



MARIANE COELHO

**RESISTÊNCIA DE SOJA *Bt* E PELA
APLICAÇÃO DE SILÍCIO EM SOJA
CONVENCIONAL A *Helicoverpa armigera*
(Lepidoptera: Noctuidae)**

LAVRAS – MG

2015

MARIANE COELHO

**RESISTÊNCIA DE SOJA *Bt* E PELA APLICAÇÃO DE SILÍCIO EM
SOJA CONVENCIONAL A *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:
Noctuidae)**

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

Orientador

Dr. Jair Campos Moraes

LAVRAS – MG

2015

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

Coelho, Mariane .

Resistência de soja *Bt* e pela aplicação de silício em soja convencional a *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) / Mariane Coelho. – Lavras : UFLA, 2015.

46 p.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Jair Campos Moraes.

Bibliografia.

1. Insecta. 2. Ácido Silícico. 3. Resistência Induzida. 4. MIP. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

MARIANE COELHO

**RESISTÊNCIA DE SOJA *Bt* E PELA APLICAÇÃO DE SILÍCIO EM
SOJA CONVENCIONAL A *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:
Noctuidae)**

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

APROVADA em 20 de fevereiro de 2015.

Dra. Lenira V. C. Santa-Cecília EPAMIG - Sul de Minas

Dr. Rogério Antônio Silva EPAMIG - Sul de Minas

Dr. Jair Campos Moraes

Orientador

LAVRAS – MG

2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pelo dom da vida, pela força e por permitir que eu realizasse esse trabalho.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Entomologia pela realização do mestrado.

A Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Jair Campos Moraes, pela orientação, ensinamentos, paciência e amizade.

Aos pesquisadores Rogério Antônio Silva e Lenira Viana Costa Santa-Cecília, pela participação na banca examinadora e contribuição para a melhoria do trabalho.

A todos os professores do Departamento de Entomologia da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, Dona Irene e Julio Augusto, pela disposição em sempre ajudar e Léa, pela amizade e ajuda.

À minha família, em especial meu pai Francisco e minha mãe Iolanda por todo cuidado, confiança e amor incondicional e meus irmãos Alexandre e Eduardo pela amizade e apoio.

Aos colegas da pós-graduação, pela convivência, amizade e ajuda durante o curso. Principalmente à Roberta por todos os bons momentos vividos juntos nesses anos de mestrado.

Aos colegas de laboratório pela ajuda na condução dos bioensaios.

A todas as pessoas que passaram pelo caminho e que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

RESUMO

Apesar de o Brasil ser o segundo maior produtor de soja, um dos principais problemas encontrados ainda é a incidência de insetos-praga o qual compromete a produção. Dentre os insetos-praga, a lagarta *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) vem causando severos danos à cultura. Identificada recentemente no país, esse inseto tem causado prejuízos significativos pela sua voracidade e alta capacidade de se reproduzir. Como forma de conter essa praga, procura-se por métodos alternativos e sustentáveis de controle, como as variedades resistentes ao inseto e o uso do silício. Assim, os objetivos neste trabalho foram avaliar o desenvolvimento e preferência alimentar de *H. armigera* em soja *Bt* e os efeitos da aplicação do silício em soja convencional. Foram testados os seguintes tratamentos: T1- Soja *Bt* Cry 1Ac; T2- Soja convencional; T3 – Soja convencional + ácido silícico a 1,0% via solo, na dosagem equivalente a 1 t/ha; T4- Soja convencional + ácido silícico a 1,0% via foliar. Pelos resultados foi possível verificar que a soja *Bt* causou alta mortalidade inicial de lagartas e a aplicação de silício via foliar promoveu um aumento na duração da fase larval, uma diminuição do peso larval aos 14 dias de idade e da área foliar consumida, afetando negativamente também o número de adultos defeituosos e a viabilidade de ovos. Além disso, foi observado que a aplicação de silício sobre as folhas de soja afeta negativamente o consumo foliar de lagartas com 2 dias de idade.

Palavras-chave: Insecta. Ácido silícico. Resistência induzida. MIP.

ABSTRACT

Although Brazil is the second largest producer of soybean, one of the main problems is still the incidence of insect pests which compromises the production. Among the insect pests, the caterpillar *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) been causing severe damage to the crop. Recently identified in the country, this insect has caused significant losses by greed and high ability to reproduce. In order to contain this pest, looking for alternative and sustainable methods of control, such as insect-resistant varieties and the use of silicon. Therefore, the objectives of this study were to evaluate the development and feeding preference of *H. armigera* in *Bt* soybean and the effects of silicon application in conventional soybean. The treatments were: T1- Soybean *Bt* Cry 1Ac; T2- Conventional soybean; T3- Conventional soybean + silicic acid to 1.0% in the soil, dose equivalent to 1t/ha; T4- Conventional soybean + silicic acid to 1.0% foliar. From the results it was verified that the *Bt* soybean caused high mortality of caterpillars e the foliar application of silicon caused an increase in the duration of the larval stage, a decrease in larval weight at 14 days of age and defoliation, negatively affecting also the number of defective adults and egg viability. Moreover, it was observed that the application of silicon on soybean leaves adversely affects the leaf consumption caterpillars with 2 days.

Keywords: Insecta. Silicic acid. Induced resistance. IPM.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Cultura da Soja.....	11
2.2	Soja Transgênica (<i>Bt</i>)	12
2.3	A <i>Helicoverpa armigera</i>	14
2.4	Efeitos do silício sobre os insetos - praga.....	17
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Metodologia Geral	20
3.1.1	Cultivo da soja	20
3.1.2	Criação de <i>H. armigera</i>	20
3.1.3	Tratamentos e aplicações de silício	21
3.2	Aspectos biológicos de <i>H. armigera</i> nas fases jovem e adulta	22
3.3	Preferência de <i>H. armigera</i> em teste de livre escolha	23
3.3.1	Teste com chance de escolha.....	23
3.4	Análises estatísticas	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1	Aspectos biológicos de <i>H. armigera</i> nas fases jovem e adulta	25
4.2	Teste de preferência.....	31
5	CONCLUSÃO.....	35
	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) foi a cultura com maior área cultivada no Brasil na safra 2013/2014 e com possibilidade de crescimento na safra 14/15 (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2014). Com uma produção mundial de 285 milhões de toneladas, o Brasil é considerado o segundo maior produtor desse grão (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2013), sendo que na última safra teve uma área plantada de aproximadamente 30 milhões de hectares com uma produção de grãos de 86 milhões de toneladas e uma produtividade de 2, 854 kg/ha, destacando o estado do Mato Grosso que é o estado maior produtor do país. (CONAB, 2014).

Um dos principais problemas encontrados pelos produtores no cultivo de soja é a incidência de insetos-praga e doenças que aumentam principalmente o custo de produção (MOREIRA et al., 2010). Dentre os insetos-praga que atacam a soja, atualmente as lagartas de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) vem causando grandes prejuízos na produção de grãos no Brasil (ÁVILA; VIVAN; TOMQUELSKI, 2013).

H. armigera é uma praga importante em muitas culturas ao redor do mundo e é relatado atacando mais de 60 espécies de plantas. Está amplamente distribuída no mundo, causando prejuízos desde a América do Sul até a Oceania. É uma praga polífaga, possui alta mobilidade, alta fecundidade e sobrevive nos mais variados ambientes, o que caracteriza esse inseto como uma praga de grande importância agrícola (FATHIPOUR; SEDARATIAN, 2013).

Como forma de reduzir os impactos do uso de produtos fitossanitários, tem-se tornado intensa a procura por estratégias alternativas, dessa maneira o uso de variedades transgênicas tem se destacado como um método alternativo ao químico no controle de lagartas.

Plantas transgênicas ou culturas geneticamente modificadas contêm um gene que foi artificialmente inserido a partir de técnicas de biologia

molecular (ALMEIDA; LAMOUNIER, 2005). Recentemente, foi liberado para uso comercial o primeiro evento de soja resistente a insetos, a soja MON 87701 x MON 89788 (*Bt*/RR2), que possui genes que expressa a proteína Cry 1Ac de *Bt* e a proteína 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) de *Agrobacterium* sp. conferindo tolerância ao herbicida glifosato (BERNARDI et al., 2012; BRASIL, 2010).

Outra estratégia de controle é a indução de resistência. A resistência induzida é o aumento do nível de resistência da planta utilizando agentes externos (indutores), sem qualquer alteração do genoma da planta, sendo uma alternativa de controle de fácil manejo e baixo custo (STADNIK, 2000).

Entre os indutores encontra-se o silício que combina barreiras físicas e químicas, como a lignificação da parede celular, formação de papilas ou indução de várias proteínas de defesa, que, além de conferir resistência também proporcionam incremento na produção agrícola (FRENCH-MONAR et al., 2010; LI et al., 2009; MA; YAMAJI, 2008; PEREIRA et al., 2009).

O fornecimento de Si em culturas pode reduzir o uso de produtos fitossanitários, proporcionando a obtenção de produção de maior qualidade, além de gerar menos impacto ambiental nos sistemas de produção (PEREIRA et al., 2004).

Considerando que o silício é um método alternativo que promove benefícios às plantas contribuindo para o controle de pragas (EPSTEIN, 2001; MARSCHNER, 1995) espera-se que ocorra uma interação positiva entre a soja e o silício, pois a tecnologia do evento MON 87701 X MON 89788 torna-se uma alternativa promissora para o manejo dessa praga na soja (ALI; LUTTRELL; YOUNG, 2006).

Nesse contexto, os objetivos nesta pesquisa foram avaliar o desenvolvimento e preferência alimentar de *H. armigera* em soja *Bt* e os efeitos da aplicação de silício em soja convencional os efeitos da aplicação de silício em soja convencional.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura da Soja

A soja é uma planta herbácea incluída na classe das dicotiledôneas, pertencente à família Fabaceae (leguminosa) sendo a espécie mais cultivada a *Glycine Max* L. Merrill (HIRAOKA, 2008). No Brasil há relatos que a soja foi trazida por imigrantes japoneses, mas oficialmente a soja foi importada dos Estados Unidos para o Brasil no ano de 1882 (BLACK, 2000). Somente, em 1914, a soja foi introduzida no Rio Grande do Sul onde a mesma encontrou condições ideais para seu desenvolvimento (BONETTI, 1981) e atualmente a exploração dessa oleaginosa é encontrada nos mais variados ambientes (FREITAS, 2011).

A soja é uma planta de ciclo geralmente anual, sendo que variedades brasileiras possuem ciclo de 100 a 140 dias, com crescimento determinado ou indeterminado chegando a uma altura de 60 a 120 cm. Possui raiz principal pivotante com raízes secundárias e terciárias, folhas longas pecioladas com três folíolos cordiformes, flores com autofecundação e vagens levemente arqueadas com sementes lisas de coloração geralmente amarelada (BORÉM, 1999).

Ao longo do desenvolvimento, a planta de soja passa pelos seguintes estágios: fase vegetativa - VC (emergência a cotilédones abertos), V1 (primeiro nó; folhas unifolioladas abertas), V2 (segundo nó; primeiro trifólio aberto), V3 (terceiro nó; segundo trifólio aberto) e Vn (enésimo nó com trifólio aberto antes da floração); fase reprodutiva - R1 (início da floração: 50% das plantas com uma flor aberta), R2 (floração plena: maioria dos racemos com flores abertas), R3 (início de formação de vagens: vagens com 5 mm no quarto nó da parte superior das plantas), R4 (etapa final de crescimento das vagens: vagens com 2 a 4 cm no quarto nó da parte superior das plantas), R5 (início do desenvolvimento dos grãos à etapa final, no

quarto nó da parte superior das plantas), R6 (enchimento completo das vagens: grãos enchendo totalmente as lojas das vagens no terço superior das plantas), R7 (maturação fisiológica: uma vagem madura e maioria das vagens amareladas no terço superior das plantas) e R8 (maturação: 95% das vagens maduras) (COSTA, 1996; RITCHIE; HANWAY; THOMPSON, 1982).

Suas formas de utilização vão desde a alimentação humana até a alimentação animal sendo um grão rico em proteínas. O óleo de soja é o mais utilizado pela população mundial no preparo de alimentos e também é extensivamente usado em rações animais. Outros produtos derivados da soja incluem farinha, sabão, cosméticos, resinas, tintas, solventes e biodiesel (COELHO et al., 2011). O consumo da soja na alimentação humana entre os brasileiros está aumentando, em decorrência da divulgação dos benefícios da soja para a saúde humana e do crescimento da oferta no mercado de produtos à base de soja de melhor qualidade (CARRÃO-PANIZZI; SILVA, 2011).

No mercado da soja, os maiores produtores mundiais são os Estados Unidos seguido do Brasil e produzem juntos cerca de 178 milhões de toneladas de grão, significando uma participação de aproximadamente 60% na produção mundial. Na safra 2013/2014, a produção de soja foi de aproximadamente 86 milhões de toneladas distribuída da seguinte forma: Norte com 3,4 milhões de toneladas; Nordeste com 6,6 milhões de toneladas; Sudeste com 5,01 milhões de toneladas; Sul com 29,29 milhões de toneladas e Centro-Oeste com 41,80 milhões; numa área de 30 milhões de ha com produtividade de 2, 854 kg/ha (CONAB, 2014).

2.2 Soja Transgênica (*Bt*)

Os organismos geneticamente modificados (OGM) são aqueles organismos que têm seu material genético modificado pela introdução de um ou mais genes através da técnica de biologia molecular. Assim, genes oriundos de diferentes vegetais, animais ou microorganismos podem ser

introduzidos em um genoma vegetal receptor, conferindo às plantas novas características para a otimização da produção de alimentos, fármacos e outros produtos industriais (NODARI; GUERRA, 2003).

Plantas transgênicas com fins comerciais começaram a ser criadas nos anos 80 (KLEBA, 1998), sendo que diversas variedades de plantas geneticamente modificadas foram aprovadas e introduzidas para a plantação como, por exemplo, a soja, o milho, a canola e o algodão ao longo dos anos seguintes (CARDELLI et al., 2005; GERMINI et al., 2004). Dentre essas plantas, a mais comercializada é a soja RR (*Roundup Ready*), cuja patente pertence à empresa multinacional norte-americana Monsanto, que foi desenvolvida através da introdução de um gene oriundo de uma bactéria do gênero *Agrobacterium*, presente ao solo, para aumentar a tolerância ao herbicida glifosato (CASTRO, 2008).

A grande maioria das plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos expressa genes derivados da bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) de ocorrência natural, gram-positiva, esporulante e anaeróbica facultativa. O mecanismo de ação das proteínas Cry do *Bt* envolvem a solubilização do cristal no intestino médio do inseto, a ação das proteases sobre a protoxina, a aderência da toxina Cry aos receptores do intestino médio e a sua inserção dentro da membrana apical criando canais de íons ou poros. A degradação dos cristais protéicos por enzimas proteolíticas libera as δ -endotoxinas (proteínas menores). A atividade das δ -endotoxinas está restrita ao trato digestivo dos insetos. Após a solubilização, muitas protoxinas devem ser processadas por proteases presentes no intestino médio do inseto para se tornarem toxinas ativas (TOJO; AIZAWA, 1983).

Assim, a soja geneticamente modificada resistente a insetos e tolerante ao herbicida glifosato (MON 87701 x MON 89788) foi aprovado para uso comercial no Brasil em 2010, é uma ferramenta importante em programas de manejo de insetos-praga como *Anticarsia gemmatilis* e *Pseudoplusia includens* (BERNARDI et al., 2014), porém quando se trata de

H. armigera, mais estudos deverão ser feitos para a constatação da eficiência de controle por esse evento.

2.3 A *Helicoverpa armigera*

A lagarta *H. armigera* apresenta ampla distribuição geográfica, sendo registrada na Europa, Ásia, África e Oceania (GUO 1997; ZALUCKI et al. 1986). Até recentemente, não havia sido registrada no continente americano, sendo considerada praga quarentenária no Brasil (CZEPAK et al., 2013). Pertence à ordem Lepidoptera, família Noctuidae, subfamília Heliiothinae, gênero *Helicoverpa* Hardwick 1965 e espécie *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (HELICOVERPA ARMIGERA, 2013).

É uma espécie extremamente polífaga, cujas larvas foram registradas em mais de 60 espécies de plantas cultivadas e silvestres e em cerca de 70 famílias hospedeiras (POGUE, 2004), podendo causar danos a diferentes culturas de importância econômica (FITT, 1989; MORAL GARCIA, 2006; REED, 1965). Apesar do registro em diversas espécies, no Brasil essa praga foi detectada associada principalmente às culturas de algodão e de soja causando danos significativos (CZEPAK et al., 2013).

A fase jovem dessa espécie pode se alimentar tanto dos órgãos vegetativos como reprodutivos de várias espécies de plantas de importância econômica. Estima-se que a perda mundial causada por lagartas de *H. armigera*, nas diferentes culturas em que ataca, chega anualmente a 5 bilhões de dólares (LAMMERS; MacLEOD, 2007).

As maiores intensidades de danos econômicos causados por essa praga foram verificadas nas culturas de algodão, milho, soja, feijão, tomate e sorgo, sendo que as lagartas podem se alimentar de folhas e hastes dessas plantas, mas tem preferência pelas estruturas reprodutivas como botões florais, frutos, maçãs, espigas e inflorescências, causando deformações ou

podridões nestas estruturas ou até mesmo a queda das mesmas (CUNNINGHAM; ZALUCKI; WEST, 1999).

É um inseto holometábolo, ou seja, de metamorfose completa, em que o seu desenvolvimento biológico passa pelas fases de ovo, lagarta, pré-pupa, pupa e adulto. O período de incubação dos ovos é, em média, de 3,3 dias (ALI; CHOUDHURY, 2009). As fêmeas realizam a oviposição normalmente durante o período noturno e colocam seus ovos de forma isolada ou em pequenos agrupamentos preferencialmente na face adaxial das folhas ou sobre talos, flores, frutos e brotações terminais com superfícies pubescentes (MENSAH, 1996). Cada fêmea, durante o período de oviposição, pode colocar de 2.200 até 3.000 ovos sobre as plantas hospedeiras, o que caracteriza o elevado potencial reprodutivo dessa espécie (NASERI et al., 2011; REED, 1965).

O período larval é completado com o desenvolvimento de seis instares com duração de aproximadamente 16 dias. Os primeiros instares larvais alimentam-se inicialmente das partes mais tenras das plantas, onde podem produzir um tipo de teia ou até mesmo formar um pequeno casulo. À medida que as larvas crescem, adquirem diferentes colorações podendo o tipo de alimentação utilizada influenciar na sua coloração (ALI; CHOUDHURY, 2009).

A partir do quarto ínstar, as lagartas apresentam tubérculos abdominais escuros e bem visíveis na região dorsal do primeiro segmento abdominal, os quais são dispostos na forma de semicírculo, aparentando formato de sela, sendo esta característica determinante para a identificação de lagartas de *H. armigera* (MATTHEWS, 1999).

Outra característica detectável nas lagartas dessa espécie diz respeito à textura do seu tegumento, que se apresenta com aspecto levemente coriáceo, diferindo das demais espécies de Heliothinae que ocorrem no Brasil (CZEPAK; VIVAN; ALBERNAZ, 2013). Em adição, a lagarta de *H. armigera*, quando é tocada, apresenta o comportamento de encurvar a cápsula cefálica em direção à região ventral do primeiro par de falsas pernas,

provavelmente exibindo comportamento de defesa (ÁVILA; VIVAN; TOMQUESKI, 2013).

A pupa dessa praga é do tipo obtecta, sendo que este estágio dura entre 10 a 14 dias (ALI; CHOUDHURY, 2009). O desenvolvimento pupal ocorre no solo e, dependendo das condições climáticas, pode entrar em diapausa (KARIM, 2000).

É uma espécie que apresenta grande mobilidade e alta capacidade de sobrevivência, mesmo em condições adversas, podendo completar várias gerações ao longo do ano e finalizando o seu ciclo de ovo a adulto no período de quatro a seis semanas (FITT, 1989). Além disso, pode se dispersar com grande facilidade, pois os adultos são migrantes naturais e apresentam movimento de longo alcance, podendo chegar a 1.000 km de distância (PEDGLEY, 1985).

O manejo dessa praga no Brasil ainda se encontra em fase inicial de estabelecimento. Entretanto, com base em estudos realizados em outros países, a identificação correta da espécie, técnicas efetivas de amostragem de ovos e lagartas são essenciais, como subsídios para as tomadas de decisão sobre melhores táticas de controle, devendo os levantamentos ser realizados em todas as possíveis culturas hospedeiras (CZEPAK et al., 2013).

Como táticas de controle a serem recomendadas, pode-se considerar, tendo como referência outros países, as armadilhas de feromônio sexual da praga, a utilização de materiais resistentes, *Bt* ou convencionais, a destruição de restos da cultura, a liberação de inimigos naturais, e, por fim, o uso de inseticidas seletivos, visando à manutenção dos inimigos naturais nas áreas agrícolas (DURAIMURUGAN; REGUPATHY, 2005; KING; COLEMAN, 1989; KUMAR; SAINI; RAM, 2009).

2.4 Efeitos do silício sobre os insetos-praga

O elemento silício (Si) não é considerado por muitos especialistas como um nutriente essencial para o funcionamento da planta. No entanto, o Si é absorvido do solo em grandes quantidades que são várias vezes superiores aos dos outros macronutrientes essenciais em determinadas espécies de plantas. Seus efeitos benéficos têm sido relatados em várias situações, especialmente sob condições de estresse biótico e abiótico. O efeito mais significativo de Si para plantas, além de melhorar a sua aptidão na natureza e aumentar a produtividade agrícola, é a defesa contra ataques de pragas (RODRIGUES; DATNOFF, 2005).

As espécies vegetais possuem diferente capacidade de absorver e acumular silício em seus tecidos (CHIBA et al., 2009; MA et al., 2007). A soja se classifica como intermediária, a qual apresenta quantidade considerável de Si, quando a concentração do elemento no meio é alta, pois transloca livremente das raízes para a parte aérea, esse processo é facilitado pelos nódulos de fixação de nitrogênio presente nas raízes dessa cultura (MIYAKE; TAKAHASHI, 1985).

O acúmulo e a polimerização de silício na célula epidérmica, logo abaixo da cutícula, formam uma barreira mecânica denominada “dupla camada silício-cutícula”, ajudando a manter as folhas mais eretas, diminuindo a transpiração e protegendo as plantas contra o ataque de patógenos e insetos-praga (SAVANT; DATNOFF; SNYDER, 1997).

A barreira mecânica proporcionada pelo silício não é o único mecanismo de defesa ao ataque de insetos. O silício também atua como elicitador induzindo uma defesa química. Em trabalhos com plantas de batata, o silício aumentou as atividades enzimáticas da planta, indicando uma síntese de compostos de defesa das plantas contra agentes externos (GOMES et al., 2008).

Rodrigues et al. (2011) demonstraram que o Si aplicado no solo interfere no desenvolvimento da cigarrinha-das-raízes (*Mahanarva fimbriolata* Stål, Hemiptera: Cercopidae), uma das principais pragas da cana-de-açúcar no Brasil. O Si aumentou a mortalidade das ninfas e diminuiu a longevidade dos machos e das fêmeas em laboratório, e em condições de campo diminuiu a população de ninfas, melhorando a qualidade da matéria-prima.

Moraes et al. (2004) estudaram a influência do silício na relação tritrófica: plantas de trigo, pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) e seus inimigos naturais *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) e *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) e constataram que o silício não afetou o comportamento biológico dos inimigos naturais do pulgão e assim ocorrendo uma interação positiva entre resistência e o terceiro nível trófico.

Goussain et al. (2002) verificaram alta mortalidade da lagarta-do-cartucho do milho, *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), quando alimentadas com folhas provenientes de plantas que receberam Si no solo e observaram acentuado desgaste nas mandíbulas dessas lagartas. Mesmo com doses menores, o silício causou dano à mandíbula, resultando da deposição dos cristais na folha fato que dificultou a alimentação das mesmas.

Segundo Assis et al. (2013), a aplicação de silício combinada com injúrias mecânicas afetou a palatabilidade da folha do girassol e o desenvolvimento de *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson (Lepidoptera: Nymphalidae).

Segundo Kvedaras et al. (2010), a eficácia do silício também pode ser observada no terceiro nível trófico, observando plantas de pepino, com silício aplicado via solo, ao serem atacados por *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) atraíam mais o predador *Dicranolaius bellulus* (Guérin-Méneville) (Coleoptera: Melyridae), tendo uma relação positiva entre o silício e o predador.

Um grande número de materiais industrializados pode ser utilizado como fonte de silicatos na agricultura. Dentre eles, podemos destacar: escórias de siderurgia, wollastonita, subprodutos da produção de fósforo elementar, silicatos de cálcio, sódio, potássio e magnésio, cimento, termofosfato, entre outros (LIMA FILHO; LIMA; TSAI, 1999), neste trabalho foi utilizado uma fonte pura de ácido silícico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Metodologia Geral

O experimento foi conduzido no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e em casa de vegetação no Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, Minas Gerais, no período de fevereiro a novembro de 2014.

3.1.1 Cultivo da soja

Em casa de vegetação, foram semeadas sete sementes da variedade de soja *Bt Intacta RR2 PRO Cry 1Ac* (Monsanto) e da soja convencional variedade *Conquista* por vaso de polietileno com capacidade para 5kg de substrato, composto de solo (Latosolo vermelho) adubado com o equivalente a 250 kg/ha da fórmula 4-14-8 (NPK). As plantas foram irrigadas diariamente, com o objetivo de suprir as necessidades hídricas da cultura. Sete dias após a emergência, foram desbastadas deixando-se apenas as quatro plântulas mais vigorosas por vaso.

3.1.2 Criação de *H. armigera*

A criação foi iniciada com lagartas trazidas da Embrapa Milho e Sorgo de Sete lagoas – MG, as quais foram mantidas em tubos de vidro contendo dieta artificial modificada por José R. P. Parra e colaboradores, ESALQ-USP (comunicação pessoal, 2014). Esses tubos foram tampados com algodão hidrófilo, identificados e mantidos em BOD a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ UR e 12 horas de fotofase (MIRONIDIS; SAVOPOULOU-SOULTANI, 2008).

Após a eclosão, parte das lagartas foram transferidas para placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo folhas de soja de acordo com os tratamentos do experimento e outra parte foi transferida para dieta, dando continuação à criação de manutenção.

As pupas, logo após a sua formação, foram retiradas e transferidas para gaiolas de PVC de 20 cm de altura e 15 cm de diâmetro, revestidas internamente com papel toalha que serviu como substrato de oviposição, com a parte inferior apoiada em bandejas plásticas de 25 cm de diâmetro forradas com papel filtro, sendo a parte superior vedada com tecido *voil* (MIRONIDIS; SAVOPOULOU-SOULTANI, 2008). Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10% (TOPPER, 1987) e as gaiolas foram mantidas em BOD nas mesmas condições acima.

3.1.3 Tratamentos e aplicações de silício

Foram utilizados quatro tratamentos: 1) Soja transgênica Intacta RR2 PRO (*Bt Cry 1Ac*); 2) Soja convencional (Conquista); 3) Soja convencional + silício no solo; 4) Soja convencional + silício via foliar.

Para o silício via solo, foi realizada uma aplicação de 500 ml de solução de ácido silícico a 1% (Vetec Química Fina, Duque de Caxias, Brasil), por vaso de 5 kg numa dosagem equivalente a 1 t/ha. Essa solução foi aplicada no solo, ao redor das plantas, aos 10 dias após a emergência, enquanto os vasos da testemunha receberam 500 ml de água.

Para o silício foliar, foi pulverizado sobre as folhas em forma de solução de ácido silícico a 1,0% até o escorrimento. Essa solução foi pulverizada em plantas com 45 dias, cinco dias antes do fornecimento para as lagartas. Para determinar o volume de calda na aplicação foliar, foram realizados testes preliminares medindo-se o volume do pulverizador antes e depois da aplicação, sendo na média um volume de 100 ml/planta. Os vasos da testemunha foram pulverizados com água na mesma quantidade.

3.2 Aspectos biológicos de *H. armigera* nas fases jovem e adulta

Foram utilizados os tratamentos descritos acima sendo que para cada tratamento foram utilizadas dez repetições, sendo cada repetição formado por cinco placas de Petri, contendo uma lagarta.

Fase de larva: 50 lagartas recém-eclodidas foram colocadas em placas de Petri de 20 cm de diâmetro revestidas com papel filtro onde foram alimentadas com secções foliares de 6 cm de plantas de soja, sem tratamento, do estágio V5 (ZHANG et al., 2004), período em que a cultura inicia a perda de rendimento pela desfolha (CAVINESS; THOMAS, 1980), durante dois dias.

Após esse período, as lagartas sobreviventes foram individualizadas, de acordo com os tratamentos, em placas de Petri menores onde continha uma secção foliar de soja sendo que essas foram substituídas diariamente ao longo de todo o período larval.

Assim, antes de cada troca e do descarte das folhas já consumidas, as secções foliares foram medidas utilizando-se o medidor de área foliar portátil AM300 (ADC BioScientific Ltd, England) para se determinar o consumo diário.

Fase de pupa: as pupas, após 24 horas da formação, foram pesadas em balança de precisão e, posteriormente, foi determinado o sexo e separadas em casais de acordo com os tratamentos. Esses casais foram transferidos para gaiolas cilíndricas de PVC de 20 cm de altura e 15 cm de diâmetro, revestidas com papel toalha e vedadas com tecido tipo *voil* onde permaneceram até a emergência dos adultos.

Fase adulta: os adultos permaneceram nas gaiolas de PVC e foi fornecido como alimento um chumaço de algodão embebido com mel e água a 10% (TOPPER, 1987), que foi trocado a cada dois dias. Posteriormente, foram separados 100 ovos de 1ª e 2ª postura de cada tratamento,

aconicionados em câmara climatizada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR (MIRONIDIS; SAVOPOULOU-SOULTANI, 2008) e fotofase de 12 horas, para determinação da viabilidade. Os parâmetros avaliados foram os seguintes: a) Fase larval: duração da fase, peso aos 14 dias de idade, área foliar consumida, porcentagem de mortalidade; b) Fase de pupa: duração da fase; peso 24 horas após a formação, viabilidade; c) Fase adulta: longevidade, razão sexual, número e viabilidade de ovos da 1ª e 2ª postura e porcentagem de adultos defeituosos.

3.3 Preferência de *H. armigera* em teste de livre escolha

Foram utilizados os quatro tratamentos descritos anteriormente. O delineamento usado foi em blocos ao acaso e os testes com chance de escolha foram repetidos 10 vezes.

3.3.1 Teste com chance de escolha

Lagartas de 2 e 7 dias: uma secção foliar de soja de cada tratamento de 6 cm de diâmetro com 45 dias de emergência (estágio V5-V6) foram dispostas de forma equidistante em placas de Petri de 20 cm de diâmetro, no sistema de arena, colocadas sobre ágar-água a 1%.

Para avaliar a preferência das lagartas de dois dias de idade, as placas contendo folhas de soja dos tratamentos foram infestadas com vinte lagartas no centro da placa, que foi vedada com papel filme de PVC e posteriormente escurecidas com papel jornal para evitar a orientação dos insetos em direção à luz.

As placas foram mantidas em BOD a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e UR de $70 \pm 10\%$. O número de lagartas sobre cada folha foi registrado após 24h e 48h da liberação dos insetos, sendo que as lagartas que ficavam no substrato não

eram contabilizadas e, ao final de 48h, foi medido o consumo foliar de acordo (modificado de MENDES et al., 2011).

Para avaliar a preferência das lagartas de sete dias de idade, as placas foram infestadas com apenas uma lagarta, liberada no centro da placa e após 24h foi identificado o tratamento preferido e a área foliar consumida pela lagarta foi medida. Para a comparação dos tratamentos em relação à testemunha foi utilizada o índice de repelência (IR) (adaptado de LIN; KOGAN; FISCHER, 1990) calculado pela fórmula $IR = 2G / (G + P)$, na qual $G = \%$ de insetos na planta teste e $P = \%$ de insetos na testemunha, sendo $IR = 1$, planta neutra; $IR > 1$, planta atraente e $IR < 1$, planta repelente.

Para determinar o índice de preferência em relação ao consumo foliar adaptado por Kogan e Goeden (1970) tanto para o bioensaio de não-preferência como para o de biologia, foi calculado pela fórmula: $IP = 2A / (M + A)$, em que: $A =$ área consumida nas plantas tratadas, e $M =$ área consumida nas plantas não-tratadas, sendo $IP < 1$ (fagodeterrente), $IP = 1$ (neutra) e $IP > 1$ (fagoestimulante).

3.4 Análises estatísticas

Os dados dos dois bioensaios foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) por meio do software SAEG 9.0 (UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV, 2000), sendo os de contagem e de porcentagem de mortalidade transformados, antes das análises, respectivamente em $\sqrt{X+0,5}$ e arco-seno $\sqrt{X/100}$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Aspectos biológicos de *H. armigera* nas fases jovem e adulta

Fase de larva: verificou-se mortalidade total de lagartas no tratamento de soja transgênica (Tabela 1), diferindo estatisticamente dos outros tratamentos. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Viana (2014) que também relatou 100% de mortalidade quando avaliou os parâmetros biológicos de lagartas de *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) quando alimentadas com algodão transgênico o qual expressa a mesma proteína (Cry 1Ac). Os resultados também corroboram aos de Bortolotto et al. (2014) que também relataram 100% de mortalidade ao avaliarem a sobrevivência de *Heliothis virescens* alimentadas com soja Intacta RR2 Pro. Isso pode ser devido ao fato que lagartas pequenas tendem a ser mais sensíveis à ação da proteína do que lagartas maiores como relataram Mendes et al. (2011) quando avaliaram a resposta da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado. Assim, também, Duton, Romeis e Bigler (2005) relatam que lagartas em estágios iniciais são mais sensíveis às toxinas *Bt* devido a alterações na atividade específica de proteases no suco intestinal.

Observou-se também que o tratamento soja convencional + silício foliar (SiF) diferiu significativamente dos outros tratamentos quando avaliou-se os parâmetros: duração da fase de larva, peso larval e área foliar consumida com 30,2dias, 25mg e 229,3mm², respectivamente.

Tabela 1 Mortalidade de lagartas (%), duração da fase de larva (dias), peso larval aos 14 dias de idade (mg) e área foliar consumida (AFC) (mm²) (média ± erro padrão) de *H. armigera* em soja *Bt* e em função da aplicação de silício via solo (SiS) e via foliar (SiF) em soja convencional cv. Conquista (n= número de lagartas).

Tratamentos	Mortalidade (%)*	Peso (mg)*	Duração (dias)*	AFC (mm ²) *
Soja 'Intacta RR2 Pro <i>Bt</i> '	100 ± 0,0 a n=50	--	--	--
Soja 'Conquista'	62 ± 7,6 b n= 50	68 ± 4 a n= 40	23,4 ± 0,52 b n= 19	530,4 ± 42,72 a
Soja 'Conquista' + SiS	68 ± 6,1 b n= 50	56 ± 5 a n= 36	25,4 ± 0,96 b n= 16	541,9 ± 59,25 a
Soja 'Conquista' + SiF	72 ± 8,5 b n= 50	25 ± 3 b n= 22	30,2 ± 0,51 a n= 14	229,3 ± 55,11 b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Os resultados verificados nesta pesquisa são semelhantes aos de Antunes et al. (2010) que ao avaliarem o efeito do Si nos aspectos biológicos de *S. frugiperda* também relataram que lagartas alimentadas com folhas tratadas com Si teve um aumento no seu ciclo biológico, o que pode ser devido à barreira mecânica formada pelo depósito de sílica na superfície foliar, o qual dificulta a alimentação e conseqüentemente aumenta o ciclo.

Singh e Parihar (1988) relatam que o tempo de desenvolvimento mais lento em um hospedeiro particular significa um ciclo de vida mais longo, baixa capacidade reprodutiva e lento crescimento populacional, justificando o aumento da duração do ciclo de vida e a baixa viabilidade de ovos que será discutida posteriormente.

Esses resultados assemelham-se aos encontrados por Assis et al. (2013) que observam alterações no desenvolvimento da lagarta preta *Chlosine lacinia saundersii* quando alimentadas com folhas de girassol tratadas com ácido silícico.

Santos (2012), ao avaliar o efeito de diversas fontes de silício aplicado via solo e via foliar em tomate nos aspectos biológicos de *Tuta absoluta*, relataram que o ácido silícico aplicado via foliar aumentou a duração da fase de lagarta, corroborando o resultado encontrado nessa pesquisa. O ácido silícico aplicado via foliar forma uma camada de cristais de sílica sobre a epiderme das folhas (FERNANDES et al., 2009), sendo que esse fato pode ter dificultado a mastigação das lagartas, afetando diretamente sua alimentação (menor área foliar consumida) e conseqüentemente os aspectos biológicos como menor peso larval e maior duração da fase.

Fase de pupa: verificou-se (Tabela 2) que a duração da fase de pupa, peso de pupa, viabilidade de pupa e razão sexual não tiveram diferenças significativas entre os tratamentos. Os resultados dessa pesquisa corroboram aos obtidos por Silva et al. (2014) que ao alimentar *S. frugiperda* com folhas de algodoeiro de fibra colorida tratado com silício, também não encontraram diferenças significativas na viabilidade de pupa e razão sexual em relação as plantas de algodoeiro sem silício.

Tabela 2 Peso de pupa após 24h da formação (PP) (g), viabilidade de pupa (VP) (%), razão sexual (RS), duração da fase de pupa (DFP) (dias) e porcentagem de adultos defeituosos (AD) (média \pm erro padrão) de *H. armigera* em soja *Bt* e em função da aplicação de silício via solo (SiS) e via foliar (SiF) em soja convencional cv. Conquista (n= número de lagartas).

Tratamentos	PP ^{ns}	VP ^{ns}	RS ^{ns}	DFP ^{ns}	AD (%)*
Soja 'Intacta RR2 Pro <i>Bt</i> '	--	--	--	--	--
Soja 'Conquista'	0,187 \pm 0,0130 n= 19	68,5 \pm 14,28 n= 19	0,5 \pm 0,15 n= 19	13,2 \pm 0,29 n= 14	4,7 \pm 4,75 b n= 14
Soja 'Conquista' + SiS	0,166 \pm 0,0189 n= 16	68,5 \pm 11,60 n= 16	0,6 \pm 0,12 n= 15	13,2 \pm 0,30 n= 11	72,9 \pm 14,06 a n= 11
Soja 'Conquista' + SiF	0,152 \pm 0,0118 n= 14	59,5 \pm 17,00 n= 14	0,3 \pm 0,16 n= 14	13,4 \pm 0,70 n= 10	35,0 \pm 18,71 a n= 10

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$);

^{ns} = não significativo pelo teste F ($p > 0,05$).

Goussain et al. (2002), como nesta pesquisa, também não encontraram diferenças significativas para as características biológicas de *S. frugiperda* relacionadas à peso, viabilidade e duração da fase de pupa quando foram alimentadas com milho tratado com Si aplicado no solo. Entretanto, esses resultados foram contrários dos encontrados por Santos (2012) que relataram menor peso de pupa quando lagartas de *T. absoluta* foram alimentadas com folhas de tomateiro tratado com ácido silícico aplicado via foliar.

Com relação ao parâmetro porcentagem de adultos defeituosos, foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com silício e sem silício. Não se pode afirmar que seja um efeito da presença do Si, mas pode ser considerado um ponto inicial para um estudo mais aprofundado dos reais efeitos fisiológicos e morfológicos causados pelo uso desse elemento. Rosenthal e Dahlman (1975) relatam que a qualidade do alimento da larva pode afetar as características fenotípicas da pupa e do adulto, sendo que os efeitos mais observados são pupas distorcidas e adultos com asas mal formadas.

Fase Adulta: observou-se que não houve diferenças significativas entre os parâmetros longevidade de macho e fêmea e número de ovos nos diferentes tratamentos (Tabela 3). Esses resultados corroboram com aqueles obtidos por Silva et al. (2014) que ao avaliarem o efeito do silício na fase adulta de *S. frugiperda* também não encontraram diferenças significativas nos parâmetros longevidade de macho e de fêmea.

Tabela 3 Longevidade de fêmea (LF) (dias), longevidade de machos (LM) (dias), número de ovos (NO) e viabilidade de ovos (VO) (%), (média ± erro padrão) de *H. armigera* em soja *Bt* e em função da aplicação de silício via solo (SiS) e via foliar (SiF) em soja convencional cv. Conquista.

Tratamentos	LF ^{ns}	LM ^{ns}	NO ^{ns}	VO (%) [*]
Soja 'Intacta RR2 Pro <i>Bt</i> '	--	--	--	--
Soja 'Conquista'	21,7 ± 2,54	21,7 ± 3,16	666,7 ± 190,3	22,9 ± 10,71a
Soja 'Conquista' + SiS	16,2 ± 5,18	16,7 ± 1,25	551,0 ± 221,9	23,7 ± 11,95a
Soja 'Conquista' + SiF	14,0 ± 4,16	9,0 ± 2,74	412,6 ± 151,1	0,74 ± 0,53 b

^{ns} = Não significativo pelo teste F ($p > 0,05$).

^{*} significativo pelo teste do Qui-quadrado

Para o parâmetro viabilidade de ovos foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos, destacando o da soja tratada com silício foliar (soja + SiF) com porcentagem mais baixa, 0,74%, e, assim, pode-se sugerir que a presença do silício na alimentação das lagartas pode afetar populações futuras do inseto.

De uma maneira geral, os parâmetros de reprodução de um inseto são componentes essenciais no desenvolvimento de estratégias no manejo de pragas. Fecundidade e longevidade de espécies de *Helicoverpa* são influenciadas pela nutrição larval e adulta, temperatura e umidade (ADJEI-MAAFO; WILSON, 1983; LIU et al., 2004) e, dessa forma, o silício afetando negativamente o desenvolvimento de *H. armigera* torna-se uma ferramenta importante no manejo desse inseto-praga.

4.2 Teste de preferência

Teste com chance de escolha (lagartas com 2 dias de vida): Nas duas avaliações, as 24h e 48h após a liberação das lagartas com 2 dias de vida, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos

(Tabela 4). Os resultados desta pesquisa são semelhantes aos observados por Antunes et al. (2010) avaliando a preferência de lagartas *S. frugiperda* em milho tratado com silício.

Os resultados corroboram também aos encontrados por Freitas Junqueira e Michereff Filho (2011), quando avaliaram o potencial do silício aplicado via foliar em folhas de repolho para o controle da traça-das-crucíferas, relataram que o número de lagartas sobre os discos de repolho tratados com silício não diferiu estatisticamente como se verificaram nesse trabalho.

Tabela 4 Número de lagartas (média±erro padrão) às 24h e 48h de *H. armigera* com 2 dias de idade em secções foliares de soja *Bt* e soja convencional tratadas com silício no solo (SiS) e via foliar (SiF) (n=20 lagartas)

Tratamentos	Número de lagartas	
	24h ^{ns}	48h ^{ns}
Soja ‘Intacta RR <i>Bt</i> ’	3,1 ± 0,77	2,1 ± 0,38
Soja ‘Conquista’	4,4 ± 0,80	4,3 ± 0,65
Soja ‘Conquista’ + SiS	5,2 ± 0,79	4,7 ± 0,90
Soja ‘Conquista’ + SiF	3,4 ± 0,62	3,6 ± 0,73

^{ns} = Não significativo pelo teste F ($p>0,05$).

No entanto, houve um menor consumo foliar nas folhas de soja *Bt* (7,1 mm²). Plantas de soja da variedade Conquista tratadas com silício via solo não apresentaram diferenças significativas em relação a não aplicação desse elemento, sendo o consumo de 119,4 mm² e 195,3 mm², respectivamente (Tabela 5).

Os tratamentos com soja *Bt* e soja 'Conquista'+SiF foram menos consumidos, podendo indicar a presença de substâncias supressoras ou deterrentes, sendo classificadas como fagodeterrente (Tabela 5). Considerando que a soja *Bt* expressa a proteína Cry 1Ac, resultados deste estudo são semelhantes aos encontrados por Jesus (2009), que estudou a preferência alimentar de *S. frugiperda* por algodoeiro transgênico (NuOpal, com a mesma proteína Cry 1Ac), e verificou mecanismos de resistência de não-preferência para alimentação.

Souza et al. (2012) verificaram em genótipos de cacau que a aplicação de diferentes doses de silicato de potássio via solo, reduziu a porcentagens de folhas atacadas por insetos, contrariando os resultados encontrados no presente trabalho em que o tratamento de Soja 'Conquista'+SiS foi mais consumido.

Goussain et al. (2002) explica que a resistência conferida pelo Si pode estar relacionada à formação de uma barreira estrutural, tornando as células mais rígidas, assim o aparelho bucal desses insetos-praga seria danificado, dificultando a sua alimentação. O maior consumo foliar foi observado nos tratamentos com soja 'Conquista' e soja 'Conquista'+SiS. Esse maior consumo na planta tratada com SiS, possivelmente, pode ser devido ao fato da soja ser considerada intermediária em termos de absorção de Si (TAKAHASHI; MA; MIYAKE, 1990) e, portanto, não acumularia Si suficiente para causar efeitos no comportamento alimentar da lagarta *H. armigera*.

Tabela 5 Área foliar consumida (AFC) (mm²) (média±erro padrão) e Índice de Preferência (IP) às 48h de *H. armigera* com 2 dias de vida

Tratamentos	AFC*	IP	Classificação do IP
Soja ‘Intacta RR Bt’	7,1 ± 7,10 b	0,11	Fagodeterrente
Soja ‘Conquista’	119,4 ± 27,40 a	-	-
Soja ‘Conquista’ + SiS	195,3 ± 51,20 a	1,24	Fagoestimulante
Soja ‘Conquista’ + SiF	102,0 ± 44,80 ab	0,92	Fagodeterrente

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p>0,05$); $IP=2A/(M+A)$, em que A=área consumida nas plantas tratadas, e M= área consumida nas plantas não-tratadas. Classificação: $IP < 1$ (fagodeterrente), $IP=1$ (neutra) e $IP > 1$ (fagoestimulante)

Teste com chance de escolha (lagartas com 7 dias de vida): não se observaram diferenças significativas entre os tratamentos para área foliar consumida (Tabela 6). Assis et al. (2012) encontraram resultados contrários ao desta pesquisa quando avaliaram a preferência alimentar da lagarta preta *C. lacinia saundersii* em folhas de girassol tratadas com Si, provavelmente por se tratar de outra espécie de lagarta e de planta oferecida.

Tabela 6 Área foliar consumida (AFC) (mm²) (média±erro padrão), às 24h de *H. armigera* com 7 dias de vida.

Tratamentos	AFC ^{ns}
Soja ‘Intacta RR Bt’	114,8 ± 62,95
Soja ‘Conquista’	203,6 ± 75,26
Soja ‘Conquista’ + SiS	52,3 ± 31,40
Soja ‘Conquista’ + SiF	66,4 ± 42,92

^{ns} = Não significativo pelo teste F ($p>0$)

5 CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos podemos concluir que ocorreu alta mortalidade de lagartas quando alimentadas com soja *Bt*, a aplicação de silício via foliar afeta a mortalidade, peso de lagartas aos 14 dias de idade, duração da fase de lagarta, área foliar consumida e viabilidade de ovos comprometendo as populações futuras, porém não afeta a preferência alimentar de lagartas com 2 dias de vida.

REFERÊNCIAS

ADJEI-MAAFO, I. K.; WILSON, L. T. Association of cotton nectar production with *Heliothis punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition. **Environmental Entomology**, College Park, v. 12, n. 4, p. 1166-1170, 1983.

ALI, A.; CHOUDHURY, R. A. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. **Tunisian Journal of Plant Protection**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 99-106, 2009.

ALI, M. I.; LUTTRELL, R. G.; YOUNG, S. Y. Susceptibilities of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera:Noctuidae) populations to Cry1Ac insecticidal protein. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 99, n. 1, p. 164-175, 2006.

ALMEIDA, G. C. S. de; LAMOUNIER, W. M. Os alimentos transgênicos na agricultura brasileira: evolução e perspectivas. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, Lavras, v. 7, n. 3, p. 345-355, 2005.

ANTUNES, C. S. et al. Influência da aplicação de silício na ocorrência de lagartas (Lepidoptera) e de seus inimigos naturais chaves em milho (*Zea mays* L.) e em girassol (*Helianthus annuus* L.). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 4, p. 619-625, July/Aug. 2010.

ASSIS, F. A. et al. Inducers of resistance in potato and its effects on defoliators and predatory insects. **Revista Colombiana de Entomologia**, Bogotá, v. 38, n. 1, p. 30-34, jan./jun. 2012.

ASSIS, F. A. et al. The effects of foliar spray application of silicon on plant damage levels and components of larval biology of the pest butterfly *Chlosyne lacinia saundersii* (Nymphalidae). **International Journal of Pest Management**, London, v. 59, n. 2, p. 128-134, 2013.

ÁVILA, C. J.; VIVAN, L. M.; TOMQUELSKI, G. V. **Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas.**

Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. (Embrapa Agropecuária Oeste. Circular técnica, 23).

BERNARDI, O. et al. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701× MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, Sussex, v. 68, n. 7, p. 1083-1091, 2012.

BERNARDI, O. et al. High levels of biological activity of Cry1Ac protein expressed on MON 87701× MON 89788 soybean against *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science**, Sussex, v. 70, n. 4, p. 588-594, 2014.

BLACK, R. J. Complexo soja: fundamentos, situação atual e perspectiva. In: CÂMARA, G. M. S. (Ed.). **Soja: tecnologia de produção II**. Piracicaba: ESALQ, 2000. p. 1-18.

BONETTI, L. P. Distribuição da soja no mundo: origem, história e distribuição. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Ed.). **A soja no Brasil**. Campinas, SP: ITAL, 1981. p. 1-6.

BORÉM, A. Escape gênico. **Revista de Biotecnologia**, Brasília, DF, n. 10, p. 101-107, set./out. 1999.

BORTOLOTTI, O. C. et al. Biological characteristics of *Heliothis virescens* fed with Bt-soybean MON 87701× MON 89788 and its conventional isolate. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 2, p. 973-980, 2014.

BRASIL. Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. **Commercial Release of Genetically Modified Insect-resistant and Herbicide-tolerant Soy Containing Genetically Modified Events MON 87701 and MON 89788**. Brasília, DF, 2010. (Technical Opinion No. 2542/2010). Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15558.html>>. Acesso em: 2 dez. 2014.

CARDELLI, P. et al. Detection of GMO in food products in Brazil: the INCQS experience. **Food Control**, Guildford, v. 16, n. 10, p. 859-866, 2005.

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; SILVA, J. B. Soja na alimentação humana: qualidade na produção de grãos com valor agregado. In: CONGRESSO DE LA SOJA DEL MERCOSUR, 5.; FORO DE LA SOJA ÁSIA: MERCOSUR, 1., 2011, Rosário. [**Anais...**] [Londrina: Universidade Federal de Londrina], 2011.

CASTRO, B. S. A introdução no Brasil do algodão, milho e soja geneticamente modificados: coincidências reveladoras. In: CONGRESSO BRASA, 9., 2008, New Orleans. [**Anais...**] New Orleans: Tulane University, 2008.

CAVINESS, C. E.; THOMAS, J. D. Yield reduction from defoliation of irrigated and non-irrigated soybeans. **Agronomy Journal**, Madison, v. 72, n. 6, p. 977-980, 1980.

CHIBA, Y. et al. HvLsi is a silicon influx transporter in barley. **Plant Journal**, Oxford, v. 57, n. 5, p. 810-818, 2009.

COELHO, H. A. et al. Eficiência agronômica da aplicação foliar de nutrientes na cultura da soja. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 4, n. 11, p. 73-78, 2011.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília, DF, 2014. v. 1, safra 2013/2014, n. 7, 7º levantamento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_04_14_11_56_28_boletim_graos_abril_2014.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2014.

COSTA, J. A. **Cultura da soja**. Porto Alegre: I. Manica, J. A. Costa, 1996.

CUNNINGHAM, J. P.; ZALUCKI, M. P.; WEST, S. A. Learning in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): a new look at the behaviour and control of a polyphagous pest. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 89, n. 3, p. 201-207, 1999.

CZEPAK, C. et al. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 1, p. 110-113, jan./mar. 2013.

CZEPAK, C.; VIVAN, L. M.; ALBERNAZ, K. C. Praga da vez. **Cultivar: grandes culturas**, Pelotas, ano 15, n. 167, p. 20-27, abr. 2013.

DURAIMURUGAN, P.; REGUPATHY A. Mitigation of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera:Noctuidae) by conjunctive use of trap crops, neem and *Trichogramma chilonis* ishii in cotton. **International Journal of Zoological Research**, Faisalabad, v. 1, n. 1, p. 53-58, 2005.

DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on Spodoptera littoralis. **Entomologia Experimentalis Applicata**, [s.l.], v. 114, p. 161-169, 2005.

EPSTEIN, E. Silicon in plants: facts vs concepts. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. The Netherlands: Elsevier Science, 2001. p. 1-10.

FATHIPOUR, Y.; SEDARATIAN, A. Integrated Management of *Helicoverpa armigera* in Soybean Cropping Systems. In: EL-SHEMY, H. A. (Ed.). **Soybean: Pest Resistance**. Rijeka: InTech, Feb. 2013. cap. 9. 2013. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/967161/1/SoybeanPestResistance.pdf>>. Acesso em: 30 jan. 2014.

FERNANDES, A. L. T. et al. Utilização do silício no controle de pragas e doenças do cafeeiro irrigado. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 6, p. 11-52, 2009.

FITT, G. P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 34, n. 1, p. 17-52, 1989.

FREITAS, L. M. de; JUNQUEIRA, A. M. R.; MICHEREFF FILHO, M. Potencial de uso do silício no manejo integrado da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*, em plantas de repolho. **Caatinga**, Mossoro, v. 25, n. 1, p. 8-13, 2011.

FREITAS, M. de C. M. de. A cultura da soja no Brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 12, p. 1-12, 2011.

FRENCH-MONAR, R. D. et al. Silicon suppresses Phytophthora blight development on bell pepper. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 158, n. 7-8, p. 554-560, 2010.

GERMINI, A. et al. Development of a seven-target multiplex PCR for the simultaneous detection of transgenic soybean and maize in feeds and foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 11, p. 3275-3280, June 2004.

GOMES, F. B. et al. Uso de Silício como Indutor de Resistência em Batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, n. 2, p. 185-190, 2008.

GOUSSAIN, M. M. et al. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico de lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 305-310, 2002.

GUO, Y. Y. Progress in the researches on migration regularity of *Helicoverpa armigera* and relationships between the pest and its host plants. **Acta Entomologica Sinica**, Beijing, v. 40, n. 1, p. 1-6, 1997.

HELICOVERPA ARMIGERA. In: FAUNA europaea. Version 2.6.2. 29 Aug. 2013. Disponível em: <http://www.faunaeur.org/full_results.php?id=449072>. Acesso em: 14 fev. 2014.

HIRAOKA, N. K. **A importância do uso da soja na alimentação**. 2008. 40 f. Produção didático-pedagógica – Secretaria de Estado da Educação do Paraná, Assis Chateaubriand, 2008.

JESUS, F. G. **Resistência de cultivares de algodoeiro sobre *Spodoptera frugiperda* e *Alabama argillacea* (Lepidoptera: Noctuidae) e efeito na biologia e comportamento de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera:**

Pentatomidae). 2009. 85 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

KARIM, S. Management of *Helicoverpa armigera*: a review and prospectus for Pakistan. Pakistan. **Journal of Biological Sciences**, Murree, v. 3, n. 8, p. 1213-1222, 2000.

KING, E. G.; COLEMAN, R. J. Potential for biological control of *Heliothis* species. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 34, n. 1, p. 53-75, 1989.

KLEBA, J. B. Riscos e benefícios de plantas transgênicas resistentes a herbicidas: o caso da soja RR da Monsanto. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, DF, v. 25, n. 3, p. 9-42, set./dez. 1998.

KOGAN, M.; GOEDEN, R. D. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Annals of Entomological Society of America**, Lanham, v. 63, p. 1175-1180, 1970.

KVEDARAS, O. L. et al. Silicon enhances natural enemy attraction and biological control through induced plant defences. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 100, n. 3, p. 367-371, June 2010.

KUMAR, S.; SAINI, R. K.; RAM, P. Natural mortality of *Helicoverpa armigera* (Hübner) eggs in the cotton ecosystem. **Journal of Agricultural Science and Technology**, article 3, v. 11, n. 1, p. 17-25, Jan./Feb. 2009.

LAMMERS, J. W.; MacLEOD, A. **Report of a pest risk analysis: *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808)**. [S.l.: s.n.], 2007. Disponível em: <file:///C:/Users/Fabiano%20Goulart/Downloads/Risicobeoordeling%20Pest%20Risk%20Analysis%20-%20Helicoverpa%20armigera.pdf>. Acesso em: 3 fev. 2014.

LI, Y. C. et al. Antifungal activity of sodium silicate on *Fusarium sulphureum* and its effect on dry rot of potato tubers. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 74, n. 5, p. 213-218, June 2009.

LIMA FILHO, O. F.; LIMA, M. T. G.; TSAI, S. M. O silício na agricultura. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 87, p. 1-7, 1999.

LIN, H. C. M.; KOGAN, M.; FISCHER, D. Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): comparisons of inducing factors. **Environmental Entomology**, College Park, v. 19, p. 1852-1857, Dec. 1990.

LIU, Z. et al. Life table studies of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera, Noctuidae), on different host plants. **Environmental Entomology**, College Park, v. 33, p. 1570-1576, 2004.

MA, J. F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 65, n. 19, p. 3049-3057, 2008.

MA, J. F. et al. An efflux transporter of silicon in rice. **Nature**, London, v. 448, p. 209-212, 2007.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd. ed. London: Academic, 1995.

MATTHEWS, M. **Heliothinae moths of Australia: a guide to pest bollworms and related noctuid groups**. Melbourne: CSIRO, 1999.

MENDES, S. M et al. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A (b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, n. 3, p. 239-244, 2011.

MENSAH, R. K. Supression of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition by use of the natural enemy food supplement Envirofeast. **Australian Journal of Entomology**, Canberra, v. 35, n. 4, p. 323-329, Nov. 1996.

MIRONIDIS, G. K.; SAVOPOULOU-SOULTANI, M. Development, survivorship, and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) under constant and alternating temperatures. **Environmental Entomology**, College Park, v. 37, n. 1, p. 16-28, 2008.

MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Effect of silicon on the growth of soybean plants in a solution culture. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 31, n. 4, p. 625-636, 1985.

MORAES, J. C. et al. Silicon influence on the tritrophic interaction: wheat plants, the greenbug *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae), and its natural enemies, *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) and *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 619-624, 2004.

MORAL GARCIA, F. J. Analysis of the spatiotemporal distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in a tomato field using a stochastic approach. **Biosystems Engineering**, Bedford, v. 93, n. 3, p. 253-259, 2006.

MOREIRA, A. R. et al. Resposta da cultura de soja a aplicação de silício foliar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 413-423, May/June 2010.

NASERI, B. et al. Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Tehran, v. 13, p. 17-26, 2011.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Plantas transgênicas e seus Produtos: Impactos, Riscos e Segurança Alimentar (Biossegurança de Plantas Transgênicas). **Revista de Nutrição**, Campinas, SP, v. 16, n. 1, p. 105-116, 2003.

PEDGLEY, D. E. Windborne migration of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the British Isles. **Entomologist's Gazette**, Wallingford, v. 36, n. 1, p. 15-20, 1985.

PEREIRA, H. S. et al. Fontes de silício para a cultura do arroz [Silicon sources for rice]. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 61, p. 35-42, 2004.

PEREIRA, S. C. et al. Aplicação foliar de silício na resistência da soja à ferrugem e na atividade de enzimas de defesa. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 34, n. 3, p. 164-170, maio/jun. 2009.

POGUE, M. G. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliiothinae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lexington, v. 97, n. 6, p. 1222-1226, 2004.

REED, W. *Heliothis armigera* (Hb.) (Noctuidae) in western Tanganyika: II. Ecology and natural and chemical control. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 56, n. 1, p. 127-140, 1965.

RITCHIE, S.; HANWAY, J. J.; THOMPSON, H. E. **How a Soybean Plant Develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, Coop. Ext. Ser., 1982. (Special Report, 53).

RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon-mediated resistance in monocots: the rice-magnaporthe grisea model. In: SILICON IN AGRICULTURE CONFERENCE, 3., 2005, Uberlândia. **Proceedings...** Uberlândia: Federal University of Uberlândia, 2005. p. 26-27.

RODRIGUES, F. de A. et al. Silício: um elemento benéfico e importante para as plantas. **Informações agrônômicas**, Piracicaba, n. 134, p. 16-20, jun. 2011.

ROSENTHAL, G. A.; DAHLMAN, D. L. Non-protein amino acid-insect interactions—II. Effects of canaline-urea cycle amino acids on growth and development of the tobacco hornworm, *Manduca sexta* L.(Sphingidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, New York, v. 52, n. 1, p. 105-108, 1975.

SANTOS, M. C. dos. **Efeito de silício em características morfológicas, comportamentais e na história de vida da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae)**. 2012. 102 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2012.

SAVANT, N. K.; DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H. Depletion of plant-available silicon in soils: A possible cause of declining rice yields. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 28, p. 1245-1252, 1997.

SILVA, A. A. et al. Biologia de Spodoptera frugiperda (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro de fibra colorida tratado com silício. **EntomoBrasilis**, Vassouras, v. 7, n. 1, p. 65-68, 2014.

SINGH, O. P.; PARIHAR, S. B. B. Effect of different hosts on the development of *Heliothis armigera* Hub. **Bulletin of Entomology**, [s.l.], v. 29, p. 168-172, 1988.

SOUZA, C. A. S. et al. Influência do silício sobre o crescimento, a fluorescência da clorofila a e na incidência de insetos-pragas em genótipos de cacau. **Agrotrópica**, Ilhéus, n. 24, v. 1, p. 31-40, 2012.

STADNIK, M. Indução de resistência a oídios. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 23., 2000, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: GPF, 2000. p. 176-181.

TAKAHASHI, E.; MA, J. F.; MIYAKE, Y. The possibility of silicon as an essential element for higher plants. **Comments on Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 2, p. 99-122, 1990.

TOJO, A.; AIZAWA, K. Dissolution and degradation of Bacillus thuringiensis endotoxin by gut juice protease of silkworm Bombyx mori. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 45, p. 576-580, 1983.

TOPPER, C. P. Nocturnal behaviour of adults of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in the Sudan Gezira and pest control implications. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 77, n. 3, p. 541-554, 1987.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **Sistema de análise estatísticas e genéticas**: SAEG. versão 9.0. Viçosa, MG, 2000. 1 CD-ROM.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 2013. Disponível em: <<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>> Acesso em: 15 jan. 2014.

VIANA, D. de L. **Efeitos de cultivares de algodoeiro que expressam as proteínas Cry1Ac e Cry1F nos parâmetros biológicos de *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae).** 2014. 55 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.

ZALUCKI, M. P. et al. The biology and ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: what do we know? **Australian Journal of Zoology**, Melbourne, v. 34, n. 6, p. 779-814, 1986.

ZHANG, J. H. et al. Feeding behavior of *Helicoverpa armigera* larvae on insect-resistant transgenic cotton and non-transgenic cotton. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 128, n. 3, p. 218-225, Apr. 2004.