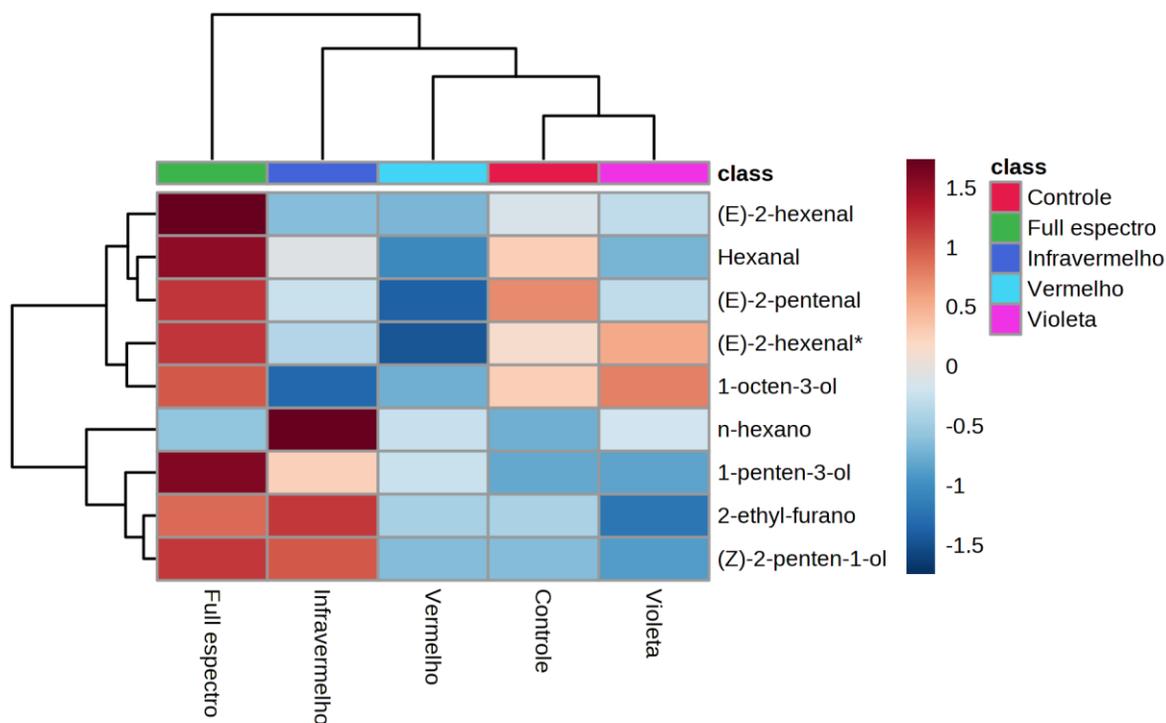
Figura 3.15. Mapa de calor compostos presentes no cultivar convencional.



Obtida pelo autor

O tratamento com luz vermelha gerou a maior concentração de n-hexano que também é um *Feature* destacado no *VIP Score* do PLSDA para o cultivar convencional, contudo, o efeito sobre a escolha de *S. frugiperda* não foi significativo pelos baixos índices de deterrença (**Figura 3.4**) e antiapetitivos (**Figura 3.6**) apresentados na fase de ensaios biológicos, mostrando que só o n-hexano pode não ser suficiente para gerar um estímulo negativo no consumo de disco folhares das plantas tratadas. Entre eles só o tratamento infravermelho, com maior proporção dos álcoois 1-Penten-3-ol e (Z)-2-penten-1-ol conseguiu um índice acima do 20% no teste sem chance de escolha, todavia sendo uma atividade baixa.

Figura 3.16. Mapa de calor compostos presentes no cultivar transgênico.



Obtida pelo autor

Por último, ao analisar o *Heatmap* do cultivar transgênico (**Figura 3.16.**), é possível distinguir rapidamente o tratamento Full espectro do resto de grupos por ele apresentar uma maior concentração de compostos, seguido pelo tratamento com Infravermelho, grupo controle e Violeta. Essas diferenças na composição do

perfil bioquímico parecem não haver influenciado no teste de escolha, onde os índices de deterrência foram baixos, e mesmo, quando o fator “radiações” não afetou o resultado do teste (P-valor 0.1249) segundo a ANOVA realizada, é possível observar que o tratamento com Full espectro coincide com um maior índice antiapetitivo quando *S. frugiperda* só tem uma única fonte de alimento (índice de 68%), seguido pelo tratamento com Infravermelho (índice de 44%), o segundo grupo com maior acúmulo de COVs.

Em consequência do anteriormente descrito é importante esclarecer que não todos os COVs têm função defensiva direta, mas sim participam na sinalização para inimigos naturais ou a liberação de outro tipo de compostos em órgãos distintos da planta (Rostás & Eggert, 2008). Nesse sentido é importante compreender que os constituintes dos perfis voláteis descritos no presente trabalho podem influenciar de maneira diferente o comportamento de organismos sensíveis como *S. frugiperda*, de forma variável dependendo de fatores como a quantidade dos compostos, a taxa de liberação do composto, a presença de outras substâncias na mistura de VOCs que podem potencializar ou diminuir os efeitos, o tempo de meia-vida do composto e finalmente a capacidade individual de resposta das lagartas de *S. frugiperda* ante os tratamentos em condições de laboratório.

6 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O estudo das interações bióticas e abióticas com plantas de interesse medicinal e agrônomico é muito amplo, favorece a compreensão do potencial biotecnológico de um recurso praticamente infinito. O cultivo da soja sob condições de irradiação no UV-Vis e as porções extremas ultravioleta e infravermelho é ainda pouco estudado, desta forma o presente trabalho oferece conhecimento pioneiro que serve como base para o aproveitamento da plasticidade genotípica de cultivos de grande importância.

Os fenótipos selvagem (PI407270), convencional (BRS-284) e transgênico (RR2PRO) influenciam a escolha de alimento de *S. frugiperda* antes que qualquer tratamento de irradiação aplicado, sendo o cultivar selvagem o maior dissuasivo. Os efeitos do cultivar selvagem sobre as lagartas de *S. frugiperda* é aumentado quando recebe irradiação de amplo espectro. Os cultivares convencional e transgênico apresentam baixo efeito dissuasivo sem importar o tratamento de irradiação. O cultivar transgênico oferece maior efeito de deterrência quando não existe escolha, especialmente quando exposto ao tratamento Full espectro, bem a pesar de não apresentar resistência genética específica para *S. frugiperda*.

Dentre os 16 compostos voláteis detectados das folhas de soja, dois aldeídos, dois álcoois um derivado do Furan e um hidrocarboneto estão presente em todas as amostras, indicando que são todos compostos intrínsecos independentemente do fenótipo ou tratamento de exposição à luz. Vários dos compostos detectados tem reconhecida atividade de proteção fotoquímica e dissuasiva de herbívoros seja direta ou através de sinais para outros organismos.

Apesar do análise estatístico ter demonstrado que que as radiações não influenciaram significativamente o comportamento de *S. frugiperda* sob as condições testadas, é importante destacar que tratamentos com radiações mais energéticas (cumprimento de onda mais curta) como a violeta aprimoram a expressão de COVs frente a aqueles que carecem desta porção.

Os compostos Hexanal; (E)-2-hexenal; n-hexano; 2-ethyl-furano e 1-octen-3-ol são os principais VOCs que respondem ao tratamento de irradiação UV-Vis-infravermelho com LEDs nos cultivares de soja estudados e a expressão de

alguns desses compostos coincide com maiores índices de antixenose frente a *S. frugiperda* de terceiro instar. Contudo, os efeitos desses voláteis por separado pode não ser suficiente para gerar um estímulo negativo no consumo da planta e nem todos os VOCs têm função defensiva direta.

Em consequência, novos estudos podem ser abordados na linha de pesquisa, usando como base a metodologia proposta e os resultados do presente trabalho. Aplicação de outros comprimentos de onda, tempos de exposição à radiação, metabolitos alvo e medições da resposta biológica seriam de grande valor para ter uma compreensão mais profunda sobre o papel dos estímulos abióticos na resposta defensiva da soja e poder transformar esse conhecimento em tecnificação de valor para o agronegócio e a sociedade brasileira.

7 – Referências

- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and Flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(12), 4364–4370. <https://doi.org/10.1021/jf0603329>
- Baroniya, S. S., Kataria, S., Pandey, G. P., & Guruprasad, K. N. (2013). Intraspecific variations in antioxidant defense responses and sensitivity of soybean varieties to ambient UV radiation. *Acta Physiologiae Plantarum*, *35*(5), 1521–1530. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1193-6>
- Bernardi, D., Salmeron, E., Horikoshi, R. J., Bernardi, O., Dourado, P. M., Carvalho, R. A., Martinelli, S., Head, G. P., & Omoto, C. (2015). Cross-resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (spodoptera frugiperda) may affect the durability of current pyramided bt maize hybrids in Brazil. *PLoS ONE*, *10*(10), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140130>
- Bernardi, O., Sorgatto, R. J., Barbosa, A. D., Domingues, F. A., Dourado, P. M., Carvalho, R. A., Martinelli, S., Head, G. P., & Omoto, C. (2014). Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. *Crop Protection*, *58*, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.01.001>
- Brilli, F., Loreto, F., & Baccelli, I. (2019). Exploiting plant volatile organic compounds (VOCS) in agriculture to improve sustainable defense strategies and productivity of crops. *Frontiers in Plant Science*, *10*(March), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00264>
- Burton, J. W. (1997). Soyabean (*Glycine max*(L.) Merr.). *Field Crops Research*, *53*, 171–186. [https://doi.org/10.1016/s0378-4290\(97\)00030-0](https://doi.org/10.1016/s0378-4290(97)00030-0)
- Carrasco-Ríos, L. (2009). Effect of ultraviolet-B radiation in plants. *Idesia (Arica)*, *27*(3), 59–76. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292009000300009>
- Carunchia Whetstine, M. E., Croissant, A. E., & Drake, M. A. (2005). Characterization of dried whey protein concentrate and isolate flavor. *Journal of Dairy Science*, *88*(11), 3826–3839. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73068-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73068-X)
- Carvalho, R. A., Omoto, C., Field, L. M., Williamson, M. S., & Bass, C. (2013). Investigating the Molecular Mechanisms of Organophosphate and Pyrethroid Resistance in the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda*. *PLoS ONE*, *8*(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062268>
- Cattelan, A. J., & Dall’Agnol, A. (2018). The rapid soybean growth in Brazil. *OCL - Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, *25*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1051/ocl/2017058>
- Demmig-Adams, B. (1990). Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the xanthophyll zeaxanthin. *BBA - Bioenergetics*, *1020*(1), 1–24. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(90\)90088-L](https://doi.org/10.1016/0005-2728(90)90088-L)
- DEUTCH, B., & RASMUSSEN, O. (1974). Growth Chamber Illumination and

- Photomorphogenetic Efficacy I. Physiological action of infrared radiation beyond 750 nm. In *Physiologia Plantarum* (Vol. 30, Issue 1, pp. 64–71). <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1974.tb04993.x>
- Dornelles, K. A. (2008). Absortância solar de superfícies opacas: Métodos de determinação e base de dados para tintas látex acrílica e PVA [Universidade de Campinas]. In *Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Estadual de Campinas. Tese de Doutorado. Campinas* (Issue April 2008). <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4498.0967>
- Dou, H., & Niu, G. (2019). Plant responses to light. In *Plant Factory: An Indoor Vertical Farming System for Efficient Quality Food Production: Second Edition* (pp. 153–166). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816691-8.00009-1>
- Eichhorn Bilodeau, S., Wu, B. Sen, Rufyikiri, A. S., MacPherson, S., & Lefsrud, M. (2019). An update on plant photobiology and implications for cannabis production. *Frontiers in Plant Science*, 10(March). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00296>
- Emwas, A. H. M., Al-Talla, Z. A., Yang, Y., & Kharbatia, N. M. (2015). Gas chromatography–mass spectrometry of biofluids and extracts. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1277, pp. 91–112). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2377-9_8
- Feng, Z., Ding, C., Li, W., Wang, D., & Cui, D. (2020). Applications of metabolomics in the research of soybean plant under abiotic stress. In *Food Chemistry* (Vol. 310). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125914>
- Grant, R. H. (1997). Partitioning of biologically active radiation in plant canopies. *International Journal of Biometeorology*, 40(1), 26–40. <https://doi.org/10.1007/BF02439408>
- Hectors, K., Van Oevelen, S., Geuns, J., Guisez, Y., Jansen, M. A. K., & Prinsen, E. (2014). Dynamic changes in plant secondary metabolites during UV acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*, 152(2), 219–230. <https://doi.org/10.1111/ppl.12168>
- Huang, Y., Han, B., Tang, Q., Xu, H., & Wang, Y. (2009). EAG and behavioural responses of *Apanteles* sp.(Hymenoptera: Braconidae) parasitizing tea geometrids by volatiles from tea shoots. *Acta Entomologica Sinica*, 52(11), 1191–1198.
- Iijima, Y. (2014). Recent Advances in the Application of Metabolomics to Studies of Biogenic Volatile Organic Compounds (BVOC) Produced by Plant. *Metabolites*, 4(3), 699–721. <https://doi.org/10.3390/metabo4030699>
- Jiménez R., Á. A., Rodríguez R., L. D., Murillo A., W., Méndez A., J. J., & Rueda L., E. A. (2013). Actividad anti-alimentaria de metabolitos secundarios de residuos cítricos sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 39(1), 113–119.
- Jordán, M. J., Margaría, C. A., Shaw, P. E., & Goodner, K. L. (2002). Aroma active components in aqueous kiwi fruit essence and kiwi fruit puree by GC-MS and

- multidimensional GC/GC-O. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(19), 5386–5390. <https://doi.org/10.1021/jf020297f>
- Landi, M., Zivcak, M., Sytar, O., & Brestic, M. (2020). Plasticity of photosynthetic processes and the accumulation of secondary metabolites in plants in response to monochromatic light environments : A review. *BBA - Bioenergetics*, 1861(2), 148131. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.148131>
- Liu, Y., Xu, X. L., & Zhou, G. H. (2007). Comparative study of volatile compounds in traditional Chinese Nanjing marinated duck by different extraction techniques. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(5), 543–550. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01264.x>
- Loreto, F., Barta, C., Brillì, F., & Nogues, I. (2006). On the induction of volatile organic compound emissions by plants as consequence of wounding or fluctuations of light and temperature. *Plant, Cell and Environment*, 29(9), 1820–1828. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01561.x>
- Machado, B. B., Orue, J. P. M., Arruda, M. S., Santos, C. V., Sarath, D. S., Goncalves, W. N., Silva, G. G., Pistori, H., Roel, A. R., & Rodrigues-Jr, J. F. (2016). BioLeaf: A professional mobile application to measure foliar damage caused by insect herbivory. *Computers and Electronics in Agriculture*, 129, 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.09.007>
- Majcher, M. A., & Jeleń, H. H. (2005). Identification of potent odorants formed during the preparation of extruded potato snacks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6432–6437. <https://doi.org/10.1021/jf050412x>
- Mao, B., Yin, H., Wang, Y., Zhao, T. H., Tian, R. R., Wang, W., & Ye, J. S. (2017). Combined effects of O₃ and UV radiation on secondary metabolites and endogenous hormones of soybean leaves. *PLoS ONE*, 12(8), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183147>
- Materić, D., Bruhn, D., Turner, C., Morgan, G., Mason, N., & Gauci, V. (2015). Methods in Plant Foliar Volatile Organic Compounds Research. *Applications in Plant Sciences*, 3(12), 1500044. <https://doi.org/10.3732/apps.1500044>
- Mazza, C. A., Giménez, P. I., Kantolic, A. G., & Ballaré, C. L. (2012). Beneficial effects of solar UV-B radiation on soybean yield mediated by reduced insect herbivory under field conditions. *Physiologia Plantarum*, 147(3), 307–315. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01661.x>
- Michereff, M. F. F., Laumann, R. A., Borges, M., Michereff-Filho, M., Diniz, I. R., Neto, A. L. F., & Moraes, M. C. B. (2011). Volatiles Mediating a Plant-Herbivore-Natural Enemy Interaction in Resistant and Susceptible Soybean Cultivars. *Journal of Chemical Ecology*, 37(3), 273–285. <https://doi.org/10.1007/s10886-011-9917-4>
- Middleton, E. M., & Teramura, A. H. (1993). The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage. *Plant Physiology*, 103(3), 741–752. <https://doi.org/10.1104/pp.103.3.741>
- Montezano, D. G., Specht, A., Sosa-Gómez, D. R., Roque-Specht, V. F., Sousa-Silva, J. C., Paula-Moraes, S. V., Peterson, J. A., & Hunt, T. E. (2018). Host Plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas.

- African Entomology*, 26(2), 286–300. <https://doi.org/10.4001/003.026.0286>
- Mu, D., Cui, L., Ge, J., Wang, M. X., Liu, L. F., Yu, X. P., Zhang, Q. H., & Han, B. Y. (2012). Behavioral responses for evaluating the attractiveness of specific tea shoot volatiles to the tea green leafhopper, *Empoaca vitis*. *Insect Science*, 19(2), 229–238. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2011.01476.x>
- Obyedul Kalam Azad, M., Kim, W. W., Park, C. H., & Cho, D. H. (2018). Effect of artificial LED light and far infrared irradiation on phenolic compound, isoflavones and antioxidant capacity in soybean (*Glycine max* L.) sprout. *Foods*, 7(10), 1–10. <https://doi.org/10.3390/foods7100174>
- Omoto, C., Bernardi, O., Salmeron, E., Sorgatto, R. J., Dourado, P. M., Crivellari, A., Carvalho, R. A., Willse, A., Martinelli, S., & Head, G. P. (2016). Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. *Pest Management Science*, 72(9), 1727–1736. <https://doi.org/10.1002/ps.4201>
- Peruca, R. D., Coelho, R. G., da Silva, G. G., Pistori, H., Ravaglia, L. M., Roel, A. R., & Alcantara, G. B. (2018). Impacts of soybean-induced defenses on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) development. *Arthropod-Plant Interactions*, 12(2), 257–266. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9565-x>
- Radulović, N., Mišić, M., Aleksić, J., Doković, D., Palić, R., & Stojanović, G. (2007). Antimicrobial synergism and antagonism of salicylaldehyde in *Filipendula vulgaris* essential oil. *Fitoterapia*, 78(7–8), 565–570. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.03.022>
- Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Grewal, A. S., Srivastav, A. L., & Kaushal, J. (2021). An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of Cleaner Production*, 283, 124657. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>
- Rostás, M., & Eggert, K. (2008). Ontogenetic and spatio-temporal patterns of induced volatiles in *Glycine max* in the light of the optimal defence hypothesis. *Chemoecology*, 18(1), 29–38. <https://doi.org/10.1007/s00049-007-0390-z>
- Sasaki, K., Takase, H., Matsuyama, S., Kobayashi, H., Matsuo, H., Ikoma, G., & Takata, R. (2016). Effect of light exposure on linalool biosynthesis and accumulation in grape berries. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 80(12), 2376–2382. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1217148>
- Scala, A., Allmann, S., Mirabella, R., Haring, M. A., & Schuurink, R. C. (2013). Green leaf volatiles: A plant's multifunctional weapon against herbivores and pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), 17781–17811. <https://doi.org/10.3390/ijms140917781>
- Schmidt-Durán, A., Villalba-Velásquez, V., Chacón-Cerdas, R., Martínez, K., & Flores-Mora, D. (2015). Larval stage prediction model of *Spodoptera frugiperda* collected in fig (*Ficus carica*) and discovery of *Apanteles* sp. as its parasitoid. *Revista Tecnología En Marcha*, 28(1), 47. <https://doi.org/10.18845/tm.v28i1.2191>
- Semenova, N. A., Smirnov, A. A., Ivanitskikh, A. S., Izmailov, A. Y., Dorokhov, A. S., Proshkin, Y. A., Yanykin, D. V., Sarimov, R. R., Gudkov, S. V., & Chilingaryan, N. O. (2022). Impact of Ultraviolet Radiation on the Pigment

- Content and Essential Oil Accumulation in Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(14). <https://doi.org/10.3390/app12147190>
- Silva, D. M., Bueno, A. de F., Andrade, K., Stecca, C. dos S., Neves, P. M. O. J., & Oliveira, M. C. N. (2017). Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. *Scientia Agricola*, 74(1), 18–31. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2015-0160>
- Silva, S. M., Cunha, J. P. A. R. da, Carvalho, S. M. de, Zandonadi, C. H. S., Martins, R. C., & Chang, R. (2017). *Ocimum basilicum* essential oil combined with deltamethrin to improve the management of *Spodoptera frugiperda*. *Ciência e Agrotecnologia*, 41(6), 665–675. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017416016317>
- Silva, S. M., Da Cunha, J. P. A. R., Zandonadi, C. H. S., De Assunção, H. H. T., & Marques, M. G. (2020). Synergistic effects of binary mixtures of linalool with pyrethroids against fall armyworm. *Bioscience Journal*, 36, 228–237. <https://doi.org/10.14393/BJ-V36N0A2020-53972>
- Soria, A. C., García-Sarrió, M. J., & Sanz, M. L. (2015). Volatile sampling by headspace techniques. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 71, 85–99. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.015>
- Stapleton, A. E. (1992). Ultraviolet Radiation and Plants: Burning Questions. *The Plant Cell*, 4(November), 1353–1358. <https://doi.org/10.1105/tpc.4.11.1353>
- Stashenko, E. E., & Martínez, J. R. (2010). Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. *Scientia Chromatographica*, 2, 29–47. <http://www.iicweb.org/scientiachromatographica.com/files/v2n1a3.pdf>
- Storer, N. P., Babcock, J. M., Schlenz, M., Meade, T., Thompson, G. D., Bing, J. W., & Huckaba, R. M. (2010). Discovery and characterization of field resistance to Bt Maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. *Journal of Economic Entomology*, 103(4), 1031–1038. <https://doi.org/10.1603/EC10040>
- Unsicker, S. B., Kunert, G., & Gershenzon, J. (2009). Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(4), 479–485. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.001>
- Venskutonis, R. P., Vasiliauskaite, R., Galdikas, A., & Šetkus, A. (2002). Use of GC-headspace and “electronic nose” for the detection of volatile compounds from glucose-glycine Maillard reaction. *Food Control*, 13(1), 13–21. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(01\)00045-7](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(01)00045-7)
- Villa Castoreña, M. M., & Catalán Valencia, E. A. (2004). Determinación de estadios larvales de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) para la construcción de un modelo de predicción. *Folia Entomológica Mexicana*, 43(3), 307–312.
- Wang, S., Alseekh, S., Fernie, A. R., & Luo, J. (2019). The Structure and Function of Major Plant Metabolite Modifications. *Molecular Plant*, 12(7), 899–919. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.06.001>
- Wang, Y., McCaffrey, J., & Norwood, D. L. (2008). Recent advances in headspace

gas chromatography. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 31(11–12), 1823–1851.
<https://doi.org/10.1080/10826070802129092>

Winter, T. R., & Rostás, M. (2008). Ambient ultraviolet radiation induces protective responses in soybean but does not attenuate indirect defense. *Environmental Pollution*, 155(2), 290–297. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.11.018>

Yu, S. J., Nguyen, S. N., & Abo-Elghar, G. E. (2003). Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 77(1), 1–11.
[https://doi.org/10.1016/S0048-3575\(03\)00079-8](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(03)00079-8)

Zeng, L., Xiao, Y., Zhou, X., Yu, J., Jian, G., Li, J., Chen, J., Tang, J., & Yang, Z. (2021). Uncovering reasons for differential accumulation of linalool in tea cultivars with different leaf area. *Food Chemistry*, 345, 128752.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128752>