



**AMANDA MARIA NASCIMENTO**

**SILÍCIO E METIL JASMONATO NA INDUÇÃO DE  
RESISTÊNCIA A *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:  
NOCTUIDAE), NO DESENVOLVIMENTO  
VEGETATIVO E ESTABILIDADE GENÉTICA DE  
PLANTAS DE ARROZ**

**LAVRAS-MG  
2017**

**AMANDA MARIA NASCIMENTO**

**SILÍCIO E METIL JASMONATO NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), NO DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO E ESTABILIDADE GENÉTICA DE PLANTAS DE ARROZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Manejo Integrado de Pragas, para a obtenção do título de Doutora.

Prof. Dr. Jair Campos Moraes  
Orientador  
Dra. Franscinely Aparecida de Assis  
Coorientadora

**LAVRAS-MG  
2017**

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

Nascimento, Amanda Maria.

Silício e metil jasmonato na indução de resistência a  
*Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), no  
desenvolvimento vegetativo e estabilidade genética de plantas de  
arroz / Amanda Maria Nascimento. - 2017.

68 p. : il.

Orientador(a): Jair Campos de Moraes.

Coorientador(a): Franscinely Aparecida de Assis.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Resistência induzida. 2. Arroz. 3. Lagarta-da-folha. I.  
Moraes, Jair Campos de. II. Assis, Franscinely Aparecida de. III.  
Título.

**AMANDA MARIA NASCIMENTO**

**SILÍCIO E METIL JASMONATO NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), NO DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO E ESTABILIDADE GENÉTICA DE PLANTAS DE ARROZ**

**USE OF SILICON AND METHYL JASMONATE IN THE INDUCTION OF RESISTANCE TO *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN THE VEGETATIVE DEVELOPMENT AND GENETIC STABILITY OF RICE PLANTS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Manejo Integrado de Pragas, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2017.

Dra. Eliana Alcantra - UNINCOR

Dra. Lenira Viana Costa Santa Cecília - EPAMIG

Dr. Rogério Antônio da Silva - EPAMIG

Dra. Rosangela Cristina Marucci - UFLA

Prof. Dr. Jair Campos Moraes

Orientador

Dra. Franscinely Aparecida de Assis

Coorientadora

**LAVRAS-MG**

**2017**

*Aos meus pais Lúcia e Aquiles, meus grandes amores,  
pelo exemplo e apoio.  
Dedico*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Entomologia, pela oportunidade da realização do doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa de pesquisa agropecuária de Minas Gerais (Epamig) pelo fornecimento das sementes utilizadas neste trabalho.

Ao professor Jair Campos Moraes, pelos ensinamentos, paciência e orientação.

À Franscinely Assis, pela coorientação, amizade, ensinamentos, paciência e auxílio na condução dos experimentos.

À professora Leila Pio pela colaboração e confiança.

Aos pesquisadores Lenira Viana Costa Santa-Cecília, Rogério Antônio Silva e às professoras Eliana Alcantra e Rosangela Cristina Marucci, pelas contribuições ao meu trabalho e participação na banca examinadora.

Aos professores do Departamento de Entomologia, pelos ensinamentos.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Entomologia, em especial a Dona Irene e Julinho, pelo auxílio, orações e apoio.

Aos amigos, Érika Silveira, Rafaella Sâmia, Isabela Peixoto, Mariana Hamaue, Ana Luiza Viana, Bruno Melo, Roberta Alvarenga, Dyrson Abbade e Rodrigo Lopes pelas conversas, ajuda e diversão.

Aos meus irmãos, Ariane, Alberty e Álvaro, pelo apoio, conselhos e amor.

Aos meus sobrinhos, Alberto, Alice, Betina, Anita, Augusto e Laura, por me fazerem mais feliz.

Ao Hélio, pela paciência e companheirismo.

## RESUMO

A lagarta *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto-praga polífago que causa danos econômicos em diversas espécies vegetais, inclusive na cultura de arroz. A utilização de inseticidas para o controle de *S. frugiperda* tem promovido a seleção de indivíduos resistentes e poluição ambiental, justificando a busca por métodos alternativos de controle no manejo desse inseto. Dessa forma, objetivou-se neste trabalho avaliar os efeitos do silício (Si) e do metil jasmonato (MeJA) no comportamento e biologia de *S. frugiperda*, bem como possíveis alterações proporcionadas por esses indutores no desenvolvimento vegetativo e na estabilidade genética de plantas de arroz, visando fornecer subsídios para o manejo do inseto-praga. Para isso, foram testados os seguintes tratamentos: T1-Testemunha (sem aplicação de Si e MeJA); T2-Tween foliar; T3- Si *drench*; T4- MeJA foliar e T5- Si *drench* + MeJA foliar. De acordo com os resultados foi verificado que a aplicação de Si e MeJA afetam negativamente o consumo foliar, o ganho de massa de lagartas, a preferência para oviposição e fecundidade dos adultos. A aplicação de Si ou de Si+ MeJA também proporcionaram aumento na altura, no índice relativo de clorofila, massa fresca e seca, além de favorecer maior acúmulo de Si nas plantas. Entretanto, não houve diferença na quantidade de DNA e no coeficiente de variação entre os tratamentos. Assim, conclui-se que o emprego do Si e MeJA promove aumento da resistência da planta a *S. frugiperda* e contribui para o desenvolvimento vegetativo sem afetar a estabilidade genética de plantas de arroz.

**Palavras-chave:** Ácido silícico, jasmonatos, lagarta-da-folha, *Oryza sativa* L., quantificação de DNA, resistência induzida.

## ABSTRACT

The *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillar is a polyphagous insect pest that causes economic damage to many plant species, including rice. The use of insecticides to control *S. frugiperda* has been causing the selection of resistant individuals and environmental pollution, which justifies the search for alternative control methods in the management of this insect. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of silicon (Si) and methyl jasmonate (MeJA) on the behavior and biology of *S. frugiperda*, as well as possible modifications caused by these inductors to the vegetative development and genetic stability of rice plants, aiming to provide subsidies for the management of the insect pest. To do so, the following treatments were tested: T1-Control Group (no use of Si and MeJA); T2-foliar Tween; T3- Si drench; T4- foliar MeJA and T5- Si drench + foliar MeJA. According to the results, it was verified that the use of Si and MeJA negatively affects foliar consumption, weight gain of caterpillars, the preference for oviposition and fertility of adults. The application of Si or of Si + MeJA also caused increase in height, in relative chlorophyll index, dry and fresh mass, besides favoring a greater accumulation of Si in plants. However, there was no difference in the quantity of DNA and in the variation coefficient among treatments. Thus, it was concluded that the use of Si and MeJA causes an increase in the resistance of the plant to *S. frugiperda* and it contributed to the vegetative development without affecting the genetic stability of rice plants.

**Keywords:** Silicic acid, jasmonates, fall armyworm, *Oryza sativa* L., DNA quantification, induced resistance.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Absorção e efeitos do silício em plantas e insetos.....19
- Figura 2 – Efeito do metil jasmonato em plantas e insetos.....21
- Figura 3 – Ganho de massa de lagartas às 72h ( $\pm$  erro padrão) de *Spodoptera frugiperda* em ensaio sem chance de escolha em arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos. Letras distintas nas colunas indicam diferenças significativas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Barras verticais indicam erro padrão ( $\pm$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato.....33
- Figura 4 – Média do total de ovos por fêmea ( $\pm$  erro padrão) de *Spodoptera frugiperda* em ensaio com chance de escolha em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos. Letras distintas nas colunas indicam diferenças significativas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Barras verticais indicam erro padrão ( $\pm$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato.....37
- Figura 5 – Total de ovos por fêmea ( $\pm$  erro padrão) de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos. Letras distintas nas colunas indicam diferenças significativas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Barras verticais indicam erro padrão ( $\pm$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato.....45
- Figura 6 – Concentração de silício ( $\text{SiO}_2$ ) (%) ( $\pm$  erro padrão) em massa seca da parte aérea de arroz (*Oryza sativa* L.) submetido a diferentes tratamentos. Letras distintas nas colunas indicam diferenças significativas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Barras verticais indicam erro padrão ( $\pm$ ). Si: Silício e MeJA: Metil jasmonato.....47
- Figura 7 – Histogramas obtidos por análise citométrica de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidos a diferentes tratamentos. (A) Testemunha, (B) Tween, (C) Silício, (D) Metil jasmonato, (E) Silício e Metil jasmonato.....53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Área foliar consumida (cm <sup>2</sup> ) e mortalidade de lagartas (%) às 24, 48 e 72h (média±erro padrão), em teste sem chance de escolha, de <i>Spodoptera frugiperda</i> de 3º instar em seções foliares de arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos.....	32
Tabela 2 – Número médio de lagartas em ensaio com chance de escolha às 24, 48 e 72 horas e consumo foliar (cm <sup>2</sup> ) (±erro padrão) de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos.....	35
Tabela 3 – Número médio de ovos da 1ª, 2ª, 3ª, 4ª avaliação e total de ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (média±erro padrão) em teste com chance de escolha, em plantas de arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos.....	37
Tabela 4 – Número médio de ovos da 1ª, 2ª, 3ª, 4ª avaliação e total de ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (média±erro padrão) em teste sem chance de escolha, em plantas de arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos.....	39
Tabela 5 – Duração da fase larval (dias), peso de lagartas aos 10 dias (mg), mortalidade de lagartas (%), área foliar consumida (cm <sup>2</sup> ), duração da fase de pupa (dias), peso de pupa (mg) e viabilidade de pupa (%) (média±erro padrão) de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos. ....	43
Tabela 6 – Longevidade de macho e fêmea, razão sexual, número de ovos de 1ª e 2ª postura, viabilidade de 1ª e 2ª postura, número de posturas (média±erro padrão) de adultos de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos.....	44
Tabela 7 – Altura (cm), índice relativo de clorofila (SPAD), massa fresca e seca (g) da parte aérea (média±erro padrão) de plantas de arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos.....	49
Tabela 8 – Correlação linear paramétrica de Pearson entre a concentração de silício e as características fitotécnicas e fisiológica de plantas de arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.).....	50
Tabela 9 – Conteúdo de DNA e coeficiente de variação (CV) de folhas de arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) submetida a diferentes tratamentos, analisados por citometria de fluxo.....	51

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	13
2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO .....	15
3.1	A cultura de arroz: importância nutricional e aspectos produtivos .....	15
3.2	Insetos-praga associados a cultura de arroz: a espécie <i>S. frugiperda</i> .....	16
3.3	Defesa de plantas .....	18
3.4	Indutores de resistência e seus papéis na defesa e no desenvolvimento vegetativo das plantas .....	19
3.4.1	O silício .....	19
3.4.2	Jasmonatos .....	21
3.5	Citometria de fluxo .....	23
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	24
4.1	Local de condução dos ensaios e plantio do material vegetal .....	24
4.2	Criação da lagarta <i>S. frugiperda</i> em laboratório .....	25
4.3	Preparo e aplicação das soluções com silício (Si), metil jasmonato (MeJA) e tween .....	25
4.4	Preferência alimentar de <i>S. frugiperda</i> em plantas de arroz tratadas com Si e MeJA.....	26
4.4.1	Teste sem chance de escolha .....	26
4.4.2	Teste com chance de escolha.....	27
4.5	Preferência para oviposição de <i>S. frugiperda</i> em plantas de arroz tratadas com Si e MeJA.....	27
4.5.1	Teste com chance de escolha.....	27
4.5.2	Teste sem chance de escolha .....	28
4.6	Aspectos biológicos de <i>S. frugiperda</i> , desenvolvimento vegetativo e estabilidade genética de plantas de arroz tratadas com Si e MeJA.....	28
4.6.1	Aspectos biológicos das fases imaturas de <i>S. frugiperda</i> .....	29
4.6.2	Desenvolvimento biológico da fase adulta de <i>S. frugiperda</i> .....	30
4.6.3	Características fitotécnicas, fisiológica e concentração de silício.....	30
4.6.4	Estabilidade genética analisada por citometria de fluxo .....	31
4.7	Análise estatística.....	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
5.1	Preferência alimentar de <i>S. frugiperda</i> em plantas de arroz tratadas com Si e MeJA.....	32
5.1.1	Teste sem chance de escolha .....	32
5.1.2	Teste com chance de escolha.....	35
5.2	Preferência para oviposição de <i>S. frugiperda</i> em plantas de arroz tratadas com Si e MeJA.....	37
5.2.1	Teste com chance de escolha.....	37
5.2.2	Teste sem chance de escolha .....	40
5.3	Aspectos biológicos de <i>S. frugiperda</i> , desenvolvimento vegetativo e estabilidade genética de plantas de arroz tratadas com Si e MeJA.....	41
5.3.1	Aspectos biológicos das fases imaturas de <i>S. frugiperda</i> .....	41
5.3.2	Desenvolvimento biológico da fase adulta de <i>S. frugiperda</i> .....	44
5.3.3	Características fitotécnicas, fisiológicas e teor de Si .....	48
5.3.4	Estabilidade genética analisada por citometria de fluxo .....	52
6	CONCLUSÕES.....	55

<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>55</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>56</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.), um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, caracteriza-se como o principal alimento para mais da metade da população mundial (AOKI et al., 2016). Essa cultura sofre danos por grande diversidade de patógenos e insetos fitófagos, resultando em perdas severas na produtividade, além da redução da qualidade dos grãos (LITSINGER; BANDONG; CANAPI, 2011).

Dentre os insetos que ocorrem associados a essa cultura, destaca-se a espécie *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), uma praga polífaga nativa de regiões tropicais e amplamente distribuída, devido sua extensa gama de hospedeiros (POGUE, 2002). Esse inseto-praga se alimenta principalmente de poáceas e possui alto potencial de dano para a cultura de arroz. Para seu controle, são utilizados principalmente inseticidas dos grupos piretroide e benzoilfeniluréia (BRASIL, 2016), para os quais esse inseto já apresenta resistência (CARVALHO et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2015).

Portanto, tornam-se necessárias pesquisas por métodos alternativos de controle, no intuito de promover um manejo eficaz e sustentável dessa lagarta. Nesse contexto, a resistência induzida de plantas pela utilização de agentes externos, possui potencial para ser adotada em programas de manejo integrado de pragas (HOLOPAINEN et al., 2009). A resistência induzida direta, afeta diretamente os insetos por meio dos mecanismos antixenose e/ ou antibiose (SHARMA, SUJANA; RAO, 2009; ZHAN et al., 2015), enquanto a resistência induzida indireta é mediada por voláteis emitidos por plantas em resposta a danos causados por insetos, tornando-as mais atrativas a parasitoides e predadores (ATAIDE et al., 2016).

A utilização de silício como indutor pode promover o aumento da resistência de plantas a insetos herbívoros (REYNOLDS et al., 2016), seja pela barreira mecânica, devido à deposição de sílica na epiderme foliar (GOUSSAIN et al., 2002; REYNOLDS; KEEPING; MEYER, 2009); pela indução da atividade de enzimas de defesa (HAN et al., 2016) ou pelo aumento da liberação de compostos voláteis de plantas, atraindo inimigos naturais (KVEDARAS et al., 2010).

Além disso, existem relatos na literatura que comprovam que o silício também pode promover o incremento do crescimento e desenvolvimento vegetativo, por proporcionar melhora na assimilação de nutrientes (YOGENDRA et al., 2014), na taxa fotossintética (GAUTAM et al., 2016) e no aumento na massa fresca e seca de raízes (RAZA et al., 2016).

Outra substância cujas pesquisas vêm sendo intensificadas são os jasmonatos. O ácido jasmônico, derivado do ácido linolênico, é um hormônio vegetal de ocorrência natural nas plantas, cuja produção é dependente de estímulos externos e genes de expressão (WASTERACK, 2014). Quando aplicados de maneira exógena, estes compostos podem simular modificações provocadas pela herbivoria (ZHANG et al., 2015), desempenhando papel crucial na sinalização de defesa de plantas em respostas a estresses bióticos (ZHANG et al., 2015) e abióticos (FAHAD et al., 2015).

Os jasmonatos também estão envolvidos em diversos processos de crescimento e desenvolvimento em várias espécies vegetais, tais como, aumento no tamanho e massa de frutos (MARTÍNEZ-ESPLÁ et al., 2014), na concentração dos pigmentos de clorofila (ASMA; LINGAKUMAR, 2015) e crescimento do sistema radicular (AWANG et al., 2015).

Entretanto, é importante salientar que alguns tratamentos químicos aos quais as plantas são submetidas, embora possam contribuir para aumentar a resistência contra agentes bióticos, podem afetar a sua estabilidade genética. Assim, a citometria de fluxo é uma técnica empregada para estimar a quantidade de DNA de maneira rápida e precisa, permitindo monitorar variações no conteúdo de DNA de plantas promovidas por tratamentos químicos aos quais as mesmas sejam submetidas (LEAL et al., 2006; PRADO et al., 2010).

Baseado na necessidade do desenvolvimento de métodos alternativos de controle direcionados à redução da utilização de inseticidas, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar os efeitos do silício (Si) e do metil jasmonato (MeJA), no comportamento e biologia de *S. frugiperda*, bem como possíveis alterações proporcionadas por esses indutores no desenvolvimento vegetativo e na estabilidade genética de plantas de arroz, visando fornecer subsídios para o manejo do inseto-praga e da cultura.

## **2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Avaliar o efeito do Si e MeJA na preferência alimentar de *S. frugiperda*.
- b) Avaliar o efeito do Si e MeJA na preferência para oviposição de *S. frugiperda*.
- c) Avaliar os efeitos do Si e MeJA na biologia da fase larval de *S. frugiperda*.
- d) Avaliar os efeitos do Si e MeJA na biologia da fase adulta de *S. frugiperda*.
- e) Avaliar os efeitos do Si e MeJA nas características fitotécnicas, fisiológica e estabilidade genética das plantas.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 A cultura de arroz: importância nutricional e aspectos produtivos

O arroz é uma poácea de ciclo anual pertencente ao gênero *Oryza*, o qual inclui vinte espécies selvagens e duas domesticadas, que são *O. sativa* L. (arroz asiático) e *O. glaberrima* (arroz africano). A mais cultivada mundialmente é *O. sativa*, ocupando o segundo lugar entre os cereais mais produzidos. Sua domesticação ocorreu há cerca de 10.000 anos na Ásia (BAMBARADENIYA; AMARASINGHE, 2003; HEINRICHS, 1998; KHUSH, 1997; SILVA et al., 2007).

Este cereal apresenta grande importância nutricional fazendo parte da base alimentar da população brasileira, constituindo-se excelente fonte de energia com alta concentração de amido, além de proteínas, vitaminas e minerais (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008). No Brasil, o arroz é consumido especialmente na forma de grãos inteiros, sendo conhecidos, em função da forma de processamento pós-colheita, como arroz branco, arroz integral e arroz parboilizado (VIEIRA; RABELO, 2006).

O ciclo de desenvolvimento da planta de arroz pode ser dividido em três fases: a fase vegetativa, que compreende a emergência até a diferenciação da panícula; a fase reprodutiva, que abrange a diferenciação da panícula até a antese e a fase de enchimento de grãos, que se inicia na antese e termina na maturação fisiológica. A altura da planta pode variar pelas circunstâncias ambientais, podendo atingir de 40cm a 5m, dependendo do tipo de arroz produzido (INSTITUTO RIOGRANDENSE DO ARROZ - IRGA, 2001; KHUSH, 1997; STRECK et al., 2006).

A área cultivada mundialmente com arroz ultrapassou 157,7 milhões de hectares, com produção de 469,5 milhões de toneladas na safra 2015/16, sendo os principais países produtores a China, Índia, Indonésia, com o Brasil ocupando a 8ª posição no *ranking* mundial (USDA, 2016). Devido à importância da cultura, existe a estimativa de aumento na produção brasileira, sendo prevista para safra de 2016/17 uma área plantada de 2,1 milhões de hectares e produção aproximada de 12,1 milhões de toneladas. Atualmente, a região Sul é a maior produtora de arroz, responsável por metade da produção nacional. No sudeste do Brasil são cultivados 18,9 mil ha de arroz, dos quais 41% se localizam em Minas Gerais e representam 27,5% da produção na região (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2016).

Há várias cultivares de arroz desenvolvidas para o cultivo de terras altas em Minas Gerais, como, por exemplo, ‘Primavera’, ‘Canastra’, ‘Confiança’ (SOARES et al., 1997, 2001), ‘Caiapó’ (SOARES; REIS; SOARES, 1993), ‘Carisma’ (SOARES et al., 2000) e ‘BRSMG Caravera’ (SOARES et al., 2008), entre outras.

A BRSMG Caravera, cultivar utilizada na presente pesquisa, apresenta ciclo de maturação de 113 dias, alto potencial produtivo, grão tipo longo-fino de alta qualidade culinária, resistência ao acamamento e moderada resistência à brusone-da-panícula (SOARES et al., 2008). Em relação aos insetos-praga para essa cultivar, existem poucas informações relatadas na literatura, o que justifica que as pesquisas devam ser reforçadas, visando evitar perdas de produtividade.

### **3.2 Insetos-praga associados a cultura de arroz: a espécie *S. frugiperda***

Existe grande diversidade de insetos-praga associados a cultura de arroz, promovendo perdas de até 35% na produção (COSTA et al, 2006). Dentre eles destaca-se o percevejo-das-panículas *Oebalus* spp. (Hemiptera: Pentatomidae), que suga as panículas afetando a qualidade e quantidade de grãos, o percevejo-do-colmo *Tibraca limbativentris* (Stal, 1860) (Hemiptera: Pentatomidae), responsável pelo aparecimento do sintoma “coração-morto” nas plantas, as lagartas *Mocis latipes* (Guenée, 1852), *Pseudaletia* spp. e *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) que se alimentam das folhas e panículas. Outras espécies como, por exemplo, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), cigarrinhas *Deois* spp. e *Mahanarva* sp. (Hemiptera: Cercopidae), formigas (*Atta* spp. e *Acromyrmex* spp.) (Hymenoptera: Formicidae) e cupins (*Syntermes* spp., *Procornitermes* spp. e *Cornitermes* spp.) (Blattodea: Termitidae), também causam danos a cultura (FERREIRA, 2006).

O uso de pesticidas para o controle de insetos-praga, plantas invasoras e doenças na cultura representam, em média, 17% do custo de produção (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2016). Como objeto de estudo neste trabalho foi escolhido a lagarta *S. frugiperda*, devido a grande perda na produção promovida por este inseto-praga (MARTINS; ROSA, 2007).

A lagarta *S. frugiperda* é um inseto polífono que pode se alimentar de mais de 80 espécies de plantas (POGUE, 2002), estando distribuída amplamente nas regiões tropicais e subtropicais das Américas (NAGOSHI; MEAGHER, 2008). No Brasil, é considerada praga-chave da cultura do milho (BARROS et al., 2005; CRUZ et al., 2008), além de causar

prejuízos a outras culturas, tais como arroz (BUSATO et al., 2005), amendoim (BOREGAS et al., 2013), algodão (QUEIROZ et al., 2016). Associado ao arroz, esse inseto é denominado como lagarta-da-folha e causa sérios prejuízos durante todo o ciclo da cultura (ROSA et al., 2012).

O desenvolvimento de *S. frugiperda* é do tipo holometabólico, que compreende a fase de ovo, larva, pupa e adulto. Os ovos são inicialmente de coloração verde clara e à medida que se aproximam da eclosão, se tornam acinzentados. São colocados em massa preferencialmente na parte abaxial das folhas, embora também possam ser encontrados na face adaxial (PITRE; HOGG, 1983). As massas podem conter de 30 a 300 ovos, podendo chegar até 1000 ovos por postura, dependendo da condição e planta hospedeira (SANTOS et al., 2004). O período de incubação varia em torno de 3 a 4 dias (CRUZ et al., 2008; ROSA et al., 2012).

A duração do período larval é variável de 10 a 30 dias (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004, ROSA et al., 2012). Normalmente a lagarta passa por seis ínstaes e a duração é de cerca de 3,3; 1,7; 1,5; 1,5; 2,0 e 3,7 dias, respectivamente, a 25°C (PITRE; HOGG, 1983). Segundo Cunha et al. (2008), as diferenças na duração do ciclo biológico, tanto do ovo quanto da fase larval, podem ser atribuídas a fatores como qualidade nutricional e quantidade de alimento ingerido pela lagarta, bem como as condições ambientais que a mesma se encontra (BUSATO et al., 2005).

A lagarta chega a 50 mm de comprimento no último ínstar e apresenta coloração que varia de pardo-escuro, verde até quase preta. Ao término do período larval, as lagartas penetram no solo e se transformam em pupas, de coloração marrom-avermelhada, medindo em torno de 15 mm de comprimento (SARMENTO et al., 2002). O período pupal pode variar de 8 a 25 dias (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004).

Os adultos de *S. frugiperda* são de hábito noturno e chegam a apresentar 35 mm de envergadura, seu corpo tem, aproximadamente, 15 mm de comprimento (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004) e longevidade em torno de 21 dias (ROSA et al., 2012). As fêmeas, após um período de três a quatro dias (pré-oviposição), iniciam a oviposição e este período pode durar até três semanas (ROSA et al., 2012).

A incidência e a severidade da ocorrência de *S. frugiperda* nos arrozais depende das condições climáticas, estando os grandes surtos associados com primaveras chuvosas seguidas de períodos secos (OLIVEIRA, 1987). O inseto atravessa o período desfavorável do ano na fase de pupa, surgindo os adultos na primavera (MARTINS; GRÜTZMACHER; CUNHA, 2004).

As injúrias consistem na destruição de plantas novas devido ao corte dos colmos ao nível do solo e desfolhamento (BUSATO et al., 2005). A densidade populacional da praga pode atingir altos níveis causando destruição total da lavoura (GRÜTZMACHER et al., 2000).

O controle da lagarta é freqüentemente realizado por meio da utilização de produtos químicos, levando ao aumento nos custos de produção e poluição ambiental (CARVALHO et al., 2013). Além disso, o uso excessivo de inseticidas afeta inimigos naturais e seleciona indivíduos resistentes (CHEN et al., 2016).

Portanto, torna-se necessária a busca por diferentes táticas a serem adotadas no manejo integrado, como por exemplo, a utilização de indutores de defesa de plantas visando a redução do uso de inseticidas e a manutenção de organismos benéficos nos ambientes agrícolas.

### **3.3 Defesa de plantas**

As plantas estão sob ataque constante de inúmeros herbívoros. As interações inseto-planta são dinâmicas e representam mais de 400 milhões de anos de história coevolutiva (DESPRES et al., 2007). Desta forma, ambos desenvolveram estratégias para evitar os sistemas de defesa uns dos outros, resultando no desenvolvimento de um sistema refinado e complexo de defesa (WU; BALDWIN, 2010). Assim, as plantas respondem ao ataque de insetos por meio de defesas diretas ou indiretas, ambas podendo ser constitutivas ou induzidas.

As defesas diretas são aquelas que atuam diretamente sobre o inseto, afetando o crescimento, o desenvolvimento e promovendo a redução da digestibilidade de tecidos, por meio de barreiras mecânicas como tricomas, endurecimento das células epidérmicas e espinhos (HANLEY et al., 2007) e/ou barreiras bioquímicas, por exemplo, pela produção de metabólitos secundários (MITHÖFER; BOLAND, 2012). Já as defesas indiretas são responsáveis pela atração de inimigos naturais, mediante a produção de voláteis (CUSUMANO et al., 2015) e néctar extrafloral (LU et al., 2014).

As defesas constitutivas são características mecânicas e químicas defensivas que as plantas apresentam, independente da presença de herbívoros (WU; BALDWIN, 2010), em contraste, as defesas induzidas são produzidas após o ataque dos insetos (SCHOLZ et al., 2015).

A resistência de plantas também pode ser desencadeada pela utilização de agentes externos, os chamados indutores ou elicitores, que provocam aumento no nível de

resistência da planta. Dentre os indutores utilizados, pode-se destacar o ácido jasmônico e seus derivados, o silício (HAN et al., 2016), o benzotiadiazol (GORDY et al., 2015) e o ácido giberélico (ALVARENGA et al., 2017).

De maneira geral, esses compostos são seguros ao meio ambiente e a seres humanos, sendo compatíveis ao uso do controle biológico em agroecossistemas, constituindo-se potencial ferramenta de controle a ser adotada no manejo integrado de pragas (PAUDEN; RAJOTTE; FELTON, 2014).

### **3.4 Indutores de resistência e seus papéis na defesa e no desenvolvimento vegetativo das plantas**

#### **3.4.1 O silício**

O silício (Si) é o segundo elemento mais abundante no solo e compõe 28% da crosta terrestre (SOMMER et al., 2006). Embora não seja considerado essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, os efeitos benéficos deste elemento têm sido bem documentados para plantas expostas a estresses bióticos (HAN et al., 2016) e abióticos (LIU et al., 2015).

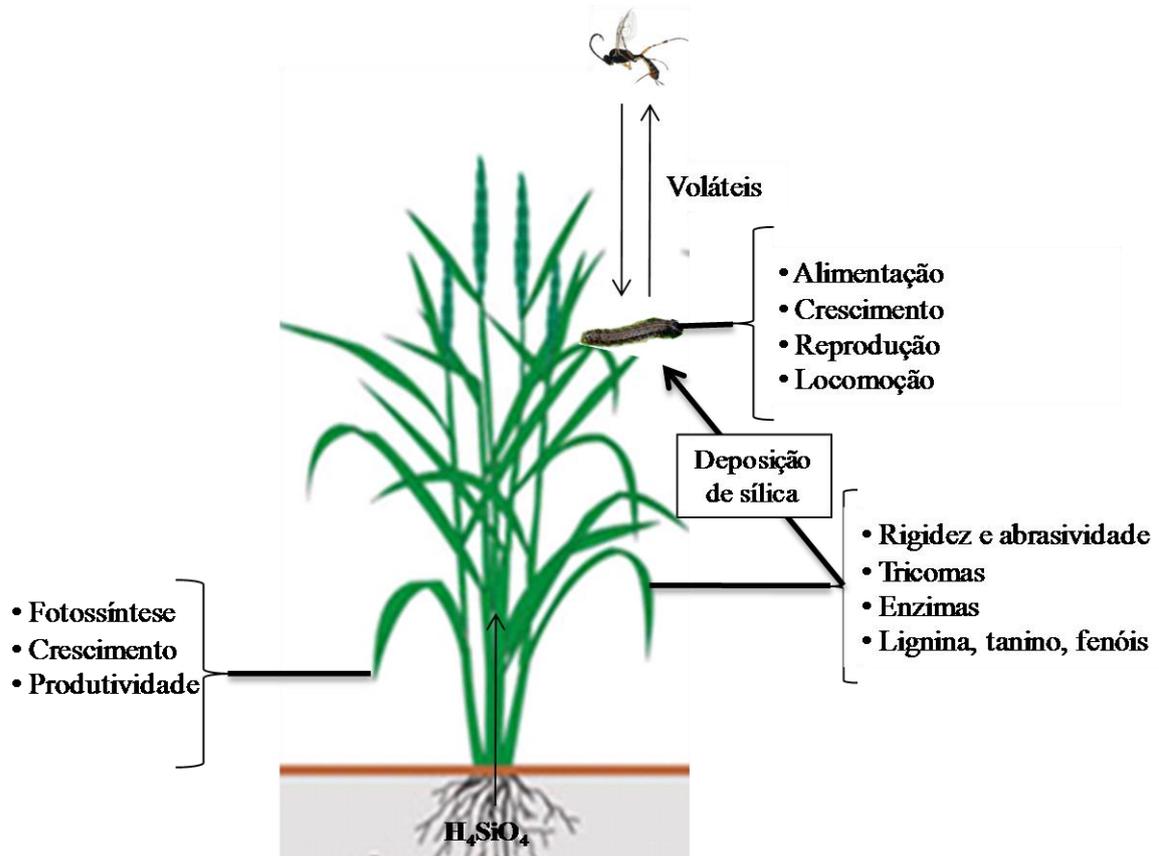
A absorção do Si da solução do solo pelas plantas ocorre quando este se encontra na forma de ácido silícico ( $H_4SiO_4$ ) (DING et al., 2008) e a concentração de Si nas plantas depende da capacidade específica das raízes em absorverem este elemento e a sua disponibilidade na solução do solo (MA; YAMAJI, 2006; HENRIET et al., 2008). Em plantas de arroz, já foi verificado que a absorção de Si ocorre de forma metabolicamente ativa por meio de transportadores específicos de influxo (Lsi1) e efluxo (Lsi2) (MA; YAMAJI, 2006; MA et al., 2007). Já o transportador Lsi6 está envolvido na distribuição desse elemento entre os tecidos vegetais na parte aérea (YAMAJI et al., 2008; YAMAJI; MA, 2009).

De maneira geral, consideram-se plantas acumuladoras de Si aquelas com teores superiores a  $1 \text{ g kg}^{-1}$  desse elemento na massa seca, como o arroz e o trigo (*Triticum aestivum* L.); plantas como soja e cucurbitáceas são consideradas intermediárias, com  $0,5$  a  $1 \text{ g kg}^{-1}$  de Si e as plantas não acumuladoras têm concentração de Si na massa seca inferior a  $0,5 \text{ g kg}^{-1}$  (MA; MIYAKE; TAKAHASHI, 2001).

A proteção conferida às plantas pelo Si pode ser atribuída ao acúmulo e polimerização de sílica nas células epidérmicas, abaixo da cutícula, formando uma barreira mecânica conhecida como dupla camada silício-cutícula nas poáceas (GOUSSAIN et al., 2002; MA;

TAKAHASHI, 2002), podendo apresentar efeito diferenciado para insetos mastigadores e sugadores (FIGURA 1).

Figura 1 – Absorção e efeitos do silício em plantas e insetos.



Legenda: Absorção de silício da solução do solo e sua deposição nas folhas levam ao aumento de tricomas, enzimas, lignina, tanino e fenóis, afetando herbívoros e atraindo inimigos naturais pela produção de voláteis. A aplicação de silício melhora a fotossíntese e promove crescimento e produtividade.

Fonte: Adaptado de Reynolds et al. (2016).

Com relação aos mastigadores, a silificação da epiderme dificulta a mastigação pelos insetos, devido ao endurecimento da parede das células vegetais (DATNOFF; SNYDER; KORNDORFER, 2001). Entretanto para os sugadores, a utilização de silício pode não impedir ou dificultar a penetração dos estiletos, entretanto favorece a produção de compostos secundários que afetam o desenvolvimento e fecundidade desses insetos (PEREIRA et al., 2010).

Os altos teores de sílica na planta além de aumentarem a capacidade de defesa contra a herbivoria (JUMA et al., 2015), podem afetar a preferência ao consumo dos insetos-praga (HE et al., 2015), o que é de suma importância para redução das injúrias/danos.

O Si também pode proteger a planta por outros processos, que podem aumentar os mecanismos de defesa, incluindo o acúmulo de lignina, compostos fenólicos e fitoalexinas (MA; YAMAJI, 2006; HAN et al., 2016) e por favorecer a produção e de compostos voláteis, importantes na atração de inimigos naturais (KVEDARAS et al., 2010).

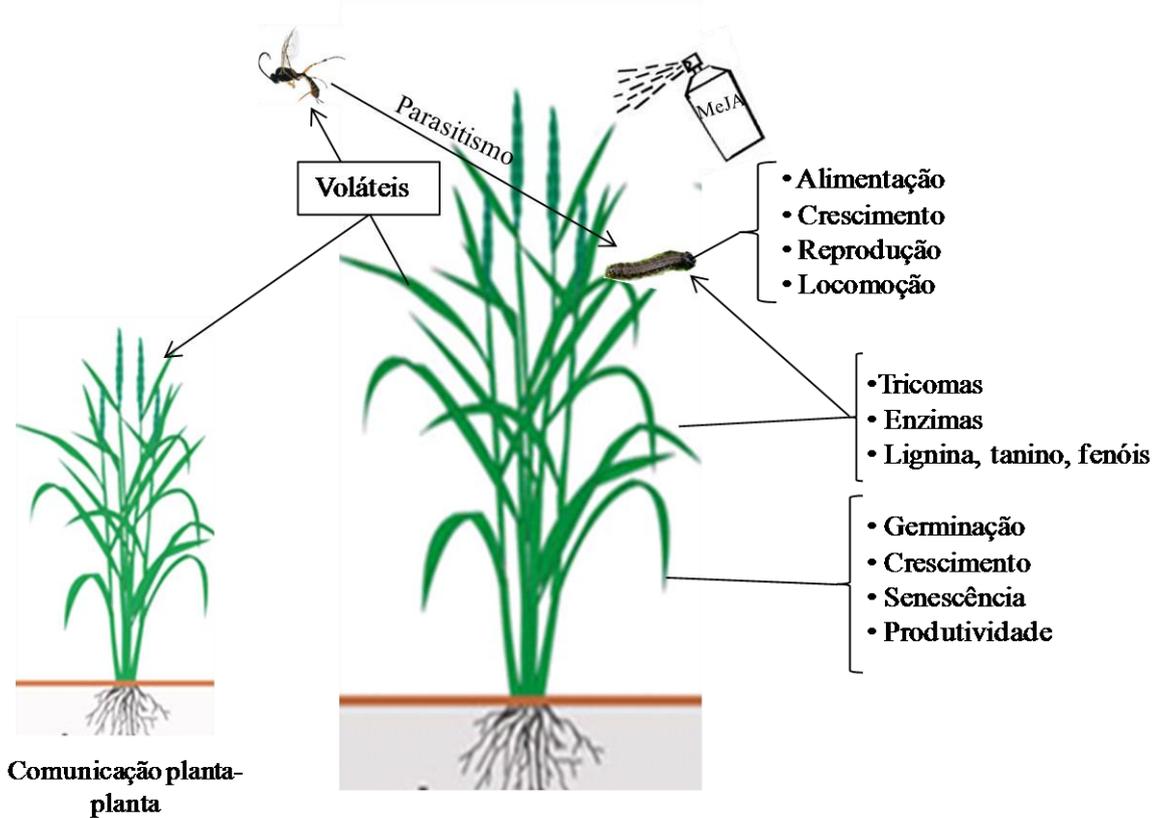
Este elemento pode proporcionar também o incremento de características fitotécnicas e fisiológicas em algumas culturas. Com a deposição da camada de sílica nas plantas, ocorre o enrijecimento da parede vegetal deixando as folhas mais eretas, desta forma, ocorre aumento da interceptação de luz, levando a otimização da fotossíntese (TAMAI; MA, 2008; LAVINSKY et al., 2016). Além disso, o uso do silício pode proporcionar melhoria na eficiência do uso da água e alongamento celular, levando ao crescimento de plantas e acréscimo de biomassa (HOSSAIN et al., 2002; ISA et al., 2010; ALVARENGA et al., 2017).

Além da utilização de Si como indutor de resistência, outros compostos, como por exemplo, os jasmonatos, vem sendo investigados com intuito de promover melhorias no arsenal de defesas de plantas e nas características fitotécnicas de diferentes culturas.

### **3.4.2 Jasmonatos**

Os jasmonatos são derivados do ácido linolênico num processo dependente da enzima lipoxigenase. O ácido linolênico pode ser convertido em ácido 12-oxo-fitodienóico (12-oxo-PDA), por meio de peroxidação mediada pela enzima lipoxigenase, seguida da ação da aleno óxido sintase e aleno óxido ciclase. A 12-oxo-PDA é convertida em ácido jasmônico (AJ) por meio de redução e de tripla  $\beta$ -oxidação (WASTERNACK; KOMBRINK 2009; KOMBRINK, 2012). O ácido jasmônico é um hormônio vegetal de ocorrência natural nas plantas e sua produção é dependente de estímulos externos e genes de expressão (WASTERNACK, 2014). Desempenha papel crucial na sinalização de defesa das plantas em respostas a estresses bióticos e abióticos (FAHAD et al., 2014) (FIGURA 2).

Figura 2 – Efeito do metil jasmonato em plantas e insetos.



Legenda: A aplicação de metil jasmonato nas plantas desencadeia a produção de tricomas, lignina, tanino, fenóis e enzimas, promovendo a defesa contra herbívoros. O aumento na produção de voláteis pela aplicação de metil jasmonato é usado como pistas olfativas por inimigos naturais e na comunicação planta-planta. O metil jasmonato tem efeitos na germinação, crescimento, senescência e produtividade de plantas.

Fonte: Wasternack (2014).

Os níveis de ácido jasmônico endógenos são rapidamente e temporariamente aumentados frente a perturbações (BOSCH et al., 2014), e aparentemente acumulados no local do dano, sendo dispersos sistematicamente por toda a planta (ARIMURA et al., 2011).

Frente a essas perturbações, a planta responde por dois mecanismos de defesa. Primeiro, pela defesa direta com a formação de compostos tóxicos, como os metabólitos secundários e pela síntese de proteínas de defesa, que tem um papel deterrente na digestão de insetos (WRITEHILL et al., 2014; ZHANG et al., 2015), e segundo por defesas indiretas, por meio da emissão de voláteis atraindo parasitoides, predadores e alterando o comportamento de oviposição de insetos-praga (DICKE; BALDWIN 2010; RODRIGUEZ-SAONA; POLASHOCK; MALO, 2013).

A aplicação exógena de metil jasmonato pode simular o dano provocado por herbívoros, levando ao aumento no nível de resistência das plantas (EGGER; SPANGL; KOSCHIER; 2016). Este efeito já foi verificado em várias culturas como repolho (ZHANG et al., 2013), algodão (YANG et al., 2013), tomate (SRINPONTAN; HWANG, 2016) e arroz (HAMM; STOUT; RIGGIO, 2010), para diferentes comportamentos alimentares de insetos. Nesse contexto, a utilização de jasmonatos como indutores de resistência pode ser uma alternativa viável para o aumento das defesas das plantas contra insetos (FIGURA 2).

Os jasmonatos também estão envolvidos em diversos processos de crescimento e desenvolvimento vegetal (MARTÍNEZ-ESPLÁ et al., 2014; AWANG et al., 2015), como o crescimento, formação de raiz, germinação de sementes, senescência de folhas, formação de tricomas glandulares e o desenvolvimento de pólen (WASTERACK, 2014).

Embora existam inúmeras vantagens na utilização de indutores em plantas, algumas espécies quando submetidas a tratamentos químicos, podem apresentar instabilidade genômica, comprometendo características agronômicas desejáveis. Diante disso, a citometria de fluxo constitui-se numa técnica eficiente para a quantificação do genoma vegetal, visando identificar a ocorrência desta alteração.

### **3.5 Citometria de fluxo**

A citometria de fluxo é uma técnica usada para classificar e analisar células, núcleos e cromossomos de forma eficiente e precisa (CAO; ZHANG; BAI, 2014). Esta técnica permite detectar variações no conteúdo de DNA nuclear (LEAL et al., 2006, PRADO et al., 2010) e tem a vantagem de analisar numerosas amostras em um curto período de tempo (DOLEZEL; GREILHUBER; SUDA., 2007).

Numa análise típica da citometria de fluxo, as células são coradas com anticorpos conjugados com fluorocromo que se ligam à superfície celular e às moléculas intracelulares. Dentro do citômetro, as células fluem em uma suspensão líquida, e são passadas sequencialmente através de feixes de laser que excitam os fluorocromos. A luz emitida por estas células é então medida (AGHAEPOUR et al., 2013). Para a determinação do conteúdo de DNA, a intensidade da luz emitida pelos núcleos é comparada com de outra espécie, denominada de padrão, cujo tamanho do genoma nuclear já é conhecido (OCHATT, 2008).

A qualidade da suspensão nuclear é avaliada por meio da análise de histogramas do conteúdo relativo de DNA nuclear. O histograma deve conter picos finos e baixo coeficiente de variação, indicando assim a veracidade da análise (OCHATT, 2008).

A citometria de fluxo apresenta inúmeras aplicabilidades, sendo utilizada em estudos taxonômicos, na sistemática e ecologia de plantas, bem como para programas de melhoramento (OCHATT, 2008) e projetos de seqüenciamento (BENNETT; LEITCH, 2005). Recentemente, esta técnica tem sido empregada para diversos grupos de plantas, como maracujazeiro amarelo (*P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) (COSTA et al., 2016), cana de açúcar *Saccharum* spp. (NOGUEIRA et al., 2015) e milho *Zea mays* L. (MELCHINGER, et al., 2016).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local de condução dos ensaios e plantio do material vegetal**

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e nos Laboratórios de Resistência de Plantas a Insetos e de Cultura de Tecidos Vegetais, nos Departamentos de Entomologia e Agricultura, respectivamente, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras (latitude 21°45'S; longitude 45°00'W e altitude 918 m), Minas Gerais, Brasil, no período de outubro/2014 a janeiro/2017.

Para os bioensaios de aspectos biológicos da fase larval e da fase adulta, características fitotécnicas, fisiológica, concentração de silício e estabilidade genética, o plantio de arroz foi realizado em vasos de polietileno de 2 L, contendo 1,5 kg de solo (Latosolo Vermelho Escuro - LVe) adubado com 0,23 g do adubo NPK (8-28-16) /vaso, equivalente a 300 kg ha<sup>-1</sup>, sendo semeadas 20 sementes da cv. BRSMG Caravera/vaso. Cinco dias após a emergência, foi realizado o desbaste deixando-se apenas oito plantas/vaso. Adubações de cobertura com sulfato de amônio, aplicando-se 0,045 g de N/vaso, equivalente a 60 kg ha<sup>-1</sup>, foram realizadas aos 30 e 60 dias após a emergência das plantas (SOARES et al., 2008).

Já para os bioensaios de preferência alimentar e preferência para oviposição, o plantio de arroz foi realizado em vasos de polietileno de 1 L, contendo 0,5 kg de Latossolo Vermelho Escuro - LVe adubado com 0,08 g do adubo NPK (8-28-16) /vaso, equivalente a 300 kg ha<sup>-1</sup>, sendo semeadas cinco sementes da cv. BRSMG Caravera. Foram feitas adubações de cobertura com sulfato de amônio, aplicando-se 0,015 g de N/vaso, equivalente a 60 kg ha<sup>-1</sup>,

aos 30 e 60 dias após a emergência (SOARES et al., 2008). Cinco dias após a germinação, foi realizado o desbaste deixando-se apenas duas plantas/vaso.

#### **4.2 Criação da lagarta *S. frugiperda* em laboratório**

As lagartas de *S. frugiperda* foram obtidas da criação estoque, mantida em laboratório e alimentadas com dieta artificial segundo Greene, Lepla e Dickerson (1976) em tubos de ensaio de 10 cm altura x 8,5 cm diâmetro. Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%, mantidos em gaiolas de PVC (policloreto de vinila) de 20 cm de altura x 15 cm de diâmetro, em câmara climatizada regulada com temperatura de  $25\pm 2$  °C, umidade relativa  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. Insetos coletados no campo foram adicionados freqüentemente à criação visando à manutenção da variabilidade genética. As lagartas utilizadas nos ensaios eram provenientes da segunda postura, por apresentar maior viabilidade.

#### **4.3 Preparo e aplicação das soluções com silício (Si), metil jasmonato (MeJA) e tween**

O Si foi aplicado no solo por meio de uma solução de ácido silícico ( $\text{SiO}_2 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ ) (Vetec Química Fina, Duque de Caxias, Brasil) a 1%, na dosagem equivalente  $1,0 \text{ t SiO}_2 \text{ ha}^{-1}$ , 30 dias após a emergência das plantas (ASSIS et al., 2013).

A solução de MeJA (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) foi preparada adicionando Tween<sup>®</sup>80 (Polyoxyethylene sorbitan monostearate) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) como solubilizante na concentração de  $0,1 \text{ mL L}^{-1}$  e etanol na concentração  $2,5 \text{ mL L}^{-1}$ , baseando-se na metodologia utilizada por Moraes et al. (2009). A concentração do fitohormônio foi alterada para a padronização de 1,0 mM e o preparo de 1 L da solução foi dividido em duas etapas.

Na primeira, em um balão volumétrico de 250 mL, foram adicionados  $2,5 \text{ mL L}^{-1}$  de etanol, 0,1 mL de Tween, 218  $\mu\text{L}$  de MeJA e 50 mL de água destilada. Esta mistura foi homogeneizada mediante agitação manual. Na segunda etapa, em uma proveta com capacidade de 1 L, foram adicionados 300 mL de água destilada e a solução obtida na primeira etapa. Após a homogeneização da mistura, por meio de agitação manual, a proveta foi completada com água destilada até atingir 1 L.

A aplicação foliar da solução de fito-hormônio foi realizada 39 dias após a emergência com auxílio de pulverizador manual com capacidade para 500 mL, utilizando-se 25 mL de solução por planta, suficiente para que a aplicação fosse homogênea.

Também foi realizada a pulverização foliar de tween isoladamente 39 dias após a emergência, visando anular o efeito de outras substâncias nos resultados. O preparo dessa solução foi realizado conforme descrito anteriormente na etapa 1, entretanto sem a incorporação do fitohormônio MeJA.

Os tratamentos testados para todos os ensaios foram: T1-Testemunha (sem aplicação de Si, MeJA e Tween); T2-Tween foliar; T3- Si *drench* T4- MeJA foliar e T5- Si *drench* + MeJA foliar.

#### **4.4 Preferência alimentar de *S. frugiperda* em plantas de arroz tratadas com Si e MeJA**

##### **4.4.1 Teste sem chance de escolha**

O plantio do material vegetal foi realizado conforme relatado no subtópico 3.1. Posteriormente, o Si foi fornecido diluindo-se 0,25 g de ácido silícico em 25 mL de água/vaso, aplicado ao redor do caule das plantas (*drench*). Os vasos que constituíram os demais tratamentos (testemunha, tween e MeJA ) receberam água na mesma quantidade.

A aplicação de MeJA e tween foi realizada com auxílio de pulverizador manual com capacidade para 500 mL, utilizando-se 25 mL de solução por planta, suficiente para que a aplicação ficasse homogênea. O bioensaio foi conduzido 10 dias após a aplicação de Si (COSTA; MORAES; ANTUNES, 2007) e 24h após a aplicação de MeJA.

Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e 10 repetições. Os tratamentos foram: T1- Testemunha; T2- Tween ( $0,1 \text{ mL}^{-1}$ ); T3- Si *drench* (equivalente a  $1,0 \text{ tha}^{-1}$ ); T4- MeJA foliar ( $1,0 \text{ mM}$ ) e T5- Si *drench* ( $1,0 \text{ tha}^{-1}$ ) + MeJA foliar ( $1,0 \text{ mM}$ ).

O teste sem chance de escolha foi realizado em placa de Petri, utilizando três seções foliares com aproximadamente  $10 \text{ cm}^2$ , destacadas das plantas. Lagartas de 3º ínstar foram mantidas sem alimentação por 24h. Posteriormente, os pesos iniciais foram determinados, em balança de precisão, e as lagartas foram individualizadas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro. Nas placas foram colocadas folhas provenientes dos tratamentos, sobre uma camada de ágar-água a 1%, para que a turgescência destas fosse mantida (ALCANTRA; MORAES;

ANTÔNIO, 2010). As placas foram mantidas em câmara climatizada regulada com temperatura de  $25\pm 2$  °C, umidade relativa  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.

Foi verificada a sobrevivência das lagartas às 24, 48 e 72h e o consumo foliar após 72h, utilizando-se o medidor de área foliar AM300 (ADC Bioscientific Ltd, England). Os indivíduos foram novamente privados da alimentação por 24h e o peso final foi aferido, para determinação do ganho de biomassa.

#### **4.4.2 Teste com chance de escolha**

O local de condução do experimento, o plantio e a adubação, bem como os tratamentos, foram semelhantes ao bioensaio anterior.

O teste de livre escolha foi realizado com lagartas de 3º ínstar e seções foliares de 10 cm<sup>2</sup> de cada um dos cinco tratamentos, dispostas aleatoriamente em placas de Petri de 20 cm de diâmetro, com fundo revestido com ágar-água a 1%. As cinco seções foliares foram distribuídas aleatoriamente e equidistantes, permitindo a livre escolha pelas lagartas.

Foram liberadas 10 lagartas no centro de cada placa, conforme testes preliminares. Após 24, 48 e 72 horas, foram contabilizadas as lagartas encontradas em cada tratamento, sendo desconsideradas as lagartas que se encontravam fora do material vegetal, adaptado de Costa et al. (2006). Ao final das 72 horas também foi avaliada a área foliar consumida pelas lagartas, utilizando-se o medidor de área foliar AM300. Para o teste de livre escolha foi adotado o delineamento em blocos casualizados, com cinco tratamentos e 20 repetições. Os tratamentos foram: T1- Testemunha; T2- Tween ( $0,1 \text{ mL}^{-1}$ ); T3- Si *drench* ( $1,0 \text{ tha}^{-1}$ ); T4- MeJA foliar ( $1,0 \text{ mM}$ ) e T5- Si *drench* ( $1,0 \text{ tha}^{-1}$ ) + MeJA foliar ( $1,0 \text{ mM}$ ).

### **4.5 Preferência para oviposição de *S. frugiperda* em plantas de arroz tratadas com Si e MeJA**

#### **4.5.1 Teste com chance de escolha**

O plantio do arroz e as adubações, para o teste de preferência para oviposição, foram realizados de modo semelhante ao ensaio de preferência para alimentação.

Para o teste com chance de escolha, foi adotado o delineamento em blocos casualizados com cinco tratamentos e 10 blocos. Os tratamentos foram: T1- Testemunha; T2-

Tween ( $0,1 \text{ mL}^{-1}$ ); T3- Si *drench* ( $1,0 \text{ tha}^{-1}$ ); T4- MeJA foliar ( $1,0 \text{ mM}$ ) e T5- Si *drench* ( $1,0 \text{ tha}^{-1}$ ) + MeJA foliar ( $1,0 \text{ mM}$ ).

Foram utilizadas gaiolas de acrílico de  $30 \times 30 \times 60 \text{ cm}$ , nas quais foram colocados cinco vasos aleatoriamente, sendo cada vaso correspondente a um tratamento. As gaiolas foram acondicionadas em sala climatizada regulada com temperatura de  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , umidade relativa  $50 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. Em cada gaiola foi colocada uma placa de Petri com algodão, embebido em mel a 10%, para a alimentação dos adultos, sendo esta solução trocada a cada dois dias. Cinco casais recém-emergidos, previamente sexados durante a fase de pupa, conforme metodologia de Zenker, Specht e Corseuil (2007), foram liberados e deixados por oito dias para a ocorrência da oviposição. Durante este período os ovos foram contabilizados a cada dois dias, totalizando quatro avaliações. Além disso, também foram avaliados o número total de ovos depositados por fêmea, adaptado de Hamm et al. (2012).

#### **4.5.2 Teste sem chance de escolha**

Para a realização do teste de preferência para oviposição sem chance de escolha, cinco vasos do mesmo tratamento foram colocados em gaiolas de acrílico de  $30 \times 30 \times 60 \text{ cm}$ . As gaiolas foram acondicionadas em sala climatizada, regulada com temperatura de  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , umidade relativa  $50 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. Cinco casais recém-emergidos, previamente sexados durante a fase de pupa (ZENKER; SPECHT; CORSEUIL, 2007), foram liberados e deixados por oito dias para a ocorrência da oviposição. Para a alimentação dos adultos foi colocada uma placa de Petri de 5 cm de diâmetro com algodão embebido em mel a 10%. Durante este período os ovos foram contabilizados a cada dois dias, totalizando quatro avaliações. Além disso, também foram avaliados o número total de ovos depositados por fêmea.

Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (anteriormente mencionados) e 10 repetições.

#### **4.6 Aspectos biológicos de *S. frugiperda*, desenvolvimento vegetativo e estabilidade genética de plantas de arroz tratadas com Si e MeJA**

O plantio do material vegetal foi realizado conforme relatado no subtópico 3.1. A solução de ácido silícico ( $\text{SiO}_2 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ ) (Vetec Química Fina, Duque de Caxias, Brasil) a 1%,

na dosagem equivalente  $1,0 \text{ t SiO}_2 \text{ ha}^{-1}$ , foi aplicada 30 dias após a emergência (ASSIS et al., 2013), diluindo-se 0,75 g de ácido silícico em 75 mL de água/vaso, aplicado ao redor do caule das plantas (*drench*). Os vasos que constituíram os demais tratamentos (testemunha, tween e MeJA) receberam água na mesma quantidade.

O MeJA e tween foram aplicados 39 dias após a emergência das plantas com auxílio de pulverizador manual com capacidade para 500 mL, utilizando-se 25 mL de solução por planta, suficiente para que a aplicação fosse homogênea.

#### **4.6.1 Aspectos biológicos das fases imaturas de *S. frugiperda***

As seções foliares de arroz, de aproximadamente  $10 \text{ cm}^2$ , foram destacadas das plantas, 10 dias após a última aplicação de Si e 24 horas após a aplicação de MeJA. Antes de ser fornecido às lagartas, o material vegetal foi lavado em água destilada, retirando-se o excesso de umidade com toalha de papel. As lagartas neonatas foram individualizadas em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, contendo um disco de papel filtro umedecido para a manutenção da turgidez das folhas. Os recipientes foram vedados com papel filme, mantidos em câmara climatizada regulada com temperatura de  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , umidade relativa  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. As seções foliares foram fornecidas as lagartas diariamente, sendo medida a área foliar, antes e após o fornecimento, para a determinação do consumo foliar.

Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e 10 repetições. Cada parcela foi constituída de três placas de Petri. Os tratamentos foram: T1- Testemunha; T2- Tween ( $0,1 \text{ mL}^{-1}$ ); T3- Si *drench* ( $1,0 \text{ tha}^{-1}$ ); T4- MeJA foliar ( $1,0 \text{ mM}$ ) e T5- Si *drench* ( $1,0 \text{ tha}^{-1}$ ) + MeJA foliar ( $1,0 \text{ mM}$ ).

Foram avaliados os seguintes parâmetros: área foliar consumida, peso de lagartas aos 10 dias, porcentagem de mortalidade, duração da fase larval, peso de pupas 24 horas após a formação, viabilidade pupal e a duração da fase de pupa. Para a determinação do consumo foliar pelas lagartas foi utilizado o medidor de área foliar AM300 (ADC Bioscientific Ltd, England). Já as pupas foram pesadas em balança de precisão e, posteriormente, transferidas para copos plásticos com tampa (5 cm de altura e 7 cm de largura), até a emergência dos adultos.

#### 4.6.2 Desenvolvimento biológico da fase adulta de *S. frugiperda*

Para a avaliação dos aspectos biológicos da fase adulta, lagartas neonatas foram individualizadas em placas de Petri (5 cm de diâmetro). No entanto, neste bioensaio, não foi aferida a área foliar consumida, sendo realizado o mínimo de manipulação possível, para que a mortalidade das mesmas fosse reduzida.

As pupas foram sexadas 24 horas após a formação, conforme metodologia proposta por Zenker, Specht e Corseuil (2007) e, posteriormente, transferidas para copos plásticos com tampa (5 cm de altura e 7 cm de largura), até a emergência dos adultos. Na fase adulta, foi fornecido como alimento uma solução de água e mel a 10% embebida em chumaço de algodão em copo plástico de 50 mL, trocado a cada dois dias. À medida que os adultos emergiam, foram separados casais de cada tratamento em gaiolas de PVC (policloreto de vinila) (10 cm diâmetro x 10 cm altura) com a extremidade superior vedada com tecido *voile* e a inferior, com papel filme fixado com auxílio de elástico. A parede interna da gaiola foi revestida com papel filtro, servindo como substrato para oviposição. Diariamente, as massas de ovos foram retiradas, transferidas para placas de Petri de 5 cm de diâmetro, para a contagem dos ovos. As massas da 1ª e 2ª postura foram levadas novamente para câmara climatizada até eclosão dos ovos, para determinação da viabilidade.

Durante a condução de todo o bioensaio os recipientes foram mantidos em câmara climatizada a  $25\pm 2$  °C, umidade relativa  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. Foram avaliados os seguintes parâmetros: longevidade de machos e fêmeas, razão sexual ( $RS = n^\circ \text{ de fêmeas} / n^\circ \text{ de fêmeas} + n^\circ \text{ de machos}$ ) (SILVEIRA NETO et al., 1976), número e viabilidade de ovos da 1º e 2º posturas, número de posturas e total de ovos.

Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e 10 repetições.

#### 4.6.3 Características fitotécnicas, fisiológica e concentração de silício

Foram utilizadas três plantas por vaso para avaliação das características fitotécnicas, 80 dias após a emergência. A altura foi determinada com o auxílio de régua. Para a avaliação do índice relativo de clorofila (parâmetro fisiológico) foi utilizado o medidor portátil SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development) (Konica Minolta Sensing, Inc.) (TECNAL, equipamentos para laboratórios, Piracicaba, Brasil). As leituras foram realizadas no período

da manhã, entre 8 e 10h. Em cada planta foi realizada a leitura em duas folhas, totalizando 36 leituras por tratamento.

A mensuração das massas fresca e seca da parte aérea foram realizadas com balança de precisão. Para a obtenção da massa seca, as plantas foram cortadas rente ao solo, individualizadas em sacos de papel (18 x 42 cm) e colocadas para secar em estufa, à temperatura de 60 °C, até peso constante.

Posteriormente, as plantas foram moídas em moinho de facas Tipo Willey (TECNAL, equipamentos para laboratórios, Piracicaba, Brasil) e as amostras identificadas, acondicionadas em sacos plásticos (5 x 23 cm) e enviadas para o Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da UFLA para determinação da concentração de silício na parte aérea, seguindo a metodologia proposta por Korndorfer, Pereira e Nolla. (2004).

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e seis repetições, sendo cada repetição constituída por três plantas.

#### **4.6.4 Estabilidade genética analisada por citometria de fluxo**

Para a determinação do conteúdo de DNA utilizou-se três amostras de 30 mg de folhas jovens (40 dias após a emergência) de arroz, acrescidas com a mesma quantidade de massa foliar de tomate (*Lycopersicum esculentum*), padrão de referência de quantidade de DNA – 1,96 picogramas (pg) (DOLEZEL; SGORBATI; LUCRETTI, 1992).

As folhas foram cortadas em placa de Petri, contendo 1 mL do tampão Marie composto por 50 mM glicose; 15 mM NaCl; 15 mM KCl; 5 mM Na<sub>2</sub>EDTA; 50 mM citrato de sódio; 0.5% Tween 20, 50 mM HEPES (pH 7.2), 1% (m/v) polivinilpirrolidona-10 (PVP-10) (MARIE; BROWN, 1993), para obter um extrato de núcleos. Esse processo foi realizado sob gelo triturado para manter a integridade dos núcleos. Posteriormente, o material foi aspirado com auxílio de pipeta de Pasteur e filtrado em malha de 50 µm. Ao material filtrado foram adicionados 25 µg/mL do fluorocromo iodeto de propídio. Após 5 minutos da adição do fluorocromo, as amostras já puderam ser analisadas. Foram realizadas duas leituras de cada amostra, sendo lidos 10.000 núcleos para estimar o conteúdo de DNA (pg) e o coeficiente de variação (CV).

Os histogramas foram obtidos no citômetro FacsCalibur<sup>®</sup> (Becton Dickinson, Biosciences, San Jose, Califórnia) com o programa Cell Quest. O conteúdo de DNA nuclear das plantas foi estimado utilizando-se a razão entre as intensidades de fluorescência dos

núcleos G1 do padrão de referência e dos núcleos G1 da amostra, multiplicando-se esta razão pela quantidade de DNA do padrão de referência. Os histogramas obtidos foram analisados no software WinMDI 2.8.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e seis repetições.

#### **4.7 Análise estatística**

Os dados de contagem foram transformados em  $\sqrt{X+0,5}$  e de porcentagem de mortalidade foi transformado em arco-seno  $\sqrt{X/100}$ , para atender os pressupostos de normalidade e homocedasticidade. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância (*one way* ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) utilizando-se o software estatístico SAEG 9.0 (RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

Foi realizada correlação linear paramétrica de Pearson entre o conteúdo de silício e as variáveis significativas das características fitotécnicas e fisiológica. A análise de correlação e a apresentação gráfica dos dados foram realizadas com o software SigmaPlot V.11 (WASS, 2008).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Preferência alimentar de *S. frugiperda* em plantas de arroz tratadas com Si e MeJA**

#### **5.1.1 Teste sem chance de escolha**

No teste de preferência alimentar, sem chance de escolha, foram observadas diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) para a área foliar consumida (TABELA 1) e para o ganho de massa de lagartas (FIGURA 3). Contudo, a aplicação dos indutores não alterou a sobrevivência dos insetos (TABELA 1).

Tabela 1 – Área foliar consumida (cm<sup>2</sup>) e mortalidade de lagartas (%) às 24, 48 e 72h (média±erro padrão), em teste sem chance de escolha, de *Spodoptera frugiperda* de 3º ínstar em seções foliares de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos.

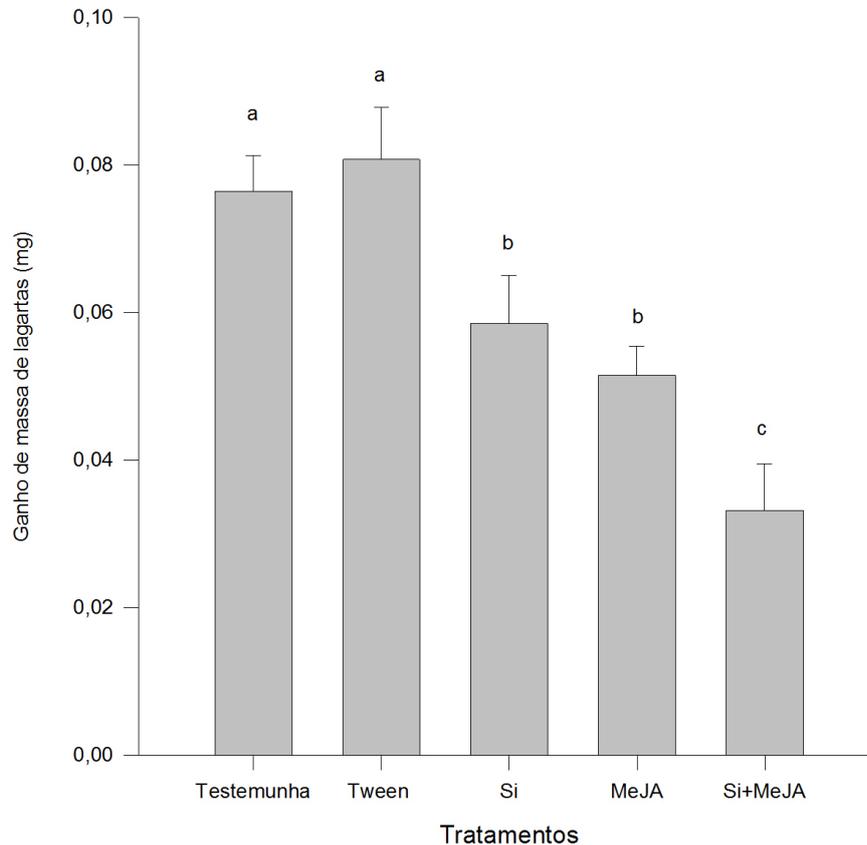
Tratamentos	Área foliar consumida <sup>1</sup>	Mortalidade 24h <sup>ns</sup>	Mortalidade 48h <sup>ns</sup>	Mortalidade 72h <sup>ns</sup>
Testemunha	8,64±43,84 a	0,00±0,00	0,00±0,00	10,0±10,00
Tween	8,47±31,98 a	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Si	6,89±36,00 b	0,00±0,00	0,00±0,00	10,0±10,00
MeJA	5,86±19,66 bc	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Si + MeJA	5,42±30,10 c	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Teste F	F= 19,77	F= 1,00	F= 1,00	F= 0,75
Valor p	p = 0,00000	p = 1,000	p = 1,000	p = 0,563

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>ns</sup>: Não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato

A aplicação forma isolada ou associada dos indutores, promoveu redução da área foliar consumida por lagartas de 19,4% e 36,6%, respectivamente, em relação à testemunha ou tween (TABELA 1). Conseqüentemente, foi verificada redução de 36,4% e 59,6% no ganho de massa de lagartas para os tratamentos silício e/ou metil jasmonato quando comparados a testemunha ou tween (FIGURA 3).

Figura 3. Ganho de massa de lagartas às 72h ( $\pm$  erro padrão) de *Spodoptera frugiperda* em ensaio sem chance de escolha em arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos. Letras distintas nas colunas indicam diferenças significativas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Barras verticais indicam erro padrão ( $\pm$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato.



A espécie *S. frugiperda* é um inseto polígrafo que se alimenta preferencialmente de poáceas, um grupo de plantas consideradas acumuladoras de silício. Plantas capazes de acumular este elemento em seus tecidos, na forma de sílica, podem formar uma barreira mecânica pelo aumento da dureza e abrasividade dos tecidos vegetais, causando desgaste mandibular e redução da eficiência na alimentação (GOUSSAIN et al., 2002; MASSEY; HARTLEY, 2009). Assim, o mecanismo pelo qual o silício promoveu aumento da resistência neste trabalho possivelmente está relacionado à essa barreira, dificultando a alimentação das lagartas. Apesar da aplicação desse indutor afetar o consumo foliar, o mesmo não influenciou a sobrevivência dos indivíduos para os períodos avaliados.

Com relação aos parâmetros ganho de massa e sobrevivência, os resultados são condizentes aos encontrados por Kvedaras et al. (2007), no qual a aplicação de silicato de cálcio em cana-de-açúcar não afetou a sobrevivência de *Eldana saccharina* (Walker, 1865) (Lepidoptera: Pyralidae), mas promoveu menor ganho de massa nas lagartas.

Quanto ao metil jasmonato, a aplicação desse indutor também conferiu efeito protetor às plantas, por reduzir o consumo e, conseqüentemente, a massa das lagartas. Este fato possivelmente pode ter ocorrido devido a indução da sinalização de defesas que leva a produção e acumulação de componentes químicos anti-nutritivos, inibidores de proteinase anti-digestivos e alcalóides neurotóxicos (SCOTT; THALER; SCOTT., 2010; YANG et al., 2015), promovendo fagodeterrência e antibiose.

Resultados semelhantes ao desta pesquisa foram observados para *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), cuja massa de lagartas que se alimentaram de plantas de algodão tratadas com metil jasmonato foi menor em relação à testemunha (YANG; LI; WU, 2013). Esses autores também observaram que enzimas de destoxificação, como acetilcolinesterase, apresentaram menor atividade em lagartas que se alimentaram de plantas submetidas a esse tratamento, sugerindo que este indutor pode diminuir a capacidade dos insetos de destoxificar aleloquímicos de plantas, tornando-os mais suscetíveis.

Da mesma forma como observado neste trabalho, para aplicação dos indutores de forma associada, um estudo recente em arroz provou a ligação entre o silício e a via de sinalização de defesa do ácido jasmônico. Foi demonstrado que plantas que receberam aplicação exógena de metil jamonato foram capazes de acumular mais silício em seus tecidos, promovendo o aumento na resposta de defesa (YE et al., 2013). Sinais externos associados à herbivoria são mediados por jasmonatos, levando a alteração na amplitude de transcrição de genes e na capacidade de resposta de defesa das plantas (WOLDEMARIAM et al. 2011; ALAMGIR et al., 2016). Assim, o arroz pode ter evoluído mecanismos de defesa mediados pelo ácido jasmônico, em que o silício é um componente integrado (YE et al, 2013).

Os resultados apresentados nesta pesquisa em relação à aplicação conjunta dos indutores sobre *S. frugiperda* reforçam os de Ye et al. (2013) que observaram menor ganho de massa em lagartas da espécie *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Pyralidae) que se alimentaram de arroz tratados com silício e metil jasmonato.

### **5.1.2 Teste com chance de escolha**

Verifica-se que o número de lagartas encontradas nas seções foliares às 24, 48 e 72 horas não diferiu significativamente ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos (TABELA 2). No entanto,

houve a redução de 68,4% no consumo foliar de lagartas que se alimentaram de plantas tratadas com silício associado ao metil jasmonato em relação à testemunha ou tween.

Tabela 2 – Número médio de lagartas em ensaio com chance de escolha às 24, 48 e 72 horas e consumo foliar (cm<sup>2</sup>) ( $\pm$ erro padrão) de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	24h <sup>ns</sup>	48h <sup>ns</sup>	72h <sup>ns</sup>	Área foliar consumida <sup>1</sup>
Testemunha	0,80 $\pm$ 0,19	0,60 $\pm$ 0,15	0,45 $\pm$ 0,17	4,29 $\pm$ 45,86 a
Tween	1,55 $\pm$ 0,38	1,05 $\pm$ 0,27	0,63 $\pm$ 0,27	3,87 $\pm$ 14,30 a
Si	0,60 $\pm$ 0,18	0,45 $\pm$ 0,17	0,30 $\pm$ 0,13	2,58 $\pm$ 12,06 ab
MeJA	1,35 $\pm$ 0,53	1,00 $\pm$ 0,28	1,00 $\pm$ 0,24	2,50 $\pm$ 5,60 ab
Si + MeJA	1,35 $\pm$ 0,39	0,95 $\pm$ 0,28	1,10 $\pm$ 0,27	1,29 $\pm$ 8,79 b
Teste F	F= 1,40	F= 1,40	F= 2,45	F= 6,84
Valor p	p= 0,2403	p= 0,2390	p= 0,0512	p= 0,00008

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>ns</sup>: Não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato.

Esses resultados demonstram que embora a preferência dos insetos não seja afetada, ou seja, os indutores de resistência não causaram repelência nos insetos, a quantidade de alimento ingerido foi menor mediante a combinação de aplicação de silício e metil jasmonato, afetando negativamente as lagartas.

Pode-se atribuir os resultados, possivelmente, ao maior acúmulo de silício nas folhas na presença do metil jasmonato. A ativação da rota de jasmonatos, por exemplo, por aplicação exógena, promove maior absorção de silício pelas plantas, indicando uma forte ligação entre esses compostos (YE et al., 2013). Como visto anteriormente, o silício pode promover uma barreira mecânica devido à sua deposição em células vegetais epidérmicas, dificultando a alimentação por herbívoros pelo enrijecimento dos tecidos vegetais (KVEDARAS et al., 2009).

O silício e o metil jasmonato estão envolvidos no processo de indução de defesas de plantas, aumentando a atividade enzimática (HAN et al., 2016; WHITEHILL et al., 2014) e a síntese de fenóis, fitoalexinas e lignina (GOMES et al., 2005; WHITEHILL et al., 2014). Possivelmente, as somas desses mecanismos inibiram a alimentação pelas lagartas, embora essas substâncias não tenham sido foco de avaliação no presente estudo.

Na literatura são encontrados relatos individualizados tanto do silício quanto do metil jasmonato causando comprometimento da função alimentar de insetos mastigadores, como de *Chilo suppressalis* (Walker, 1863) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (HOU; HAN, 2010) quanto de *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae), em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (TAN et al., 2011).

Diante dos resultados obtidos, pode-se inferir que a aplicação de silício associada ao metil jasmonato, em ensaio sem e com chance de escolha, promoveu o maior efeito protetor em plantas de arroz contra *S. frugiperda*, ocasionando redução no consumo foliar e na massa de lagartas.

## **5.2 Preferência para oviposição de *S. frugiperda* em plantas de arroz tratadas com Si e MeJA**

### **5.2.1 Teste com chance de escolha**

Verifica-se que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos em relação ao número de ovos nas plantas de arroz para a primeira avaliação. No entanto, na segunda, terceira, quarta avaliação (TABELA 3) e no total médio de ovos (FIGURA 4), houve efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos para o ensaio com chance de escolha.

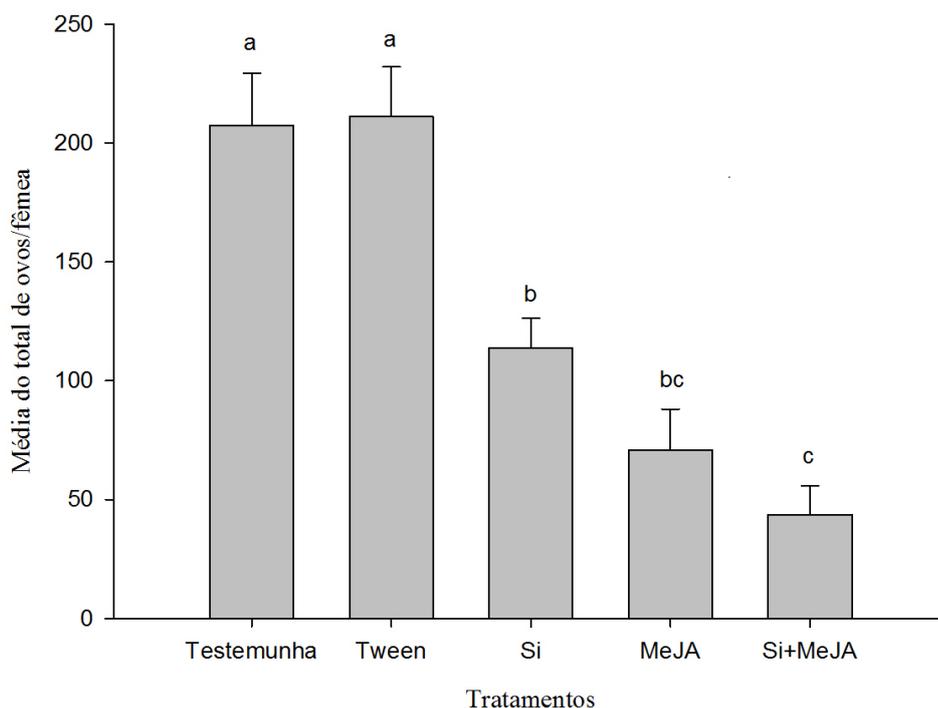
Tabela 3 – Número médio de ovos da 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> avaliação e total de ovos de *Spodoptera frugiperda* (média±erro padrão) em teste com chance de escolha, em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Número de ovos	Número de ovos	Número de ovos	Número de ovos
	1 <sup>a</sup> avaliação <sup>ns</sup>	2 <sup>a</sup> avaliação <sup>1</sup>	3 <sup>a</sup> avaliação <sup>1</sup>	4 <sup>a</sup> avaliação <sup>1</sup>
Testemunha	29,5±8,87	50,1±9,24 a	54,3±8,64 a	73,4±9,42 a
Tween	20,4±8,85	49,0±6,93 a	62,5 ±14,33 a	79,2±14,30 a
Si	19,0±10,86	30,3±12,20 ab	29,0± 10,05 ab	35,4±12,06 b
MeJA	29,1±9,21	6,0±4,02 ab	9,6 ± 5,78 b	12,5±5,60 b
Si + MeJA	6,7±5,58	4,8±3,28 b	12,2± 7,30 b	20,0±8,79 b
Teste F	F= 0,96	F= 8,35	F= 7,47	F= 48,32
Valor p	p= 0,3247	p= 0,00007	p= 0,00017	p= 0,00000

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>ns</sup>: Não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato

Figura 4 – Média do total de ovos por fêmea ( $\pm$  erro padrão) de *Spodoptera frugiperda* em ensaio com chance de escolha em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos. Letras distintas nas colunas indicam diferenças significativas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Barras verticais indicam erro padrão ( $\pm$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato.



A preferência para oviposição das fêmeas foi observada a partir da segunda avaliação, ou seja, após 72 horas da liberação dos casais e para esta avaliação, somente a associação dos indutores apresentou repelência para oviposição dos adultos. Na terceira avaliação, o uso de MeJA isolado ou associado ao Si promoveu menor preferência para a oviposição. Já para a quarta avaliação, foi encontrado menor número de ovos nas plantas que receberam a aplicação isolada ou associada de Si e MeJA, fato que se comprova com o total de ovos encontrado no final do ensaio (FIGURA 4).

Plantas tratadas com silício apresentaram metade do total de ovos quando comparadas aos tratamentos controle e tween. Esta resposta pode ter ocorrido, possivelmente, em função das mariposas buscarem por um substrato adequado à sobrevivência de sua progênie. Dessa forma, a aplicação de silício pode aumentar a síntese de compostos fenólicos e lignina (CURRIE; PERRY, 2007; YANG et al., 2015), além de ativar as defesas químicas endógenas das plantas atacadas (HAN et al., 2016), alterando a composição nutricional das plantas, tornando-as menos apropriadas ao desenvolvimento do inseto.

Os resultados desta pesquisa assemelham-se aos encontrados por Peixoto et al. (2011), que avaliando a preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* biótipo B (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) em plantas de feijão, verificaram menor número de ovos em plantas tratadas com silício.

No tratamento no qual houve a combinação de Si e MeJA foi encontrado o menor número de ovos sendo aproximadamente, 4,5 vezes menor em relação aos tratamentos controle e tween. De maneira semelhante ao silício, a aplicação de jasmonatos pode elevar a produção de metabólitos secundários e proteínas de defesa de plantas, alterando o comportamento de insetos (RODRIGUEZ-SAONA et al., 2001; TAN et al., 2012).

Segundo Ye et al. (2013), o acúmulo de Si em folhas de arroz é mediado pela via do ácido jasmônico, sugerindo uma ligação entre estes compostos na defesa contra insetos, levando a planta a produzir mais compostos antinutricionais e promover uma resposta potencializada de defesa. A ação desses indutores pode elucidar o fato pelo qual o Si combinado ao metil jasmonato tenham provocado a não-preferência para oviposição de *S. frugiperda* nas plantas.

O resultado obtido neste estudo demonstra a importância na seleção de hospedeiros apropriados para oviposição das fêmeas, pois isto é crucial para o êxito do desenvolvimento de lagartas (MAYHEW, 1997; JANZ, 2002). Assim, hospedeiros de qualidade são um passo importante no ciclo de vida de muitos lepidópteros, devido à limitada mobilidade dos neonatos (BRUINSMA et al., 2007). Plantas submetidas à aplicação conjunta de silício e

metil jasmonato não são hospedeiros adequados para *S. frugiperda*, pois além de comprometerem a oviposição dos adultos poderão inviabilizar o desenvolvimento das lagartas.

### 5.2.2 Teste sem chance de escolha

Diferentemente do que foi observado no ensaio de livre escolha, no teste sem chance de escolha verificou-se que os tratamentos não diferiram significativamente entre si ( $p > 0,05$ ) em relação à preferência para oviposição (TABELA 4) em nenhuma das quatro avaliações realizadas e nem para o total de ovos depositados por fêmea.

Tabela 4 – Número médio de ovos da 1ª, 2ª, 3ª, 4ª avaliação e total de ovos de *Spodoptera frugiperda* (média±erro padrão) em teste sem chance de escolha, em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Número de ovos 1ª avaliação <sup>ns</sup>	Número de ovos 2ª avaliação <sup>ns</sup>	Número de ovos 3ª avaliação <sup>ns</sup>	Número de ovos 4ª avaliação <sup>ns</sup>	Total de ovos <sup>ns</sup>
Testemunha	425,3±23,43	284,20±26,93	120,1 ±23,98	9,1±4,41	838,7±34,69
Tween	509,0±16,43	230,5±34,81	91,3 ±8,00	27,0±7,67	857,8±36,74
Si	472,6±46,08	193,6±29,38	72,6 ± 9,08	21,0±6,98	759,8±58,53
MeJA	486,2±35,21	163,5±26,44	82,9 ± 9,23	27,3±9,93	759,9 ±42,37
Si + MeJA	519,1±50,40	232,4±25,28	79,1 ± 10,22	7,5±4,25	838,1 ±48,25
Teste F	F= 1,01	F= 2,50	F= 1,89	F= 1,87	F= 1,10
Valor p	p= 0,4130	p= 0,0558	p= 0,1290	p= 0,1316	p= 0,3663

<sup>ns</sup>: Não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato

A ausência de resposta aos tratamentos possivelmente está relacionada à falta de um hospedeiro alternativo. Quando as mariposas não têm escolha quanto ao hospedeiro, elas preferem ovipositar, mesmo que este não apresente qualidade nutricional desejável para o desenvolvimento de sua progênie. Embora se trate de uma espécie diferente, os resultados observados nesta pesquisa se assemelham aos de Correa et al. (2005) em que não houve diferença na preferência, em teste sem chance de escolha, para oviposição de *B. tabaci* em pepino tratado com silício.

De acordo com os resultados obtidos, a aplicação de silício e de metil jasmonato, de forma conjunta ou isolada, promoveu a não-preferência para oviposição de *S. frugiperda* em teste com chance de escolha, no entanto, não foi verificado esse efeito no teste sem chance de escolha. Assim, a manipulação do comportamento de oviposição pode ser uma ferramenta adicional no controle desse inseto-praga.

### **5.3 Aspectos biológicos de *S. frugiperda*, desenvolvimento vegetativo e estabilidade genética de plantas de arroz tratadas com Si e MeJA**

#### **5.3.1 Aspectos biológicos das fases imaturas de *S. frugiperda***

Foi verificada diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) para o peso de lagartas aos 10 dias. Contudo, não foi observado efeito significativo ( $p > 0,05$ ) dos tratamentos para duração da fase larval, mortalidade larval, área foliar consumida, duração, peso e viabilidade de pupas (TABELA 5).

Tabela 5 – Duração da fase larval (dias), peso de lagartas aos 10 dias (mg), mortalidade de lagartas (%), área foliar consumida ( $\text{cm}^2$ ), duração da fase de pupa (dias), peso de pupa (mg) e viabilidade de pupa (%) (média±erro padrão) de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz (*O. sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Duração da fase larval <sup>ns</sup>	Peso de lagartas aos 10 dias <sup>1</sup>	Mortalidade de lagartas <sup>ns</sup>	Área foliar consumida <sup>ns</sup>	Duração da fase de pupa <sup>ns</sup>	Peso de pupa <sup>ns</sup>	Viabilidade de pupa <sup>ns</sup>
Testemunha	24,8±0,94	24,6±0,00 a	46,6±7,37	113,78±1,87	9,4±0,27	152,1±0,00	96,3±3,70
Tween	22,6±1,08	24,2±0,00 a	26,7±8,31	117,3±2,34	9,3±0,22	162,6±0,00	96,7±3,33
Si	28,0±0,86	6,2±0,00 b	73,3±8,31	107,4±5,83	9,7±0,20	172,6±0,01	83,3±16,7
MeJA	26,8±1,18	13,2±0,00 b	63,3±5,98	116,7±3,39	9,8±0,39	161,7±0,01	96,3±3,70
Si + MeJA	27,9±1,21	3,2±0,00 b	66,7±11,11	106,8±1,64	9,5±0,32	171,0±0,00	85,7±14,29
Teste F	F= 1,42	F= 16,48	F= 1,37	F= 2,45	F= 0,51	F= 1,73	F= 0,57
Valor p	p= 0,2722	p= 0,00007	p= 0,2877	p= 0,06684	p= 0,7300	p= 0,1652	p= 0,6860

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>ns</sup>: Não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato

Os tratamentos silício e metil jasmonato aplicados separadamente, ou de forma conjunta, reduziram pela metade a massa de lagartas, quando comparadas à testemunha e ao tween. Embora não tenha sido verificada diferença na área foliar consumida, a alteração na massa encontrada pode indicar a antibiose provocada pelos indutores, uma vez que os insetos apresentaram baixo aproveitamento do alimento ingerido, já que nem toda área foliar consumida foi convertida em peso, o que pode indicar que a aplicação desses indutores comprometeu a qualidade nutricional do alimento, reduzindo o aproveitamento dos nutrientes.

O arroz é considerado uma cultura acumuladora de silício, com capacidade de absorver altas quantidades desse elemento da solução do solo (YAMAMOTO et al., 2012). Plantas acumuladoras de silício podem ter sua estrutura alterada por meio da deposição de sílica em seus tecidos, conferindo proteção mecânica contra danos causados por insetos (HAN et al., 2015) e patógenos (SONG et al., 2016). Ainda, o silício pode promover a resistência de plantas por meio de mecanismos bioquímicos e moleculares. Assim, o tratamento com silício pode elevar a transcrição de genes relacionados à defesa de plantas, promovendo o aumento na atividade enzimática (YE et al., 2013; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015) e a formação de compostos secundários (RÉMUS-BOREL; MENZIES; BÉLANGER, 2005).

O mesmo efeito do silício verificado nesta pesquisa foi observado para *Chlosyne lacinia saundersii* Doubleday & Hewitson, 1849 (Lepidoptera: Nymphalidae), no qual embora não tenha sido observada diferença na área foliar consumida pelas lagartas, sua massa foi inferior mediante a alimentação com folhas de girassol (*Helianthus annuus* L.) tratados com silício (ASSIS et al., 2015).

No que diz respeito à área foliar consumida, a ausência de resposta em relação à aplicação de silício pode ser atribuída a capacidade de renovação de peças bucais de lagartas a cada muda, possibilitando a ocorrência normal da alimentação (KVEDARAS et al., 2009).

Quanto ao metil jasmonato, aplicado de forma exógena, este indutor simula o dano provocado por insetos e induz a sinalização de uma cascata de reações relacionadas à defesa, levando à acumulação de componentes químicos anti-nutritivos, o aumento da atividade de enzimas (ZHANG et al., 2015) e a produção de compostos orgânicos voláteis (THALER et al., 1996; SCOTT et al., 2010). Resultado semelhante ao deste estudo foi observado para *H. armigera* onde ocorreu menor ganho de massa em lagartas que se alimentaram de folhas de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) tratadas com metil jasmonato, quando comparadas as não tratadas (YANG et al., 2013).

Em relação à aplicação associada do silício e metil jasmonato parece existir uma ligação entre esses compostos na defesa de plantas contra insetos. Os indutores são capazes de

influenciar-se mutuamente, promovendo a potencialização de respostas à elicitación (YE et al., 2013). Semelhante aos resultados encontrados nesta pesquisa, a aplicação de silício associada ao metil jasmonato, em arroz, ocasionou a redução no ganho de massa de lagartas de *C. medinalis* (YE et al., 2013).

A resistência induzida por esses elicitores verificada no presente estudo não promoveu efeito fagodeterrente nos insetos, no entanto fatores antinutricionais podem ter causado efeitos deletérios nas lagartas, visto que estas apresentaram menor massa corporal.

Embora já tenham sido relatados na literatura outros efeitos nocivos do silício nas fases imaturas de insetos, como peso de pupa (SILVA et al., 2014), duração do período larval e sobrevivência (HAN et al., 2016), e também para a aplicação do metil jasmonato, na duração da fase larval e peso de pupa (YANG et al., 2013), consumo (EGGER; KOSCHIER, 2014) e sobrevivência (WAR et al., 2015), as respostas a esses indutores nem sempre é previsível e pode variar de acordo com as espécies em estudo.

### **5.3.2 Desenvolvimento biológico da fase adulta de *S. frugiperda***

Verificou-se efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos para viabilidade de 1ª e 2ª postura (TABELA 6) e total de ovos colocados por fêmeas de *S. frugiperda* (FIGURA 5). Já para longevidade de macho e fêmea, razão sexual, número de ovos da 1ª e 2ª postura e total de posturas, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos.

A viabilidade de 1ª postura foi reduzida em 18,3% para os tratamentos silício ou silício associado ao metil jasmonato, quando comparados à testemunha, tween e ao metil jasmonato. Já para a 2ª postura, a associação de silício e metil jasmonato, promoveu redução de 40% na viabilidade de ovos quando comparados à testemunha e ao metil jasmonato, aplicado de forma isolada. Foi observada também redução de 34,3% no total de ovos quando os indutores foram aplicados de forma conjunta ou isolada em relação à testemunha e tween.

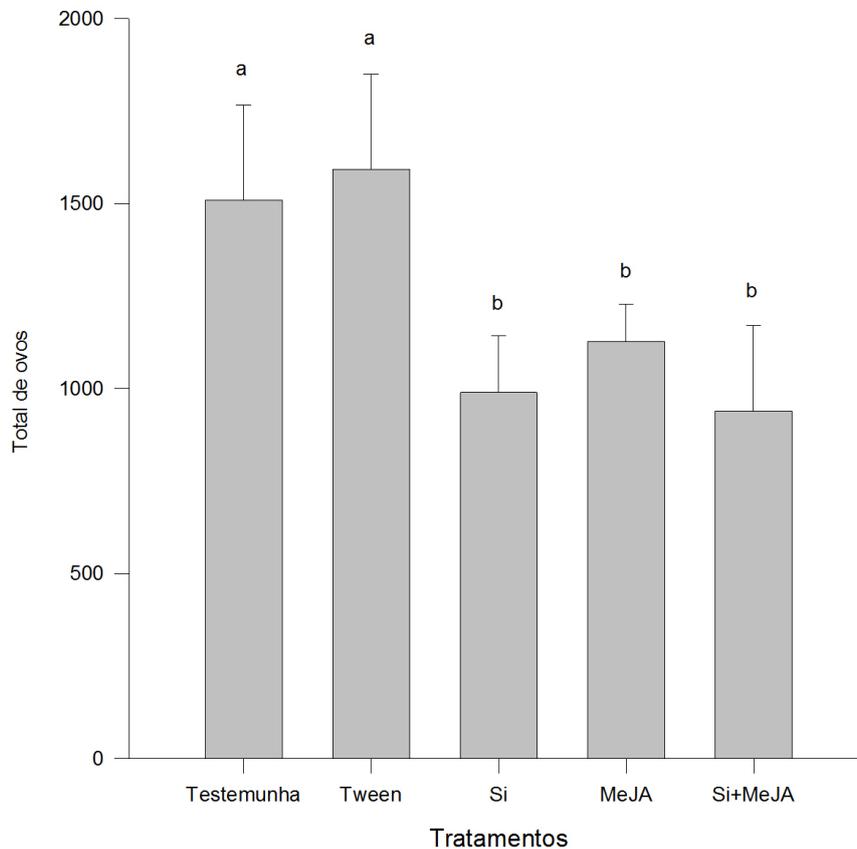
Tabela 6 – Longevidade de macho e fêmea, razão sexual, número de ovos de 1ª e 2ª postura, viabilidade de 1ª e 2ª postura, número de posturas (média±erro padrão) de adultos de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Longevidade de macho <sup>ns</sup>	Longevidade de fêmea <sup>ns</sup>	Razão sexual <sup>ns</sup>	1ª postura <sup>ns</sup>	2ª postura <sup>ns</sup>	Viabilidade 1ª postura	Viabilidade 2ª postura	Total de posturas <sup>ns</sup>
Testemunha	8,7±0,65	11,9±1,21	0,50±0,12	323,9±39,24	371,1±39,24	87,8±2,41a	89,2±3,15a	8,0±0,64
Tween	9,1±0,63	12,9±0,56	0,52±0,12	440,1±43,00	375,7±25,96	91,3±2,10a	87,2±2,74ab	7,7±0,30
Si	9,0±0,31	12,4±1,00	0,30±0,20	277,4±28,36	283,7±38,71	67,6±5,24b	64,6±3,40bc	6,5±0,83
MeJA	8,9±0,72	11,3±0,82	0,39±0,16	363,5±18,81	261,2±35,35	82,9±1,77a	83,2±3,59a	6,2±0,55
Si + MeJA	9,4±0,29	11,3±0,60	0,39±0,20	286,8±44,66	284,4±24,48	51,4±4,10b	51,8±5,24c	6,1±0,51
Teste F	F= 0,62	F= 0,57	F= 1,03	F= 1,80	F= 1,73	F= 24,17	F= 12,53	F= 2,01
Valor p	p= 0,9130	p= 0,6140	p=0,42364	p= 0,1550	p= 0,1693	p= 0,00000	p= 0,00000	p= 0,1200

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

<sup>ns</sup>: Não significativo pelo teste F ( $p > 0,05$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato

Figura 5 – Total de ovos por fêmea ( $\pm$  erro padrão) de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos. Letras distintas nas colunas indicam diferenças significativas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Barras verticais indicam erro padrão ( $\pm$ ). Si: silício e MeJA: metil jasmonato.



De acordo com os resultados observados nesta pesquisa, a fecundidade de *S. frugiperda* foi afetada negativamente pela aplicação de silício e/ou metil jasmonato.

O efeito do silício na fase adulta de insetos tem sido bem documentado por alguns autores para afídeos (CAMARGO et al., 2008; GOMES et al., 2008; DIAS et al., 2014) e outras espécies de lepidópteros (HAN et al., 2015), e pode ser atribuído a indução de compostos de defesa que promovem efeitos deletérios nos insetos, tais como redução da fecundidade, período reprodutivo e longevidade de adultos.

Os resultados desta pesquisa são condizentes aos de Han et al., (2015), no qual foi observado menor número de ovos por fêmea de *C. medinalis*, provenientes de lagartas que se alimentaram de arroz tratados com silício. Foi verificado também em milho (*Z. mays*) que a

aplicação de ácido silício ocasionou menor número de ovos por fêmea de *S. frugiperda* (ALVARENGA et al., 2017).

A redução da viabilidade e do total de ovos encontrados nesta pesquisa, em relação ao metil jasmonato, podem ser atribuídos ao aumento na expressão de enzimas de defesa, promovido pela aplicação desse indutor. Um estudo recente demonstrou, por meio de análises proteômicas, o aumento na expressão de inúmeras proteínas envolvidas nas respostas de defesa de plantas mediante a aplicação dessa substância (ZHANG et al., 2015). Esses autores também verificaram a redução no número de ovos produzidos por fêmea de *Ostrinia furnacalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Pyralidae) em milho tratado com metil jasmonato. E, ao contrário desta pesquisa, os autores observaram que a longevidade dos adultos também foi afetada.

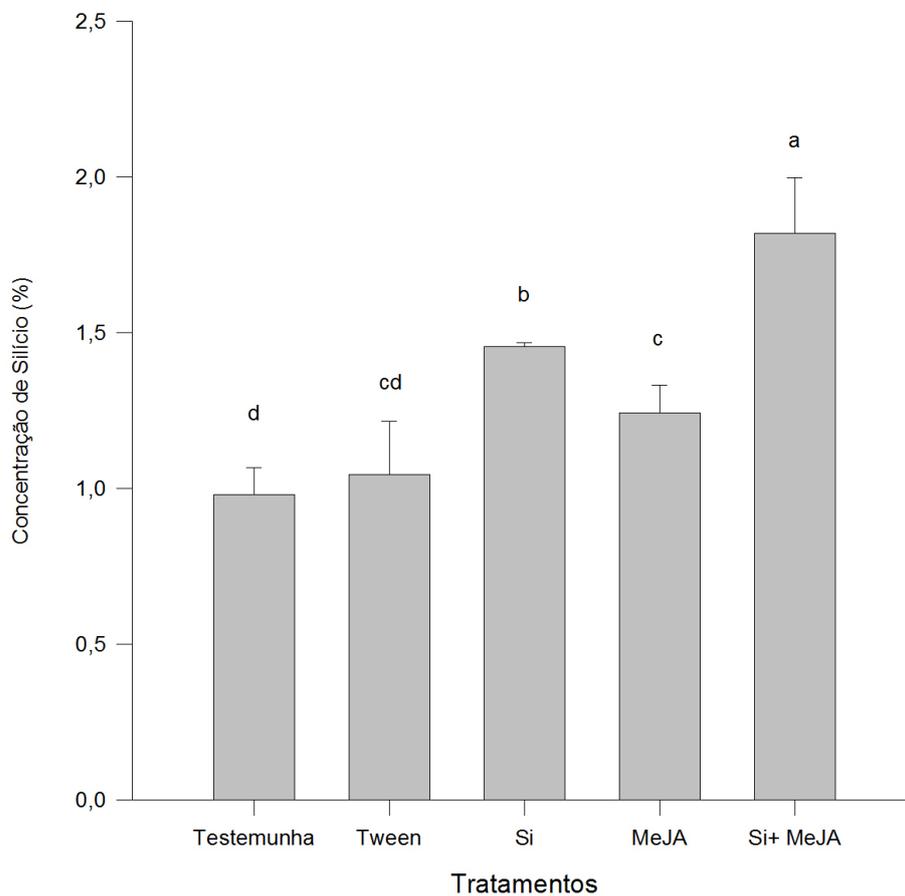
A morfologia e aptidão de insetos holometábolos são influenciadas pela disponibilidade e qualidade do recurso alimentar. O adulto resultante de lagartas que se alimentaram de plantas com componentes antinutricionais, como metabólitos secundários, pode ter a fecundidade alterada (BOGGS; FREEMAN, 2006), sendo a qualidade da planta hospedeira fundamental para o sucesso reprodutivo desses insetos. A aplicação de indutores de resistência pode promover mudança na qualidade nutricional do alimento, atuando diretamente na capacidade de estabelecimento e dispersão de insetos.

Baseado nos resultados obtidos neste bioensaio verifica-se que a utilização de elicitores para indução de defesas de plantas pode ser uma tática adicional nos programas de manejo integrado de pragas, pois afetam diretamente e indiretamente os insetos. Essa filosofia visa mitigar danos causados pelos insetos-praga mediante a utilização de vários métodos de controle, reduzindo o emprego do controle químico. Assim, pode-se reforçar o potencial do uso de silício e metil jasmonato na indução de resistência, com o intuito de reduzir a aplicação de inseticidas nos agroecossistemas. No entanto, são necessários estudos complementares para verificar a possível influência desses elicitores sobre outros insetos-praga associados ao arroz e no terceiro nível trófico.

### 5.3.3 Características fitotécnicas, fisiológicas e teor de Si

Em relação à concentração de silício, a aplicação de ácido silícico separadamente ou em conjunto com MeJA favoreceu o maior acúmulo deste mineral nas folhas (FIGURA 6). O conteúdo encontrado deste elemento foi superior em 46,1% em plantas tratadas com Si+MeJA e 32,4% para plantas que receberam somente ácido silícico quando comparadas a testemunha.

Figura 6 – Concentração de silício ( $\text{SiO}_2$ ) (%) ( $\pm$  erro padrão) em massa seca da parte aérea de arroz (*Oryza sativa* L.) submetido a diferentes tratamentos. Letras distintas nas colunas indicam diferenças significativas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Barras verticais indicam erro padrão ( $\pm$ ). Si: Silício e MeJA: Metil jasmonato.



Neste trabalho foram encontradas maiores concentrações de silício nos tratamentos que receberam aplicação deste elemento, sendo o valor máximo de acumulação verificado quando este foi utilizado juntamente ao metil jasmonato (FIGURA 6).

Em geral, a diferença na acumulação de silício entre diferentes espécies de plantas tem sido atribuída à capacidade específica das raízes em absorverem este elemento e a sua disponibilidade na solução do solo (MA; YAMAJI, 2006; HENRIET et al., 2008).

Para o arroz, a absorção ocorre de forma metabolicamente ativa por meio de transportadores específicos de influxo Lsi1 e efluxo Lsi2. Ambos estão localizados nas raízes e são responsáveis pela alta capacidade de absorção de silício por esta cultura (MA et al., 2006, 2007), fato que pode explicar os elevados níveis deste elemento encontrados nas plantas, sendo capaz de atingir valores acima de 10% do peso seco da parte aérea (YAMAMOTO et al., 2012). Assim, no presente estudo foi comprovado que o arroz acumula silício, embora as taxas deste acúmulo possam ser variáveis dentro de uma mesma espécie vegetal (MA; YAMAJI, 2008).

De forma semelhante ao observado nesta pesquisa, Ye et al. (2013) já tinham verificado que a aplicação exógena de metil jasmonato promoveu incremento dos transportadores Lsi1, Lsi2 e no conteúdo de silício nas folhas de arroz, indicando que os efeitos deste elemento são modulados pelo ácido jasmônico. Este estudo demonstrou forte relação entre o silício e a via de sinalização de defesa do ácido jasmônico. Esta rota está ligada a respostas de defesa das plantas frente a estresses bióticos. Assim, o arroz, e provavelmente outras plantas que acumulam níveis elevados de silício, podem ter evoluído mecanismos de defesa mediados pelo ácido jasmônico, em que o silício é um componente integrado (YE et al, 2013).

Com relação as características fitotécnicas e fisiológica, houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos. Plantas submetidas aos tratamentos com silício isoladamente ou associado ao metil jasmonato apresentaram incremento na altura de 15,5% em relação aos demais tratamento, e aumento de 15,6% no índice relativo de clorofila, quando comparados a testemunha e ao tween. Conseqüentemente, a massa fresca e seca destes tratamentos foram superiores em 36,4% quando comparadas a testemunha e tween, e 36,9% ao metil jasmonato (TABELA 7).

Tabela 7 – Altura (cm), índice relativo de clorofila (SPAD), massa fresca e seca (g) da parte aérea (média±erro padrão) de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Altura <sup>1</sup>	Índice relativo de clorofila <sup>1</sup>	Massa fresca <sup>1</sup>	Massa seca <sup>1</sup>
Testemunha	64,5±1,10 b	27,5±1,15 b	3,1±0,25 b	1,2±0,08 b
Tween	61,5±1,45 b	27,8±1,64 b	3,5±0,15 b	1,1±0,04 b
Si	73,4±2,52 a	32,7±1,08 a	5,2±0,48 a	1,7±0,15 a
MeJA	62,9±1,39 b	28,3±0,50 ab	3,7±0,18 b	1,2±0,06 b
Si + MeJA	75,6±1,71 a	32,8±0,97 a	5,6±0,29 a	2,0±0,05 a
Teste F	F= 14,32	F= 5,58	F= 14,53	F= 20,57
Valor p	p= 0,00000	p= 0,0024	p= 0,00000	p= 0,00000

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Si: Silício e MeJA: Metil jasmonato

Para as características fitotécnicas e fisiológica, a aplicação de silício isoladamente ou associada ao metil jasmonato, afetaram positivamente todos os parâmetros avaliados (TABELA 7). Os resultados obtidos nesta pesquisa corroboram os de Ahmed et al. (2011), no qual foi observado que a adubação silicatada promoveu aumento no teor de clorofila, na massa seca total e na área foliar em sorgo *Sorghum bicolor* L. Isa et al. (2010) também constataram que a aplicação de ácido silícico favoreceu incremento na altura e no teor de clorofila em variedades de arroz.

Após a absorção do silício disponível na solução do solo, ele se move por fluxo de transpiração de água por meio do xilema para a parte aérea e se deposita nos tecidos epidérmicos, na forma de sílica (MA et al., 2006). A deposição da camada de sílica nas plantas promove o enrijecimento da parede vegetal deixando as folhas mais eretas, desta forma, ocorre aumento na interceptação de luz, levando a otimização do aparato fotossintético (TAMAI; MA, 2008; ISA et al., 2010). Além disso, os efeitos benéficos de silício também podem ser atribuídos ao aumento na eficiência do uso da água e ao alongamento celular, promovendo o crescimento das plantas e conseqüentemente o aumento de biomassa (HOSSAIN et al., 2002; ISA et al., 2010).

Embora existam relatos na literatura da contribuição do metil jasmonato aplicado de forma exógena nas características fitotécnicas e fisiológicas de culturas como pimenta

*Capsicum annuum* L. (AWANG et al., 2015), arroz (HSU; CHAO; KAO, 2013) e trigo (ANJUM et al., 2016), no presente trabalho foi encontrado comportamento discrepante, já que essa substância isoladamente não trouxe acréscimo para estas características. Assim, verifica-se que neste caso a principal contribuição desse elemento está baseada na capacidade de potencializar o acúmulo de silício nas plantas, sendo a melhoria nessas características atribuída ao silício.

Diante do acúmulo de silício observado nas plantas, foi possível obter correlações positivas moderadas ( $r = 0,4$  a  $0,6$ ) e fortes ( $r = 0,7$  a  $1,0$ ) (FIGUEIREDO FILHO; SILVA JÚNIOR, 2009) entre a concentração deste elemento e os parâmetros fitotécnicos e fisiológico, ou seja, quanto maior a concentração de silício nas plantas maior a altura, índice relativo de clorofila, massa fresca e seca (TABELA 8).

Tabela 8 – Correlação linear paramétrica de Pearson entre a concentração de silício e as características fitotécnicas e fisiológica de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.).

Parâmetros	Altura	Massa fresca	Massa seca	Índice relativo de clorofila
Concentração de silício	0,68	0,73	0,78	0,57
$p \leq 0,05$	0,0000338	0,00000557	0,000000295	0,00111

Significativo pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ).

O mesmo efeito de incremento das características fitotécnicas verificados nesta pesquisa foram observados para trigo (*Triticum aestivum* L.), no qual o aumento na área foliar e na massa seca foram positivamente correlacionados com a concentração de silício nas plantas, embora não tenha sido observado aumento na concentração de clorofila (PEREZ et al., 2014). Por outro lado, Ávila et al. (2010) verificaram que plantas de arroz submetidas a aplicação de silicato de potássio apresentaram elevação no índice relativo de clorofila e nos teores de clorofila *a* e *b*.

### 5.3.4 Estabilidade genética analisada por citometria de fluxo

Para a quantificação de DNA e coeficiente de variação (CV) nas folhas não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Os valores médios obtidos para essas duas variáveis foram de, respectivamente, 0,97 pg e 0,71% (TABELA 9).

Tabela 9 – Conteúdo de DNA e coeficiente de variação (CV) de folhas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetida a diferentes tratamentos, analisados por citometria de fluxo.

Tratamentos	Conteúdo de DNA (pg) <sup>ns</sup>	CV (%) <sup>ns</sup>
Testemunha	0,99	0,76
Tween	0,94	0,73
Si	0,98	0,66
MeJA	0,98	0,72
Si + MeJA	0,95	0,69
Teste F	F= 2,87	F= 0,93
Valor p	p= 0,051	p= 0,463

<sup>ns</sup>: Não significativo pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Si: Silício e MeJA: Metil jasmonato.

Desse modo, a aplicação de silício e de metil jasmonato, de maneira isolada ou associada, não promoveram alteração do conteúdo de DNA vegetal, fato que é extremamente importante, pois comprova que essas substâncias não interferem na estabilidade genômica das plantas de arroz, embora contribuam para o incremento nos parâmetros fitotécnicos e fisiológico da cultura.

Outro aspecto positivo verificado na presente pesquisa é que os coeficientes de variação oscilaram entre 0,66% e 0,76% (TABELA 9), demonstrando a confiabilidade da estimativa da quantificação de DNA vegetal obtida nas folhas. Os resultados aqui encontrados podem ser considerados seguros, pois a qualidade das análises citométricas é baseada nos seus coeficientes de variação (GALBRAITH et al., 2001).

Quanto menor o coeficiente de variação maior a qualidade das análises e mais confiáveis os resultados provenientes da citometria de fluxo. Valores para este parâmetro inferiores a 5% são tidos como de alto nível de resolução para estimar o conteúdo de DNA nuclear em plantas (DOLEZEL; BARTOS, 2005).

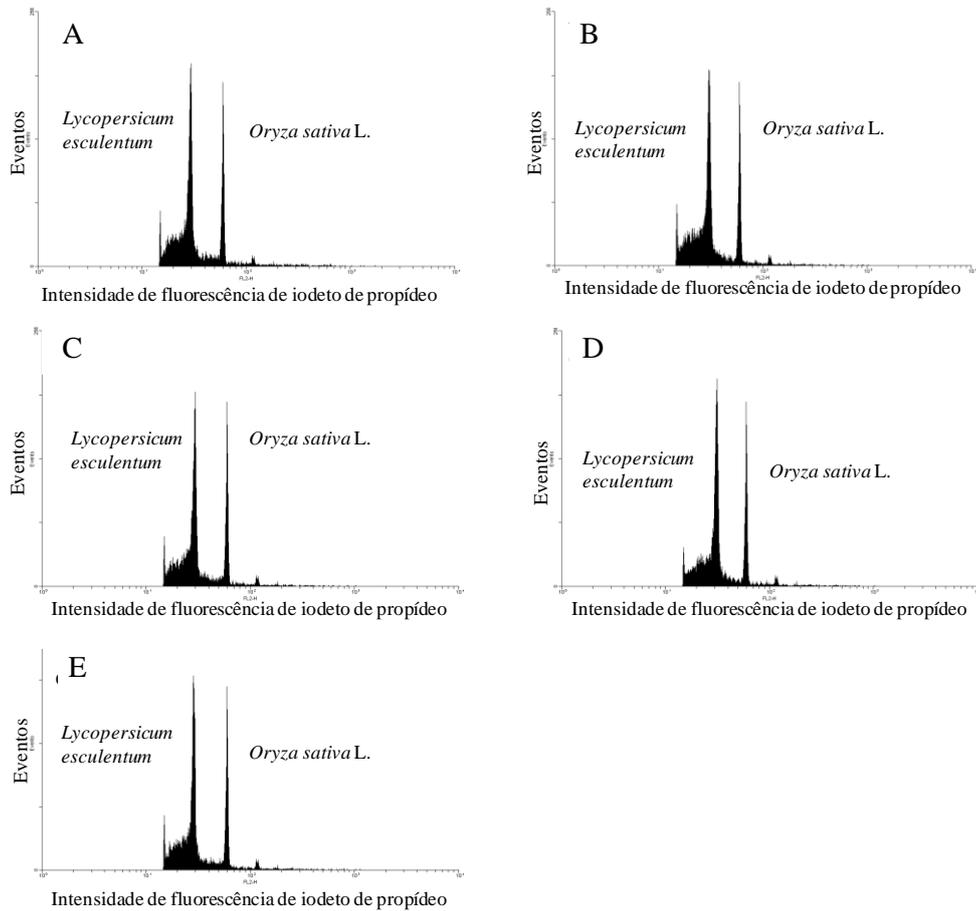
Embora se trate de outra espécie vegetal, os resultados obtidos na presente pesquisa corroboram com os relatos de Costa et al. (2016), no qual a aplicação de ácido silícico garantiu a estabilidade genética de maracujazeiro amarelo (*P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.), ou seja, não houve alteração na quantificação de DNA e no coeficiente de variação dessa frutífera promovida por este elemento.

Apesar de não ter sido observado neste trabalho o efeito da aplicação de metil jasmonato na quantificação de DNA vegetal, Pauwels et al. (2008) verificaram que este composto provocou a inibição do ciclo celular e foi positivamente correlacionado com a quantidade de células que se encontravam na fase G2 no processo de divisão celular, promovendo menor crescimento de calos em *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*). Além disso, Noir et al. (2013) verificaram também para esta espécie vegetal, que a presença de metil jasmonato alterou o conteúdo de DNA nuclear por retardar o início da endorreduplicação.

Assim, conforme relatado anteriormente, plantas quando mantidas em condições estressantes ou que foram submetidas a tratamentos químicos estão mais sujeitas a apresentar instabilidade genômica. Algumas espécies apresentaram seu conteúdo de DNA alterado mediante avaliação por citometria de fluxo tais como, por exemplo, cana de açúcar *Saccharum* spp. (NOGUEIRA et al., 2015), pitaia vermelha *Hilocereus undatus* (LOPES et al., 2016; MENEZES et al., 2016), cúrcuma *Curcuma longa* (ANTONIAZZI et al., 2016).

No que diz respeito aos histogramas, a escolha de folhas de tomate como padrão de referência, que apresenta conteúdo de DNA de 1,96 pg, favoreceu a formação do seu pico em um canal próximo ao da amostra (*O. sativa*), sem sobrepor o pico da mesma. Quanto mais próximos os dois picos, menor é o erro experimental. Assim, nos histogramas é possível observar a formação de picos finos, fato que comprova a confiabilidade dos resultados obtidos nesta pesquisa em relação à quantificação de DNA, devido os baixos valores de coeficiente de variação (FIGURA 7).

Figura 7 – Histogramas obtidos por análise citométrica de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidos a diferentes tratamentos. (A) Testemunha, (B) Tween, (C) Silício, (D) Metil jasmonato, (E) Silício e Metil jasmonato.



## 6 CONCLUSÕES

- a) O silício e/ou o metil jasmonato afetam o desempenho de *S. frugiperda*, reduzindo a biomassa e o consumo foliar de lagartas.
- b) O silício e/ou o metil jasmonato afetam a preferência para oviposição de *S. frugiperda* em teste com chance de escolha.
- c) Os indutores afetam a biologia da fase larval de *S. frugiperda* pela redução da biomassa de lagartas.
- d) Os indutores afetam a biologia da fase adulta diminuindo a viabilidade e o número de ovos.
- e) O silício aplicado isoladamente ou associado ao metil jasmonato, promovem incremento nas características fitotécnicas e fisiológica de arroz, e não altera o conteúdo de DNA das plantas.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Coletivamente, os resultados demonstraram claramente a resistência mediada por Si e MeJA à *S. frugiperda* em arroz, afetando o comportamento, a alimentação, o crescimento e a reprodução dos insetos. Foi observada também a possível interação entre o Si e o MeJA, diante do aumento da magnitude da resposta de defesa contra *S. frugiperda* e na melhoria de atributos fitotécnicos da cultura. Além disso, os resultados podem fornecer subsídios para programas de melhoramento genético, no intuito de selecionar ou desenvolver genótipos de arroz com maiores quantidades endógenas de ácido jasmônico, levando ao maior acúmulo de silício e conseqüentemente ao aumento de defesa contra insetos-praga. Desta forma, a aplicação exógena dos indutores pode constituir-se em uma importante ferramenta para o manejo do inseto-praga e da produção de arroz.

## 8 REFERÊNCIAS

- AGHAEPOUR, N. et al. Critical assessment of automated flow cytometry data analysis techniques. **Nature Methods** **10**, v.3, p.228–238, 2013.
- AHMED, M. et al. Silicon application and drought tolerance mechanism of sorghum. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 3, p. 594-607, 2011.
- ANJUM, S. A. et al. Exogenously applied methyl jasmonate improves the drought tolerance in wheat imposed at early and late developmental stages. **Acta physiologiae plantarum**, v. 38, n. 1, p. 25, 2016.
- ALAMGIR, K. M. et al. Systematic analysis of rice (*Oryza sativa*) metabolic responses to herbivory. **Plant, cell & environment**, v. 39, n. 2, p. 453-466, 2016.
- ALCANTRA, E.; MORAES, J. C.; ANTÔNIO, A. Efeito de indutores da resistência e cultivares de algodão no comportamento de *Aphis gossypii*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 41, n. 4, p. 619-624, out./dez. 2010.
- ALVARENGA, R. et al. Induction of resistance of corn plants to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) by application of silicon and gibberellic acid. **Bulletin of Entomological Research**, p. 1-7, 2017.
- ANTONIAZZI, D. et al. Growth regulators, DNA content and anatomy *in vitro* cultivated *Curcuma longa* seedlings. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 32, p. 1711-1725, 2016.
- AOKI, K.; AKAI, K.; UJIIE, K. A choice experiment to compare preferences for rice in Thailand and Japan: The impact of origin, sustainability, and taste. **Food Quality and Preference**, v. 56, p. 274-284, 2017.
- ARIMURA G.I.; OZAWA, R.; MAFFEI, M. E. Recent advances in plant early signaling in response to herbivory. **International journal of molecular sciences**, v. 12, n. 6, p. 3723-3739, 2011.
- ASMA, M.; LINGAKUMAR, K. Jasmonate foliar spray induced vegetative growth and pigment composition in *Vigna radiata* L. Wilczek. **International Journal**, v. 3, n. 1, p. 664-669, 2015.
- 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**, v. 59, n. 2, p. 128-134, 2013.
- ASSIS, F. A. et al. Induction of Caterpillar Resistance in Sunflower Using Silicon and Acibenzolar-S-Methyl. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 543-550, 2015.
- ATAIDE, L. M. et al. Induced plant-defenses suppress herbivore reproduction but also constrain predation of their offspring. **Plant Science**, v. 252, p. 300-310, 2016.

ÁVILA, F. W. et al. Interação entre silício e nitrogênio em arroz cultivado sob solução nutritiva. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 184-190, 2010.

AWANG, N. A. et al. Comparative study of the application of jasmonic acid and pesticide in chilli: effects on physiological activities, yield and viruses control, **Bioscience Journal**, v. 31, n. 3, p. 672-681, 2015.

BAMBARADENIYA, C. N. B.; AMERASINGHE, F. P. **Biodiversity associated with the rice field agroecosystem in Asian countries: a brief review**. Colombo: International Water Management Institute, 2003. 29 p. (Working Paper, 63).

BARROS, R. G. et al. Eficiência de inseticidas no controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 3, p. 179-182, 2005.

BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Plant genome size research: a field in focus. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p. 1-6, 2005.

BOGGS, C. L., FREEMAN; K. D. Larval food limitation in butterflies: effects on adult resource allocation and fitness. **Oecologia**, v. 144, p. 356-361, 2006.

BOREGAS, K. G. B. et al. Fitness stage of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on alternative hosts. **Bragantia**, v. 72, n. 1, p. 61-70, 2013.

BOSCH, M. et al. Jasmonic acid and its precursor 12-oxophytodienoic acid control different aspects of constitutive and induced herbivore defenses in tomato. **Plant physiology**, v. 166, n. 1, p. 396-410, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em 19 nov. 2016.

BROWSE, J.; HOWE, G. New weapons and a rapid response against insect attack. **Plant Physiology**, v. 146, n. 3, p. 832- 838, 2008.

BRUINSMA, M. et al. Jasmonic acid-induced changes in *Brassica oleracea* affect oviposition preference of two specialist herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, v.33, p.655- 668. 2007.

BUSATO, G. R. et al. Biologia comparada de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho e arroz. **Neotropical Entomology**, Londrina, V. 34, p. 743-750, 2005.

CAMARGO, J. M. M. et al. Resistência induzida ao pulgão-gigante-do-pinus (Hemiptera: Aphididae) em plantas de *Pinus taeda* adubadas com silício. **Bragantia**, v. 67, n. 4, p. 927-932, 2008.

CAO, B.; ZHANG, L.; BAI, C. Estimation of Nuclear DNA Content in Tannin-rich Medicinal Plant *Cornus officinalis* by Flow Cytometry. **Chinese Herbal Medicines**, v. 6, n. 2, p. 152-158, 2014.

CARVALHO, R.A. et al. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLoS One** **8**, e62268 . 2013.

CHEN, Y. et al. Appraisal of the impact of three insecticides on the principal rice pests and their predators in China. **Florida Entomologist**, v. 99, n. 2, p.210-220, 2016.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos safra 2016, sétimo levantamento abril 2016**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 3 nov. 2016.

CORREA, R. S. B. et al. Silicon and acibenzolar-S-methyl as resistance inducers in cucumber, against the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p. 429-433, 2005.

COSTA, B. N. S. et al. Effects of silicon on the growth and genetic stability of passion fruit. **Acta Scientiarum**. Agronomy. v. 38, n.4, p. 503-511, 2016.

COSTA, E.C. et al. Eficiência de neonicotinóides no controle de larvas de *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) em arroz irrigado via tratamento de sementes. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 13, n. 1, p. 123-131, 2006.

COSTA, R. R.; MORAES, J. C.; ANTUNES, C. S. Resistência induzida em trigo ao pulgão *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852) (Hemiptera: Aphididae) por silício e acibenzolar-S-methyl. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 393-397, 2007.

CUNHA, U. S. et al. Resistência de genótipos de milho para cultivo em várzeas subtropicais à lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda*. **Ciência rural**, v. 38, n. 4, p. 1125-1128, 2008.

CRUZ, I. et al. **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. Brasília: EMBRAPA, 2008. 192 p.

CURRIE, H.A.; PERRY, C.C. Silica in plants: biological, biochemical and chemical studies. **Annals of Botany**, v.100, p.1383-1389, 2007.

CUSUMANO, A. et al. Attraction of egg-killing parasitoids toward induced plant volatiles in a multi-herbivore context. **Oecologia**, v. 179, n. 1, p. 163-174, 2015.

DATNOFF, L.E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Elsevier, 2001.

DESPRÉS, L.; DAVID, J.-P.; GALLET, C. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 22, n. 6, p. 298-307, 2007.

- DIAS, P. A. S. et al. Induction of resistance by silicon in wheat plants to alate and apterous morphs of *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae). **Environmental entomology**, v. 43, n. 4, p. 949-956, 2014.
- DICKE, M; BALDWIN, I; T. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. **Trends in plant science**, v. 15, n. 3, p. 167-175, 2010.
- DING, T. P. et al. Silicon isotope fractionation in bamboo and its significance to the biogeochemical cycle of silicon. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 72, n. 5, p. 1381-1395, 2008.
- DOLEŽEL, J.; SGORBATI, S.; LUCRETTI, S. Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. **Physiologia plantarum**, v. 85, n. 4, p. 625-631, 1992.
- DOLEŽEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. **Nature protocols**, v. 2, n. 9, p. 2233-2244, 2007.
- DOLEZEL, J.; BARTOS, J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**, v. 95, n. 1, p.99–110, 2005.
- EGGER, B., KOSCHIER, E. H. Behavioural responses of *Frankliniella occidentalis* Pergande larvae to methyl jasmonate and cis-jasmone. **Journal of pest science**, v. 87, n. 1, p. 53-59, 2014.
- EGGER, B.; SPANGL, B.; KOSCHIER, E. H. Continuous exposure to the deterrents cis-jasmone and methyl jasmonate does not alter the behavioural responses of *Frankliniella occidentalis*. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 158, n. 1, p. 78-86, 2016.
- FAHAD, S. et al. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. **Plant Growth Regulation**, v. 75, n. 2, p. 391-404, 2015.
- FEDDERWITZ, F. et al. Effects of jasmonate-induced resistance in conifer plants on the feeding behaviour of a bark-chewing insect, *Hylobius abietis*. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 1, p. 97-105, 2016.
- FERREIRA, E. Fauna prejudicial. In: SANTOS, A.B.; STONE, L.F.; VIEIRA, N.R.A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. p.485-560.
- FIGUEIREDO FILHO, D.B.; SILVA JÚNIOR, J.A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, v. 18, n. 1, p. 115-146, 2009.
- FIGUEIREDO, M. L. C. et al. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 12, p. 1693-1698, 2006.
- GALBRAITH, D. W. et al. Analysis of nuclear DNA content and ploidy in higher plants. **Current protocols in Cytometry**, Somerset, v. 7, n. 7 6, p 7-22, 2001.

GAUTAM, P. et al. Role of silica and nitrogen interaction in submergence tolerance of rice. **Environmental and Experimental Botany**, v. 125, p. 98-109, 2016.

GOMES, F. B. et al. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 6, p. 547-551, 2005.

GOMES, F. B. et al. Use of silicon as inductor of the resistance in potato to *Myzus persicae* (Sulzer)(Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 2, p. 185-190, 2008.

GORDY, J. W. et al. Comparative effectiveness of potential elicitors of plant resistance against *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in four crop plants. **PloS one**, v. 10, n. 9, p. e0136689, 2015.

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, abr./jun. 2002.

GREENE, G. L.; LEPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 69, n. 4, p. 488-497, Aug. 1976.

HAMM, J. C.; STOUT, M. J.; RIGGIO, R. M. Herbivore-and elicitor-induced resistance in rice to the rice water weevil (*Lissorhoptus oryzophilus* Kuschel) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 2, p. 192-199, 2010.

HAMM, J. C. et al. Oviposition behavior of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) on different rice cultivars in Louisiana. **Environmental Entomology**, v. 41, n. 3, p. 571-577, 2012.

HAN, Y. et al. Silicon-mediated resistance in a susceptible rice variety to the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae). **PloS one**, v. 10, n. 4, p. e0120557, 2015.

HAN, Y. et al. Defense responses in rice induced by silicon amendment against infestation by the leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis*. **PloS one**, v. 11, n. 4, p. e0153918, 2016.

HANLEY, M. E. et al. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 8, n. 4, p. 157-178, 2007.

HE, W. et al. High levels of silicon provided as a nutrient in hydroponic culture enhances rice plant resistance to brown planthopper. **Crop Protection**, v. 67, p. 20-25, 2015.

HEINRICHS, E. A. **Management of rice insect pests**. Minnesota: IPM, 1998. 16 p. (Radcliffe's IPM World Textbook).

HENRIET, C. et al. Leaf silicon content in banana (*Musa* spp.) reveals the weathering stage of volcanic ash soils in Guadeloupe. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 313, n. 1/2, p. 71-82, Dec. 2008.

- HOLOPAINEN, J.K. et al. Potential for the use of exogenous chemical elicitors in disease and insect pest management of conifer seedling production. **The Open Forest Science Journal**, v. 2, p.17-24, 2009.
- HOSSAIN, M. T. et al. Growth promotion and an increase in cell wall extensibility by silicon in rice and some other Poaceae seedlings. **Journal of Plant Research**, v. 115, n. 1, p. 23-27, 2002.
- HOU, M.; HAN, Y. Silicon-mediated rice plant resistance to the Asiatic rice borer (Lepidoptera: Crambidae): effects of silicon amendment and rice varietal resistance. **Journal of economic entomology**, v. 103, n. 4, p. 1412-1419, 2010.
- HOWE, G.A.; JANDER, G. Plant immunity to insect herbivores. **Annual Review Plant Biology**, v. 59, p.41–66. 2008.
- HSU, Y. Y.; CHAO, Y.Y.; KAO, C. H. Methyl jasmonate-induced lateral root formation in rice: the role of heme oxygenase and calcium. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, n. 1, p. 63-69, 2013.
- HUNT, J. W. et al. A novel mechanism by which silica defends grasses against herbivory. **Annals of Botany**, Oxford, v. 102, n. 4, p. 653-656, Oct. 2008.
- ISA, M. et al. Silicon enhances growth independent of silica deposition in a low-silica rice mutant, *lsi1*. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1-2, p. 361-375, 2010.
- INSTITUTO RIOGRANDENSE DO ARROZ. **Arroz irrigado**: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil. Porto Alegre, 2001. 128 p.
- JANZ, N. Evolutionary ecology of oviposition strategies. In: M. Hilker and T. Meiners. **Chemoecology of insect eggs and egg deposition**. Berlin: Blackwell Publishing, 2002. p. 349-376.
- JUMA, G. et al. Influence of plant silicon in *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae–Poaceae interactions. **Bulletin of entomological research**, v. 105, n. 2, p. 253-258, 2015.
- KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. **Annual Review of Plant Biology**, v.53, n. 1, p.299-328, 2002.
- KHUSH, G. S. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. **Plant Molecular Biology**, Wageningen, v. 35, n. 1/2, p. 25-34, Sept. 1997.
- KOMBRINK, E. Chemical and genetic exploration of jasmonate biosynthesis and signaling paths. **Planta**, v. 236, n. 5, p. 1351-1366, 2012.
- KORNDORFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; NOLLA, A. Análise de silício: solo, planta e fertilizantes. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2004. 34 p. **Boletim técnico**, v. 2.

- KVEDARAS, O. L. et al. Larval performance of the pyralid borer *Eldana saccharina* Walker and stalk damage in sugarcane: influence of plant silicon, cultivar and feeding site. **International Journal of Pest Management**, v. 53, n. 3, p. 183-194, 2007.
- KVEDARAS, O. L. et al. Influence of plant silicon and sugarcane cultivar on mandibular wear in the stalk borer *Eldana saccharina*. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 11, n. 3, p. 301-306, 2009.
- KVEDARAS, O. L. et al. Silicon enhances natural enemy attraction and biological control through induced plant defences. **Bulletin of Entomological Research**, v. 100, n. 3, p. 367-371, 2010.
- LAVINSKY, A. O. et al. Silicon improves rice grain yield and photosynthesis specifically when supplied during the reproductive growth stage. **Journal of Plant Physiology**, v. 206, p. 125-132, 2016.
- LEAL, F. et al. Nuclear DNA content of *Vitis vinifera* cultivars and ploidy level analyses of somatic embryo-derived plants obtained from anther culture. **Plant cell reports**, v. 25, n. 9, p. 978-985, 2006.
- LITSINGER, J.A.; BANDONG, J.P.; CANAPI, B.L. Effect of multiple infestations from insect pests and other stresses to irrigated rice in the Philippines: II. Damage and yield loss. **International Journal of Pest Management**. v.57, n.2, p.117–131, 2011.
- LIU, P. et al. Enhanced root hydraulic conductance by aquaporin regulation accounts for silicon alleviated salt-induced osmotic stress in *Sorghum bicolor* L. **Environmental and Experimental Botany**, v. 111, p. 42-51, 2015.
- LOPES, C. A. et al. Indução de calos, potencial embriogênico e estabilidade genética em pitaia vermelha. **Agrária (Revista Brasileira de Ciências Agrárias)**, v. 11, n.1, p.21-25, 2016.
- LU, Zhong-Xian et al. Mechanisms for flowering plants to benefit arthropod natural enemies of insect pests: prospects for enhanced use in agriculture. **Insect Science**, v. 21, n. 1, p. 1-12, 2014.
- MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p. 17-39.
- MA, J. F.; TAKAHASHI, E. **Soil, fertilizer, and plant silicon research in Japan**. Elsevier, 2002.
- MA, J. F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, London, v. 11, n. 8, p. 392-397, Aug. 2006.
- MA, J. F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. **Cellular and Molecular life Sciences**, v. 65, n. 19, p. 3049-3057, 2008.

- MA, J. F. et al. Genotypic difference in silicon uptake and expression of silicon transporter genes in rice. **Plant Physiology**, v. 145, n. 3, p. 919-924, 2007.
- MARIE, D.; BROWN, S. C. A cytometric exercise in plant DNA histograms, with 2C values for 70 species. **Biology of the Cell**, v. 78, n. 1-2, p. 41-51, 1993.
- MARTÍNEZ-ESPLÁ, A. et al. Preharvest application of methyl jasmonate (MeJA) in two plum cultivars. 1. Improvement of fruit growth and quality attributes at harvest. **Postharvest Biology and Technology**, v. 98, p. 98-105, 2014.
- MARTINS, J. F. da S.; ROSA, A. P. S. A. Importância econômica de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) como praga do arroz no Brasil. 2007.
- MARTINS, J. F. da S.; GRÜTZMACHER, A. D.; CUNHA, U. S. Descrição e manejo integrado de insetos praga em arroz irrigado. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES Jr., A.M. **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. Cap.19, p.635-675.
- MASSEY, F. P.; HARTLEY, S. E. Physical defences wear you down: progressive and irreversible impacts of silica on insect herbivores. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 78, n. 1, p. 281-291, Jan. 2009.
- MAYHEW, P. J. Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. **Oikos**, v. 79, p. 417-428, 1997.
- MELCHINGER, A. E. et al. In vivo haploid induction in maize: comparison of different testing regimes for measuring haploid induction rates. **Crop Science**, v. 56, n. 3, p. 1127-1135, 2016.
- MENEZES, T. P. et al. Endoreduplication in floral structure, vegetative and fruits of red pitaya with white pulp. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 4, p. 931-939, 2016.
- MITHÖFER, A.; BOLAND, W. Plant defense against herbivores: chemical aspects. **Annual review of plant biology**, v. 63, p. 431-450, 2012.
- MORAES, M. C. B. et al. Attraction of the stink bug egg parasitoid *Telenomus podisi* to defense signals from soybean activated by treatment with cis-jasmone. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.131, p.178-188, 2009.
- NAGOSHI, R. N.; MEAGHER, R. L. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida entomologist**, v. 91, n. 4, p. 546-554, 2008.
- NASCIMENTO, A.M. et al. Não preferência a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) induzida em arroz pela aplicação de silício. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.9, n.2, p.215-218, 2014.

- NASCIMENTO, A. R. B. D. et al. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest management science**, West Sussex, v. 72, n. 4. p. 810-815, 2015.
- NOGUEIRA, G. F. et al. An approach on the in vitro maintenance of sugarcane with views for conservation and monitoring of plant nuclear DNA contents via flow cytometry. **In Vitro Cell and Developmental Biology Plant**, v. 51, p.220–230, 2015.
- NOIR, S. et al. Jasmonate controls leaf growth by repressing cell proliferation and the onset of endoreduplication while maintaining a potential stand-by mode. **Plant physiology**, v. 161, n. 4, p. 1930-1951, 2013.
- OCHATT, S. J. Flow cytometry in plant breeding. **Cytometry part A**, v. 73, n. 7, p. 581-598, 2008.
- OLIVEIRA, J. V. Caracterização e controle dos principais insetos do arroz irrigado. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v. 40, n. 374, p. 17-24, 1987.
- PAUDEL, S.; RAJOTTE, E. G.; FELTON, G. W. Benefits and costs of tomato seed treatment with plant defense elicitors for insect resistance. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 8, n. 6, p. 539-545, 2014.
- PAUWELS, L. et al. Mapping methyl jasmonate-mediated transcriptional reprogramming of metabolism and cell cycle progression in cultured Arabidopsis cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 4, p. 1380-1385, 2008.
- PEIXOTO, M. L. et al. Efeito do silício na preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* biótipo B (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotecnologia**. v.35, n.3, p. 478-481, 2011.
- PEREIRA, R. R. C. et al. Resistance inducing agents on the biology and probing behaviour of the greenbug in wheat. **Scientia Agricola** ,Piracicaba, v.67, n, 4, p.430-434, 2010.
- PEREZ, C. E. A. et al. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence in wheat plants supplied with silicon and infected with *Pyricularia oryzae*. **Phytopathology**, v. 104, n. 2, p. 143-149, 2014.
- PINTO, A. de S.; PARRA, J. R. P.; OLIVEIRA, H. N. de. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Piracicaba: PLD, 2004. 108 p.
- PITRE, H.N.; D.B. HOGG. Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. **Journal of Georgia Entomological Society**, v. 18, p.187-194, 1983.
- POGUE, M. G. **A world revision of the genus Spodoptera Guenée (Lepidoptera: Noctuidae)**. Philadelphia: American Entomological Society, 2002.
- PRADO, M. J. et al. Detection of somaclonal variants in somatic embryogenesis-regenerated plants of *Vitis vinifera* by flow cytometry and microsatellite markers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 103, n. 1, p. 49-59, 2010.

- QUEIROZ, P. R. et al. Mitochondrial markers to distinguish *Spodoptera frugiperda* populations associated with corn and cotton crops. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 692-696, 2016.
- RAHMAN, A.; WALLIS, C. M.; UDDIN, W. Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 748-757, 2015.
- RAZA, M. M. et al. Silicon mediated arsenic reduction in rice by limiting its uptake. **Agricultural Sciences**, v. 7, n. 1, p. 1, 2016.
- RÉMUS-BOREL, W.; MENZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. Silicon induces antifungal compounds in powdery mildew-infected wheat. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 66, n. 3, p. 108-115, 2005.
- REYNOLDS, O. L.; KEEPING, M.G.; MEYER, J.H. Silicon-augmented resistance of plants to herbivorous insects: A review. **Annals of Applied Biology**, v.155, n.2, p.171–186, 2009.
- REYNOLDS, O. L. et al. Silicon: potential to promote direct and indirect effects on plant defense against arthropod pests in agriculture. **Frontiers in plant science**, v. 7, 2016.
- RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 301 p.
- RODRIGUEZ-SAONA, C. et al. Exogenous methyl jasmonate induces volatile emissions in cotton plants. **Journal of chemical ecology**, v. 27, n. 4, p. 679-695, 2001.
- ROSA, A. et al. Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em linhagens de milho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.1, p. 39–45, 2012.
- SANTOS, L. M. et al. Fertility and longevity of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn genotypes. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 345-350, 2004.
- SARMENTO, R. A. et al. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em milho no Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 18, n. 2, p. 41-48, dez. 2002.
- SCHOLZ, S. S. et al. Insect herbivory-elicited GABA accumulation in plants is a wound-induced, direct, systemic, and jasmonate-independent defense response. **Frontiers in plant science**, v. 6, 2015.
- SCOTT, I. M.; THALER, J. S.; SCOTT, J. G. Response of a generalist herbivore *Trichoplusia ni* to jasmonate-mediated induced defense in tomato. **Journal of chemical ecology**, v. 36, n. 5, p. 490-499, 2010.
- SHARMA, H.C.; SUJANA, G.; RAO, D.M. Morphological and chemical components of resistance to pod borer, *Helicoverpa armigera* in wild relatives of pigeonpea. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 3, n. 3, p. 151-161, 2009.
- SILVA, A.A. et al. Biology of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in colored cotton treated with silicon. **EntomoBrasilis**, v.7, n.1, p.65-68, 2014.

SILVA, R. N. et al. Physiological quality of barley seeds submitted to saline stress. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 40-44, 2007.

SILVEIRA NETO, S. et al. Manual on the ecology of insects. 1976.

SOARES, A. A. et al. BRSMG Caravera: cultivar de arroz para terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 7, p. 937-940, jul. 2008.

\_\_\_\_\_. Canastra e confiança: cultivares melhorados de arroz para plantio em condições de sequeiro tradicional e irrigado por aspersão. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 44, n. 252, p. 230-240, out. 1997.

\_\_\_\_\_. Carisma: cultivar de arroz para plantio no sequeiro tradicional e sob pivô central. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 47, n. 272, p. 441-448, 2000.

\_\_\_\_\_. Primavera: cultivar de grãos agulhinha para cultivo em terras altas. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 48, n. 277, p. 381-388, maio 2001.

SOARES, A. A.; REIS, M. S. de; SOARES, P. C. Caiapó, nova opção de arroz de sequeiro para Minas Gerais. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 40, n. 231, p. 513-517, 1993.

SOMMER, M. et al. Silicon pools and fluxes in soils and landscapes—a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 169, n. 3, p. 310-329, 2006.

SONG, A. et al. The role of silicon in enhancing resistance to bacterial blight of hydroponic- and soil-cultured rice. **Scientific reports**, v. 6, 2016.

SRIPONTAN, Y.; HWANG, S.Y. Jasmonate-induced defense in tomato and cabbage deterred *Spodoptera litura* (Noctuidae) growth. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 19, n. 4, p. 1125-1129, 2016.

STRECK, N. A. et al. Duração do ciclo de desenvolvimento de cultivares de arroz em função da emissão de folhas no colmo principal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1086-1093, jul./ago. 2006.

TAMAI, K.; MA, J. F. Reexamination of silicon effects on rice growth and production under field conditions using a low silicon mutant. **Plant and Soil**, v. 307, n. 1-2, p. 21-27, 2008.

TAN, C. W. et al. Methyl jasmonate induced responses in four plant species and its effect on *Spodoptera litura* Fab. performance. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 14, n. 3, p. 263-269, 2011.

TAN, C. W. et al. Jasmonate-induced defenses in tomato against *Helicoverpa armigera* depend in part on nutrient availability, but artificial induction via methyl jasmonate does not. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 6, n. 4, p. 531-541, 2012.

THALER, J. S. et al. Exogenous jasmonates simulate insect wounding in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, n. 10, p. 1767-1781, 1996.

- VIEIRA, N. R. A.; RABELO, R. R. Qualidade tecnológica. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. A cultura do arroz no Brasil. 2. ed. Santo Antônio da Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. cap. 23. p. 869-900.
- WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p.1184-1192, 2008.
- WAR, A. R. et al. Induced resistance to *Helicoverpa armigera* through exogenous application of jasmonic acid and salicylic acid in groundnut, *Arachis hypogaea*. **Pest management science**, v. 71, n. 1, p. 72-82, 2015.
- WASS, J.A. Systat 12: Now More Stats and Graphs, Less Effort. **Scientific Computing**, v. 25, n.6, p. 25, 2008.
- WASTERNACK, C. Jasmonates in Plant Growth and Stress Responses. In: **Phytohormones: A Window to Metabolism, Signaling and Biotechnological Applications**. Springer New York, 2014. p. 221-263.
- WASTERNACK, C.; KOMBRINK, E. Jasmonates: structural requirements for lipid-derived signals active in plant stress responses and development. 2009.
- WHITEHILL, J. G. A. et al. Decreased emergence of emerald ash borer from ash treated with methyl jasmonate is associated with induction of general defense traits and the toxic phenolic compound verbascoside. **Oecologia**, v. 176, n. 4, p. 1047-1059, 2014.
- WOLDEMARIAM, M. G.; BALDWIN, I. T.; GALIS, I. Transcriptional regulation of plant inducible defenses against herbivores: a mini-review. **Journal of Plant Interactions**, v. 6, n. 2-3, p. 113-119, 2011.
- WU, J.; BALDWIN, I. T. New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. **Annual review of genetics**, v. 44, p. 1-24, 2010.
- YAMAJI, N.; MA, J. F. A transporter at the node responsible for intervascular transfer of silicon in rice. **The Plant Cell**, v. 21, n. 9, p. 2878-2883, 2009.
- YAMAJI, N.; MITATNI, N.; MA, J. F. A transporter regulating silicon distribution in rice shoots. **The Plant Cell**, v. 20, n. 5, p. 1381-1389, 2008.
- YAMAMOTO, T. et al. Effect of silicon deficiency on secondary cell wall synthesis in rice leaf. **Journal of plant research**, v. 125, n. 6, p. 771-779, 2012.
- YANG, Y.; LI, Y.; WU, Y. Current status of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* after 15 years of Bt cotton planting in China. **Journal of economic entomology**, v. 106, n. 1, p. 375-381, 2013.
- YANG, F. et al. Analysis of key genes of jasmonic acid mediated signal pathway for defense against insect damages by comparative transcriptome sequencing. **Scientific reports**, v. 5, p. 16500, 2015.

YE, M. et al. Silencing COI1 in rice increases susceptibility to chewing insects and impairs inducible defense. **PLoS One**, v. 7, n. 4, p. e36214, 2012.

YE, M. et al. Priming of jasmonate-mediated antiherbivore defense responses in rice by silicon. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 38, p. E3631-E3639, 2013.

YOGENDRA, N. D. et al. Effect of silicon on real time nitrogen management in a rice ecosystem. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 9, p. 831-840, 2014. <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR12.1841>

ZENKER, M. M.; SPECHT, A.; CORSEUIL, E. Immature stages of *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 1, p. 99-107, 2007.

ZHANG, E. A. et al. Soaking seeds in methyl jasmonate or benzothiadiazole induces resistance to an insect pest and stem decay in *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*, **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 88, n.6, p.715-720, 2013.

ZHANG, Y. T. et al. Proteomics of methyl jasmonate induced defense response in maize leaves against Asian corn borer. **BMC genomics**, v. 16, n. 1, p. 224, 2015.