



AMANDA CRISTINA GUIMARÃES SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS DE INDUÇÃO DE
RESISTÊNCIA, MEMÓRIA IMUNE E TOLERÂNCIA EM
GENÓTIPOS DE MILHO A *Spodoptera frugiperda*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) PELA APLICAÇÃO DE
SILÍCIO**

**LAVRAS-MG
2020**

AMANDA CRISTINA GUIMARÃES SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS DE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA, MEMÓRIA
IMUNE E TOLERÂNCIA EM GENÓTIPOS DE MILHO A *Spodoptera frugiperda*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) PELA APLICAÇÃO DE SILÍCIO**

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

Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza
Orientador

**LAVRAS-MG
2020**

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

Sousa, Amanda Cristina Guimarães.

Caracterização dos efeitos de indução de resistência, memória imune e tolerância em genótipos de milho a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) pela aplicação de silício / Amanda Cristina Guimarães Sousa. - 2020.

64 p. : il.

Orientador(a): Bruno Henrique Sardinha de Souza.

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

Bibliografia.

1. Tolerância induzida. 2. Bioestimulante. 3. Elicitor. I. Sardinha de Souza, Bruno Henrique. II. Título.

AMANDA CRISTINA GUIMARÃES SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS DE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA, MEMÓRIA
IMUNE E TOLERÂNCIA EM GENÓTIPOS DE MILHO A *Spodoptera frugiperda*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) PELA APLICAÇÃO DE SILÍCIO**

**CHARACTERIZATION OF THE EFFECTS OF INDUCTION OF RESISTANCE,
IMMUNE MEMORY AND TOLERANCE IN MAIZE GENOTYPES *Spodoptera*
frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) BY THE APPLICATION OF SILICON**

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

Aprovada em 17 de fevereiro de 2020

Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza (UFLA)

Dr^a. Maria Fernanda Gomes Villalba Peñafior (UFLA)

Dr. Flávio Gonçalves de Jesus (IFGoiano)

Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza

Orientador

LAVRAS-MG

2020

Aos meus queridos pais, Mônica Maria Guimarães Sousa e Antônio Anísio de Sousa, minhas irmãs Bruna Cristina Guimarães Sousa e Luana Martins Guimarães Sousa, pelo amor incondicional e por sempre me incentivarem a ser uma pessoa melhor. Ao meu sobrinho/afilhado Henrique que veio esse ano para trazer mais amor e alegria a nossas vidas.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus pelo dom da sabedoria, por me iluminar e guiar sempre nas minhas escolhas.

Aos meus pais Mônica Maria Guimarães Sousa e Antônio Anísio de Sousa, e minhas irmãs Bruna Cristina Guimarães Sousa e Luana Martins Guimarães Sousa pela confiança, apoio, compreensão e pelas palavras de conforto nos momentos difíceis. Ao meu sobrinho/afilhado Henrique que veio esse ano para transbordar todo o amor que há em mim.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Entomologia por permitirem a realização desse trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza pela oportunidade a mim concedida de conhecer mais sobre a Resistência de plantas, por todos os conhecimentos adquiridos, por todas as orientações e conselhos dados ao longo desse mestrado.

Aos meus amigos pela paciência, compreensão e palavras de carinho, em especial, Emanuel, Larah, Marvin, Sóstenes, Rosamara, Deborah, Ramom, Ana Paula, Aline e Nathália por estarem sempre comigo e me ajudarem nos momentos que mais precisei.

Aos amigos de Araújo, pela torcida de sempre, e por sempre estarem presente mesmo longe.

Aos integrantes do Laboratório de Resistência de plantas e MIP pela amizade, convivência, companheirismo e trabalho em equipe.

Ao Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da UFLA, na pessoa do professor Paulo e pós doutoranda Lissa Valadares, pela colaboração na realização desse trabalho.

Ao Laboratório de Nutrição de plantas do Departamento de Solos da UFLA, na pessoa da professora Maria Lígia e a técnica Aline que sempre se mostraram dispostas a ajudar na realização desse trabalho.

Ao demais professores, e funcionários do Departamento de Entomologia que estiveram presentes ao longo dessa jornada, obrigada por todo os ensinamentos e aprendizados repassados.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq).

Á todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho os meus sinceros agradecimentos. Muito Obrigada!

RESUMO

A lagarta-militar *Spodoptera frugiperda* é considerada a principal praga desfolhadora do milho no Brasil e outros países, como a África e a Ásia. Estudos demonstraram que plantas fertilizadas com silício (Si) apresentam aumento de resistência a insetos-praga devido ao endurecimento da parede celular, ativação de enzimas antioxidantes e expressão de genes e metabólitos secundários. No entanto, há controvérsias a respeito dos efeitos promovidos pelo Si quanto à resistência das plantas, levando a debates se os efeitos seriam de indução de resistência; ou indução de memória imune. Outra abordagem é se a aplicação de Si poderia induzir maior tolerância às plantas. O objetivo deste trabalho foi caracterizar os efeitos do Si quanto à indução de resistência, de memória imune e de tolerância em um híbrido e uma variedade crioula de milho à sua principal praga, *S. frugiperda*. O experimento foi conduzido em esquema fatorial 2 x 2 x 2 (com ou sem Si x com ou sem herbivoria x híbrido ou variedade crioula), formando com as combinações 8 tratamentos e 15 repetições, utilizando plantas em vasos em casa de vegetação. A dose de Si (ácido silícico a 1%) utilizada foi proporcional a 2 t ha⁻¹, aplicada nas plantas no estágio V2. Quando as plantas atingiram V3, duas lagartas neonatas de *S. frugiperda* foram infestadas no cartucho das plantas nos tratamentos atribuídos com herbivoria. Após 5-7 dias, as plantas em V4 foram reinfestadas com uma lagarta de 4º de ínstar que foram mantidas na planta até atingirem V5. Posteriormente, as plantas de cada tratamento foram divididas em 4 grupos para as avaliações: 1) massa seca da parte aérea e sistema radicular, altura de plantas e índice relativo de clorofila; 2) atividades das enzimas SOD, CAT e APX, H₂O₂ e MAD; 3) efeitos induzidos sobre o peso e consumo foliar de lagartas neonatas; e 4) determinação da nota de injúria com base na escala de Davis. Houve redução nas notas de injúria apenas em plantas com Si submetidas à herbivoria. A variedade crioula apresentou notas de injúria menores que o híbrido. O ganho de peso larval foi menor nas plantas crioulas com Si e herbivoria. Maior massa seca das raízes foi observada no genótipo crioulo com Si e sem herbivoria. As plantas da variedade crioula tiveram maior peso da parte aérea do que o híbrido somente com herbivoria. A fertilização das plantas com Si aumentou as concentrações de H₂O₂. No genótipo crioulo as maiores atividades da APX ocorreram com aplicação de Si e sem herbivoria, e as da CAT e SOD nas condições com Si e sem herbivoria ou com herbivoria e sem Si. Os efeitos de indução de resistência, indução de memória imune e tolerância podem ocorrer de forma conjunta e utilizados pela planta como mecanismos de defesa à herbivoria. Além disso, os resultados sugerem que os efeitos do Si são potencializados pela herbivoria, afetando negativamente o crescimento das lagartas e reduzindo a injúria na variedade crioula. A variedade crioula pode possuir mecanismos específicos de resistência e tolerância induzidas.

Palavras-chave: Ativador. Elicitor. Tolerância induzida. Bioestimulante.

ABSTRACT

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* is considered to be the major defoliating pest of maize in Brazil and other countries, such as Africa and Asia. Studies have already shown that plants fertilized with silicon (Si) show increased resistance to insect pests due to the hardening of cell walls, activation of antioxidant enzymes, and expression of genes and secondary metabolites. However, there are controversies regarding the effects promoted by Si regarding the resistance of plants, leading to debates about whether the effects would be resistance-inducing; or induction of immune memory. Another approach is whether Si application could induce greater tolerance to plants. This work aimed to characterize the effects of Si as to resistance induction, priming of immune memory, and tolerance in a hybrid and a landrace variety of maize against the major pest *S. frugiperda*. The experiment was carried out in a 2 x 2 x 2 factorial (with or without Si x with or without herbivory x hybrid or landrace variety), forming with the combinations 8 treatments and 15 repetitions, using potted plants in a greenhouse. The dose of Si (1% silicic acid) used was proportional to 2 t ha⁻¹ and was applied to plants at V2 stage. When the plants reached V3, two neonates of *S. frugiperda* were infested in the plants' whorls in the treatments assigned with herbivory. After 5-7 days, plants at V4 were reinfested with a 4th instar larva that remained in the plant until V5. Next, plants of each treatment were divided into 4 groups for assessments of: 1) dry mass of the aerial part and root system, plant height, and relative chlorophyll index; 2) activity of the enzymes SOD, CAT, and APX, H₂O₂ and MAD; 3) induced effects on the weight and leaf consumption of newborn caterpillars; and 4) determination of the injury score based on the Davis scale. There was a reduction in injury scores only in plants with Si and subjected to herbivory. The landrace variety showed lower injury scores than the hybrid. Larval weight gain was lower in landrace plants with both Si and herbivory. Greater root dry matter was achieved in the landrace with Si and without herbivory. Landrace plants showed greater weight of the aerial part than the hybrid with herbivory only. Si fertilization to plants increased H₂O₂ concentrations. In the landrace variety higher activities of APX occurred with Si application and without herbivory, and of CAT and SOD in conditions with Si and without or with herbivory and without Si. The effects of resistance induction, priming of immune memory, and tolerance can occur jointly and be used by the plants as defense strategies against herbivory. In addition, the results suggest that Si effects are enhanced by herbivory, negatively affecting growth of larvae and reducing injury in the landrace variety. The landrace variety should have specific mechanisms of induced resistance and tolerance.

Keywords: Primer. Elicitor. Induced tolerance. Biostimulant.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Esquema geral das etapas descritas nesta metodologia. 20
- Figura 2 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si no índice de consumo relativo (RCR) de lagartas de *Spodoptera frugiperda*. 24
- Figura 3 - (A) Efeitos da interação genótipo de milho x herbivoria por *S. frugiperda* na massa seca da parte aérea das plantas; (B) Efeitos da interação genótipo de milho x Si no índice relativo de clorofila antes da infestação; (C) Efeitos da interação genótipo de milho x Si na altura de plantas antes da infestação; (D) Efeitos do genótipo de milho na altura de plantas depois da infestação; (E) Efeitos da interação Si x herbivoria na concentração de Si na parte aérea das plantas. 26
- Figura 4 - Efeitos da interação Si x herbivoria na concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). 27
- Figura 5 - (A) Efeitos da interação Si x herbivoria na nota de injúria de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. (B) Efeito dos genótipos de milho na nota de injúria de lagartas de *Spodoptera frugiperda*. 31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na massa (g) seca da raiz.	25
Tabela 2 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na peroxidação lipídica ($\eta\text{mol MDA mg MF}^{-1}$).....	28
Tabela 3 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na atividade enzimática da APX ($\mu\text{M AsA min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{MF}$).....	28
Tabela 4 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na atividade enzimática da CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{MF}$).....	29
Tabela 5 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na atividade enzimática da SOD ($\text{U SOD min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{MF}$).....	30
Tabela 6 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria no peso (mg) de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	4
2.1	Objetivo geral	4
2.2	Objetivos específicos	4
3	HIPÓTESES	5
4	REFERENCIAL TEÓRICO.....	6
4.1	Silício	6
4.2	A cultura do milho	8
4.3	<i>Spodoptera frugiperda</i>	10
4.4	Memória imune, indução de resistência e tolerância	13
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
5.1	Local do experimento	18
5.2	Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	18
5.3	Tratamentos e delineamento experimental	18
5.4	Montagem e condução do experimento	18
5.5	Avaliação do desempenho larval de <i>Spodoptera frugiperda</i> em laboratório 20	
5.6	Avaliação do crescimento das plantas e concentração foliar de Si.....	21
5.7	Avaliação do estresse oxidativo e atividades enzimáticas	22
5.8	Avaliação da injúria de <i>S. frugiperda</i> nas plantas de milho em casa de vegetação 22	
5.9	Análise estatística	23
6	RESULTADOS	24
6.1	Avaliação do desempenho larval de <i>Spodoptera frugiperda</i> em laboratório 24	
6.2	Avaliação do crescimento das plantas e concentração foliar de Si.....	24
6.3	Avaliação do estresse oxidativo e das atividades enzimáticas	27
6.4	Avaliação da injúria de <i>S. frugiperda</i> em plantas de milho em casa de vegetação 30	
7	DISCUSSÃO	32
8	CONCLUSÕES	39
9	REFERÊNCIAS	40
10	ANEXOS	51

1 INTRODUÇÃO

A lagarta-militar *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada a principal praga desfolhadora do milho no Brasil (CRUZ et al., 2008; LIMA JÚNIOR, 2012). Nos últimos anos, tem se tornado uma nova espécie invasora na África Ocidental e Central, onde os primeiros surtos foram registrados no início de 2016. Essa praga tem sido também relatada mais recentemente em países da Ásia (GOERGEN et al., 2016; SHYLESHA et al., 2018; JING et al., 2019; ZHANG et al., 2019). A presença de haplótipos distintos coletados em amostras de milho na Nigéria e São Tomé sugere a introdução dessa espécie no continente africano, ameaçando a segurança alimentar de milhões de pessoas. As perdas no rendimento da cultura nesses países variam de 8,3 a 20,6 toneladas por ano (GOERGEN et al., 2016; DAY et al., 2017), e assim, *S. frugiperda* tem se tornado uma praga que ameaça a segurança alimentar nesses países em desenvolvimento, necessitando de estratégias efetivas para seu controle.

O silício (Si) é um elemento que está presente naturalmente no solo na maior parte em formas não assimiláveis, e em menor parte encontrado na forma de ácido silícico (H_4SiO_4), o qual é facilmente absorvido pelas plantas (EPSTEIN, 1994). Embora não seja considerado um nutriente essencial para as plantas, quando o Si se encontra disponível na solução do solo nessa forma pode ser facilmente absorvido pelas raízes das plantas, desempenhando importante função no crescimento, nutrição, e resistência mecânica a doenças fúngicas, herbivoria por insetos e a condições químicas do meio (EPSTEIN, 1994; MA; YAMAJI, 2006; KVEDARAS et al., 2007; REYNOLDS et al., 2016). Devido aos efeitos negativos contra os insetos, a fertilização das plantas com Si pode ser considerada uma alternativa eficiente e viável em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (MARSCHENER, 1995; EPSTEIN, 1999).

Estudos já demonstraram que plantas fertilizadas com Si apresentaram aumento de resistência contra insetos mastigadores, incluindo lagartas de *S. frugiperda* (GOUSSAIN et al., 2002; KVEDARAS et al., 2009; NASCIMENTO et al., 2017) devido à silicificação (SiO_2) da parede celular vegetal, o que a torna endurecida e dificulta a alimentação dos insetos nas folhas (DATNOFF; SNYDER; KORNDORFER, 2001). Dessa forma, a aplicação de Si na cultura do milho pode aumentar a resistência da planta ao ataque da sua principal praga, *S. frugiperda* (SANTOS, 2011; OLIVEIRA et al., 2017). Além desse efeito, o Si pode atuar como elicitador dos processos de resistência induzida,

estimulando atividades de enzimas e metabólitos envolvidos nos processos de defesa de plantas (DIXON et al., 1994; FAWE et al., 2001; GOMES et al., 2005).

Os mecanismos de resistência das plantas atuam em resposta aos diversos tipos de estresses a que estão constantemente expostas, seja ele biótico ou abiótico (WALTERS; HEIL, 2007; BORGES et al., 2017). Os mecanismos de resistência podem ser classificados como constitutivos ou induzidos, podendo estar constantemente presentes na planta ou serem induzidos após uma condição de estresse, respectivamente (BORGES et al., 2017). A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), decorrente do estresse sofrido pelas plantas, por exemplo devido à herbivoria de insetos, ativa uma série de mecanismos de defesa, onde enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (APX) são de grande importância na manutenção do balanço das ERO. Já foi demonstrado que enzimas antioxidantes são mais ativadas em plantas fertilizadas com Si (YANG et al., 2017).

Entre os mecanismos de resistência induzida, o *priming* (= preparação, ativação) consiste na indução de memória imune ou estado de alerta nas plantas (BORGES et al., 2017). É um processo no qual há uma preparação ou ativação das respostas de defesa das plantas, permitindo que atuem de forma mais rápida e eficiente em casos de ameaças futuras (FROST et al., 2008). Após o primeiro sinal de estresse, a planta reconhece e armazena essa informação e se prepara caso seja submetida novamente às condições adversas (BORGES et al., 2017). Assim, as respostas induzidas de defesa, incluindo resistência induzida e de memória imune, condicionadas após um estímulo inicial representa um tipo de resposta imunológica, permitem que a planta utilize as informações armazenadas de estresse e que podem ocasionar alterações na codificação de genes, mantendo seus mecanismos de defesa ativados para combater ataques futuros (MAUCHMANI et al., 2017).

Outra estratégia de defesa das plantas além da resistência é a tolerância (STENBERG; MUOLA, 2017). A tolerância é definida como a capacidade da planta em suportar as injúrias causadas por um inseto, sem afetar significativamente seu crescimento e produção (PETERSON et al., 2017). Além disso, a tolerância não exerce efeito negativo sobre a biologia ou comportamento de alimentação ou oviposição dos insetos, e envolve a expressão de características da planta que conferem a capacidade de mitigar o impacto negativo causado pelas injúrias da praga (CHEN et al., 2015).

A aplicação de Si pode favorecer o crescimento e desenvolvimento das plantas (EPSTEIN, 1994). Plantas fertilizadas com Si apresentam maiores teores de clorofila, além de tornar as folhas mais endurecidas e eretas, favorecendo maior penetração de luz, e conseqüentemente maior taxa fotossintética da planta (MARSCHNER, 1995; NASCIMENTO et al., 2017). Além disso, o Si melhora a absorção de fósforo pela planta e aumenta a tolerância à toxidez por Al, Mn, Fe, dentre outros nutrientes (TISDALE et al., 1993).

Atualmente, há debates a respeito dos efeitos promovidos pelo Si quanto ao aumento de resistência das plantas, levando a questionamentos se os efeitos seriam de (i) indução de resistência, condição onde as plantas teriam maior nível de resistência com aplicação por si só de Si; ou se estariam relacionados à (ii) indução de memória imune (*priming*), onde respostas induzidas seriam ativadas em maiores níveis apenas após o ataque da praga em plantas fertilizadas com Si (WALTER; NEWTON; LYON, 2014; NASCIMENTO et al., 2017). Outra abordagem (iii) é se a aplicação de Si poderia induzir maior vigor e tolerância às plantas, resultando em maior crescimento vegetativo e conseqüentemente produção. Além disso, é hipotetizado que uma resposta mista envolvendo todos esses efeitos e de forma dependente entre si também possa ocorrer.

O milho é uma gramínea que apresenta alta capacidade de acumular o mineral Si (MARSCHNER, 1995; EPSTEIN, 1999). Alguns relatos demonstraram leves efeitos negativos da aplicação de Si no milho contra *S. frugiperda*, mas nenhum deles avaliou se os efeitos do Si interagem com a herbivoria de insetos em diferentes genótipos de milho, que apresentam variáveis níveis de diversidade genética por terem sido mais ou menos melhorados, como variedade crioula e híbrido. A caracterização e o conhecimento dos efeitos induzidos de resistência, memória imune e tolerância por Si poderá auxiliar no melhor posicionamento da aplicação do mineral em programas de MIP visando atenuar os danos causados por *S. frugiperda* na cultura do milho.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar os efeitos da aplicação de Si quanto à indução de resistência, de memória imune e de tolerância em um híbrido e em uma variedade crioula de milho à lagarta-militar *S. frugiperda*.

2.2 Objetivos específicos

a) Avaliar os efeitos da aplicação de Si na presença ou ausência de herbivoria em um híbrido e uma variedade crioula de milho no desempenho larval de *S. frugiperda*;

b) Avaliar os efeitos da aplicação de Si no crescimento de plantas de um híbrido e uma variedade crioula de milho na presença ou ausência de herbivoria;

c) Avaliar os efeitos da aplicação de Si na presença ou ausência de herbivoria no acúmulo foliar de Si, estresse oxidativo e metabolismo antioxidante de plantas de um híbrido e uma variedade crioula de milho.

3 HIPÓTESES

a) Os efeitos induzidos da aplicação de Si em plantas de milho sobre o desempenho larval de *S. frugiperda* são mais acentuados na presença de herbivoria e na variedade crioula;

b) Plantas de milho fertilizadas com Si apresentam maior vigor e tolerância a *S. frugiperda*, e os efeitos são maiores na variedade crioula;

c) Plantas de milho fertilizadas com Si apresentam maiores atividades das enzimas antioxidantes e menor estresse oxidativo, e os efeitos são mais acentuados na presença da herbivoria por *S. frugiperda* na variedade crioula.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Silício

O silício (Si) é um elemento que está presente naturalmente no solo na maior parte em formas não assimiláveis, e em menor parte encontrado na forma de ácido silícico (H_4SiO_4), o qual é facilmente absorvido pelas plantas. Após absorção, é translocado e depositado como sílica amorfa insolúvel ($SiO_2.nH_2O$) logo abaixo da cutícula, formando uma dupla camada silício-cutícula que confere resistência a diversos fatores abióticos e bióticos, como por exemplo ao ataque de insetos pragas (MA; YAMAJI, 2006).

Esse mineral não é considerado um nutriente essencial para as plantas; portanto, não está incluso nas formulações de nutrientes comumente utilizados. Porém, o Si quando disponível às plantas desempenha função no seu crescimento, nutrição mineral, e resistência mecânica a doenças fúngicas, herbivoria por insetos, e condições químicas do meio (EPSTEIN, 1994; KVEDARAS et al., 2007; REYNOLDS et al., 2016). Os solos brasileiros, que são caracterizados como altamente intemperizados, juntamente com o cultivo em sucessão de culturas, apresentam baixas concentrações de $Si(OH)_4$ na solução do solo. Assim, há necessidade de reposição desse mineral através de adubações para esses efeitos benéficos (LIMA FILHO; LIMA; TSAI, 1999).

O teor de Si nas plantas varia de aproximadamente 0,1% a 10% de massa seca, podendo ser encontrado nos grãos e também concentrado nos tecidos de sustentação da planta, como caule e folhas. A determinação da concentração de Si nas plantas as classifica em acumuladoras, intermediárias, e não acumuladoras de Si; essa classificação é feita a partir das análises da relação molar Si:Ca encontrada nos tecidos. Em razões acima de 1,0 as plantas são consideradas acumuladoras; entre 0,5 e 1,0, intermediárias; e menor que 0,5, não acumuladoras (MA; MIYAKEY; TAKAHASHI, 2001). Novos estudos estão sendo feitos para caracterizar as plantas como acumuladoras e não acumuladoras de Si com base nas características moleculares específicas; como por exemplo, a presença de canais de proteínas intrínsecas do subgrupo das aquaporinas, o que permite fazer uma associação direta entre a capacidade de uma planta absorver Si e a presença de aquaporinas (COSKUN et al., 2019).

A aplicação de Si pode ser considerada uma alternativa viável em programas de Manejo Integrado de Pragas, principalmente quando aplicados em gramíneas (Poaceae),

decorrente da alta capacidade que estas possuem em acumular o mineral (MARSCHENER, 1995; EPSTEIN, 1999). Pesquisas realizadas têm demonstrado que quando estas plantas são tratadas com Si, apresentam resistência a insetos mastigadores (GOUSSAIN et al., 2002; KVEDARAS et al., 2009; NASCIMENTO et al., 2017). A silicificação da epiderme torna a parede celular vegetal endurecida, dificultando a penetração do aparelho bucal dos insetos nas folhas, afetando sua alimentação (DATNOFF; SNYDER; KORNDORFER, 2001). A aplicação de Si na cultura do milho, por exemplo, pode aumentar a resistência das plantas ao ataque da sua principal praga, a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda* (SANTOS, 2011; OLIVEIRA et al., 2017).

O Si também pode atuar como um elicitor dos processos de resistência induzida, levando à indução de respostas de defesa na planta, as quais podem ser tanto de caráter morfológico quanto fisiológico (DIXON et al., 1994; FAWER et al., 2001; REYNOLDS et al., 2009; ALHOUSARI; GREGER, 2018). Além disso, a aplicação de Si pode estimular as atividades de enzimas relacionadas à defesa das plantas (DIXON et al., 1994), desencadeando aumentos significativos nas atividades das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase (GOMES et al., 2005; RAHMAN et al., 2015; REYNOLDS et al., 2016; ALHOUSARI; GREGER, 2018). O Si também é responsável pela indução da produção e acúmulo de metabólitos secundários, como flavonoides e outras fitoalexinas que atuam na defesa das plantas (FAWE et al., 1998).

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) decorrente do estresse biótico sofrido pelas plantas ativa uma série de mecanismos de defesa. Aumentos nas concentrações de malondialdeído (MAD) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), compostos utilizados como indicativos de estresse oxidativo, foram observados por Yang et al. (2017) em plantas de arroz submetidas à aplicação de Si e atacada por insetos. Durante esse processo, enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), e peroxidase (APX) são importantes na manutenção do balanço de ERO intracelular, sendo mais ativadas em plantas fertilizadas com Si (YANG et al., 2017). Dessa forma, verificou-se que o Si atua na remoção de espécies reativas de oxigênio através da maior expressão das atividades de enzimas antioxidantes (ALHOUSARI; GREGER, 2018).

O ácido silícico é encontrado em plantas atuando como ativador de enzimas que eliminam ERO como o H_2O_2 , incluindo as enzimas CAT e APX. A aplicação de Si aumenta as concentrações de H_2O_2 na planta, atuando como um sinal na regulação da ativação de genes que codificam enzimas e proteínas envolvidas na tolerância ao estresse oxidativo, seja ele biótico ou abiótico (KUŹNIAK; URBANEK, 2000). As ERO podem

causar danos oxidativos ao DNA, proteínas e alguns componentes da parede celular, como lipídios (APEL; HIRT, 2004; LOBO et al., 2010; TRIPATHI et al., 2017) Portanto, a eliminação das espécies reativas de oxigênio consiste em um mecanismo de grande importância para as plantas conseguirem lidar com situações de estresse (SHARMA et al., 2012; BAXTER et al., 2014; DAS; ROYCHOUDHURY, 2014). As ERO podem causar diversos danos irreversíveis à fotossíntese das plantas, pois interferem na fixação de CO₂ (FOYER; SHIGEOKA, 2010); porém, em baixas concentrações apresentam grande potencial como molécula sinalizadora de defesa. Por exemplo, o H₂O₂ em baixas concentrações atua como mensageiro na sinalização celular (MAFFEI et al., 2007).

Em trabalho realizado com aplicação de Si em milho, Alvarenga et al. (2017) não observaram diferenças significativas na sobrevivência de larvas de *S. frugiperda* alimentadas com plantas de milho fertilizadas com Si, nem notaram diferenças significativas na duração do período de pupa. Entretanto, em insetos adultos o número de ovos foi significativamente reduzido nas fêmeas oriundas de larvas que se alimentaram de plantas fertilizadas com Si. Nataren et al. (2017) observaram redução na desfolha causada por *S. frugiperda* de acordo com o aumento da dose de Si aplicado via solo em plantas de milho. Estudos realizados com outras gramíneas como o arroz e a aplicação de Si demonstram efeitos negativos do Si em alguns parâmetros biológicos de *S. frugiperda*. Entretanto, tais efeitos são observados somente na fase adulta do inseto, e nenhum efeito sobre a sobrevivência na fase larval (NASCIMENTO et al., 2017).

4.2 A cultura do milho

O milho, *Zea mays* (Linnaeus, 1753), é uma planta da família Poaceae, originada da América Central, especialmente do México. Passou a ser domesticada pelo homem há cerca de 9 mil anos, o que fez com que perdesse a capacidade de sobreviver por si só na natureza (PARTENIANI et al., 2000). É um dos cereais mais produzidos no Brasil devido a sua utilização como matéria-prima para a produção de ração animal (CALDARELLI et al., 2012).

O milho é caracterizado por ser uma planta robusta e ereta, medindo em média de 1 a 4 metros de altura (MAGALHÃES et al., 2002). Apresenta exigência de 600 mm de água durante todo o seu ciclo de desenvolvimento, e temperatura ideal entre 24 e 30°C (CRUZ et al., 2006). Todas as plantas de milho seguem um mesmo padrão de crescimento desde a emergência até a maturação fisiológica, porém, o intervalo de tempo entre os

estádios fenológicos podem variar entre diferentes genótipos, ano agrícola, data e local de plantio (MAGALHÃES et al., 2002).

A fenologia da planta de milho é dividida em estádios vegetativos (V) e reprodutivos (R). Os estádios vegetativos são subdivididos em V₁, V₂, V₃, até V_n, em que “n” representa a última folha emitida antes do pendoamento. O primeiro e o último estádios vegetativos são classificados como V_E e V_T, referindo-se à emergência e ao pendoamento da planta, respectivamente. Os estádios reprodutivos são designados de R₁ a R₆, que tem início com a polinização até o desenvolvimento dos grãos (MAGALHÃES et al., 2002).

O Brasil é considerado o terceiro maior produtor mundial de milho, alcançando aproximadamente 17,5 milhões de hectares plantados (CONAB, 2020). A produção de milho se encontra concentrada nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do país, e os maiores produtores são os estados do Mato Grosso, Paraná, Goiás, e Minas Gerais, responsáveis por cerca de 65% da produção nacional (CONAB, 2018). A cadeia produtiva do milho é uma das mais importantes para o agronegócio brasileiro; é considerada a segunda cultura de maior importância na produção de grãos, com produção estimada em 98,7 milhões de toneladas para a safra de 2019/2020 (CONAB, 2020), perdendo apenas para a soja (CALDARELLI et al., 2012; IMEA, 2015), o que demonstra o grande destaque dessa cultura ao Brasil (CALDARELLI et al., 2012).

Em algumas regiões do país, a semeadura do milho é realizada em épocas diferentes do ano visando à produção de grãos em duas safras; conseqüentemente, são conhecidos como milho de primeira safra e milho de segunda safra ou “milho safrinha”. A semeadura de primeira safra ocorre entre os meses de setembro e dezembro, e a colheita entre os meses de janeiro e maio nas principais regiões produtoras. A produtividade do milho nessa época do ano costuma ser maior devido às melhores condições climatológicas. O milho safrinha é mais produzido nas regiões Centro-Oeste e no estado do Paraná, sendo a semeadura entre os meses de janeiro a março, e a colheita de maio a agosto. O cultivo do milho safrinha representa cerca de 67% da produção nacional (IMEA, 2015; CONAB, 2018).

Existem diversas opções de populações de plantas que podem ser utilizadas para a extração de linhagens para a produção de híbridos. A mais viável é a utilização de híbridos simples comerciais, pois estes já foram testados em vários ambientes, associando dessa forma alta produtividade com algumas características já fixadas. Dessa forma, os híbridos simples comerciais constituem germoplasmas prioritários para a extração de

linhagens em um programa de melhoramento genético, visto que já foram extensivamente melhoradas, acumulando vários alelos desejáveis (AMORIM; SOUZA 2005).

As variedades de milho crioulo foram cultivadas por sucessivas gerações de agricultores familiares e povos indígenas, as quais foram submetidas à seleção de características importantes à produção em cada safra, além de apresentarem bom desempenho nas condições ambientais em que são cultivadas (FERREIRA et al., 2009; SILVEIRA et al., 2015). Nessas variedades há grande variabilidade genética para caracteres de adaptação a ambientes rústicos de cultivo, tais como deficiência hídrica, escassez de nutrientes, excesso de acidez e alcalinidade (COIMBRA et al., 2010; FERREIRA et al., 2015). As variedades crioulas de milho são menos produtivas que as variedades comerciais, embora apresentem ampla estrutura genética (ANDRADE; FILHO 2008). Portanto, essas populações de plantas são importantes fontes de variabilidade na busca de genes responsáveis pela tolerância ou resistência a fatores bióticos e abióticos, que podem ser utilizados no melhoramento (ARAÚJOS; NASS, 2002; SILVEIRA et al., 2015). No processo de seleção das cultivares em programas de melhoramento genético é realizada a avaliação de genótipos em diferentes ambientes, identificando quais são mais adaptados a condições ambientais específicas de cada ambiente (CRUZ et al., 2004; GARBUGLIO et al., 2007; MENDONÇA et al., 2007).

Alguns fatores abióticos podem afetar a produção do milho, como a temperatura, precipitação e radiação solar (IMEA, 2015). Além disso, outros fatores bióticos como o ataque de insetos pragas têm provocado danos à cultura, ocasionando perdas irreversíveis na produção final. Dentre elas, a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda* é responsável por causar perdas entre 20 a 40% da produção (GALLO et al., 2002; ALVES et al., 2009; EMBRAPA, 2016).

4.3 *Spodoptera frugiperda*

A lagarta-do-cartucho ou lagarta-militar *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é a principal praga desfolhadora da cultura do milho, causando perdas consideráveis à produção no Brasil (CRUZ et al., 2008; LIMA JÚNIOR et al., 2012). É uma espécie de hábito polífago, e nativa de regiões tropicais do continente americano (CARVALHO et al., 2013). *Spodoptera frugiperda* foi reconhecida como praga na cultura do milho em 1797 na Geórgia. O primeiro surto da praga ocorreu em 1899 nos Estados Unidos, causando danos severos em diversas culturas. No Brasil, o

primeiro relato de surto de *S. frugiperda* foi em 1964, ocasionando danos nas culturas do milho, arroz e pastagens (CRUZ, 1995).

Spodoptera frugiperda é uma espécie holometábola, ou seja, seu desenvolvimento apresenta as fases de ovo, larva, pupa e adulta (LUGINBILL, 1928). O adulto é uma mariposa que mede cerca de 35 mm de envergadura, com coloração pardo-escuro nas asas anteriores e branco-acinzentada nas asas posteriores (CRUZ et al., 1983). A emergência dos adultos geralmente ocorre durante a noite no outono, e pode ocorrer durante o dia na primavera. Os adultos possuem hábito noturno, e sua atividade começa ao pôr-do-sol e atinge o pico duas a quatro horas depois, quando as condições de temperatura são mais favoráveis. A longevidade dos adultos é em torno de 13 dias (CRUZ, 1995). Os adultos apresentam dimorfismo sexual; os machos possuem manchas mais claras nas asas anteriores, o que os diferencia das fêmeas, enquanto as asas posteriores de ambos os sexos são de coloração mais clara, circuladas por linhas marrons (CRUZ, 1995).

Os ovos são colocados em massas pelas fêmeas em qualquer local da planta. O número de posturas é variável, e pode chegar até 13 massas de ovos por fêmea, de modo que uma única fêmea pode depositar oito posturas em um dia (CRUZ, 1995). As massas de ovos podem conter cerca de 30 a 300 ovos (KING; SAUNDERS, 1984).

Ao eclodirem, as larvas inicialmente se alimentam do córion dos ovos, e em seguida permanecem em repouso por duas a 10 horas antes de saírem em busca de alimento. Posteriormente começam a se alimentar dos tecidos da planta, fazendo a raspagem das folhas, provocando o sintoma conhecido como “folha raspada”. Quando as lagartas estão desenvolvidas, conseguem fazer furos nas folhas, danificando-as completamente, resultando na destruição do cartucho (GALLO et al., 2002; CAMPANHA et al., 2012).

As lagartas completamente desenvolvidas medem cerca de 40 mm, com coloração variável de pardo-escuro a verde-preta, com um aparente “Y” invertido na cápsula cefálica, estrutura denominada sutura epicranial. A duração do período larval depende das condições de temperatura, podendo durar de 15 a 21 dias (CRUZ et al., 1983; SANTIAGO et al., 2008; SÁ et al., 2009). Durante a fase larval ocorrem seis ou sete ínstaros dependendo das condições (LABRADOR, 1967), sendo divididos em dois períodos: um período é ativo onde a lagarta se alimenta, e o outro em repouso, que ocorre próximo à ecdise (CRUZ, 1995).

Ao final do período larval, a lagarta desce ao solo onde inicia o período de pupa. Neste período a lagarta não se alimenta, e a fase pupal tem duração de 10 a 12 dias, nas

épocas mais quentes do ano. O ciclo de vida de *S. frugiperda* tem duração média de 30 dias durante o verão, e 50 dias no inverno (CRUZ et al., 1983; CRUZ, 1995).

A suscetibilidade das plantas de milho ao ataque da lagarta-do-cartucho é diferente em cada estágio de desenvolvimento, visto que o estágio da planta mais suscetível é quando apresenta de oito a 10 folhas, em torno de 40 dias após a semeadura (CRUZ; TURPIN, 1982). Quando o ataque de *S. frugiperda* ocorre em plantas no estágio inicial de desenvolvimento, pode ocorrer morte das mesmas, resultando na redução do estande. Em plantas maiores, as injúrias podem comprometer o desenvolvimento ao se alimentarem do parênquima das folhas do cartucho, além dos grãos da espiga (CRUZ; TURPIN, 1983; CRUZ et al., 1999; ROSA; BARCELOS, 2012). Estima-se que os rendimentos na produtividade do milho podem ser reduzidos em até 40% devido ao ataque da lagarta-do-cartucho (EMBRAPA, 2016).

Quando o ataque de *S. frugiperda* ocorre nas espigas, as injúrias são causadas na sua base, constituindo uma porta de entrada para microrganismos patogênicos como bactérias e fungos. Em casos mais severos podem provocar a queda da espiga (CRUZ, 1995). Injúrias maiores são provocadas por lagartas de quinto e sexto ínstar, que podem se alimentar do colmo, levando à quebra do mesmo (CRUZ, 1995).

O método de controle mais utilizado para *S. frugiperda* tem sido o químico. No entanto, seu uso frequente acarreta diversas consequências ao ambiente e aos inimigos naturais presentes na área, além de proporcionar o surgimento de indivíduos resistentes. Além disso, durante o estágio larval *S. frugiperda* apresenta o comportamento de se alimentar e manter protegida dentro do cartucho das plantas de milho, o que faz com que o método de controle através da utilização de inseticidas seja bastante limitado (WAQUIL et al., 2013).

Outro método de controle que tem sido bastante utilizado são as plantas transgênicas. Híbridos de milho Bt são plantas que foram modificadas geneticamente para expressar genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner), com o intuito de protegê-las contra a injúria de suas principais lagartas pragas (HUANG et al., 2010; FARIAS et al., 2015). As culturas Bt têm sido amplamente plantadas nos últimos anos devido aos benefícios que trazem para os produtores, como a redução no uso de inseticidas, e contribuição no aumento da produção de grãos (LI et al., 2018). Entretanto, a evolução da resistência em populações de *S. frugiperda* é uma das principais limitações para o uso contínuo de culturas Bt (FARIAS et al., 2015).

Nos últimos anos, *S. frugiperda* tem se tornado uma espécie invasora na África Ocidental e Central, onde os primeiros surtos foram registrados em 2016. A presença de haplótipos distintos coletados em amostras de milho na Nigéria e São Tomé sugere a introdução dessa espécie no continente africano, ameaçando a segurança alimentar de milhões de pessoas. As perdas no rendimento da cultura nesses países variam de 8,3 a 20,6 toneladas por ano (GOERGEN et al., 2016; DAY et al., 2017). Além disso, sua ocorrência também foi relatada pela primeira vez em 2018 no sul da Ásia (SHYLESHA et al., 2018)

A chegada de *S. frugiperda* na África fez com que diversos países aplicassem vários inseticidas diferentes nos campos de milho como medida de urgência à invasão da lagarta-do-cartucho (KUMELA et al., 2018) Entretanto, a maior parte dos pequenos agricultores não podem pagar pelas pulverizações com inseticidas. Além disso, a alta frequência de pulverizações pode levar à seleção de indivíduos resistentes às principais classes dos inseticidas utilizados, aumentando os riscos para a saúde humana devido à falta de precaução e segurança adotada no momento da aplicação, causando efeitos em organismos não alvo e riscos ao meio ambiente (DAY et al., 2017). Dessa forma, torna-se necessária a adoção de uma programa de Manejo Integrado de Pragas que seja adequada aos pequenos agricultores africanos (SISAY et al., 2018).

4.4 Memória imune, indução de resistência e tolerância

As plantas estão constantemente expostas a condições de estresse, devido a alterações ambientais ou através do contato com diversos insetos pragas e microrganismos patogênicos (WALTERS; HEIL, 2007). Para isso, as plantas desenvolveram diversos mecanismos de defesa, atuando como constitutivos ou induzidos. Os mecanismos de defesa constitutivos são aqueles que a planta produz constantemente, ou seja, não depende de um agente estressor para sua ativação. Em contrapartida, os mecanismos induzidos são decorrentes de algum tipo de estresse, de origem biótica ou abiótica, levando ao aumento na produção de compostos químicos voláteis e não voláteis que atuam nas defesas da planta (BORGES et al., 2017).

Priming (= preparação, ativação) é um processo que consiste na indução de memória imune ou estado de alerta em plantas expostas a um tipo de estresse (BORGES et al., 2017). É um processo de ativação das respostas de defesa das plantas para que atuem de forma mais rápida e mais eficiente em casos de ameaças futuras (FROST et al.,

2008). Sendo assim, a capacidade de defesa das plantas é potencializada com a indução de genes específicos (MAUCH-MANI et al., 2017). No presente trabalho, o termo *priming* foi utilizado como “indução de memória imune”, termo pouco semelhante à “indução de memória” utilizado por Borges et al. (2017).

Uma resposta de defesa efetiva depende da capacidade da planta em reconhecer o mais rápido possível a presença ou ataque de determinado inseto. Para que essas respostas de defesa sejam reconhecidas, é necessário que sejam iniciadas, por exemplo, após a alimentação de um inseto (MAFFEI et al., 2007). Dessa forma, após o primeiro sinal de estresse a planta armazena essa informação e se prepara caso seja submetida novamente às condições adversas (BORGES et al., 2017).

Os estímulos primários desencadeiam alterações diretas na planta, que são extremamente importantes para o aumento de resistência. A memória imune aos estímulos de estresse, ou que sinalizam estresse iminente, proporciona baixos custos metabólicos para a planta e melhor desempenho nas respostas induzidas de defesa caso seja atacada novamente. A própria presença desses organismos ou de moléculas produzidas por microrganismos associados podem atuar como estímulos primários, e tais moléculas podem ser de natureza peptídica, polissacarídica ou lipídica (BALMER et al., 2015; MARTINEZ-MEDINA et al., 2016; MAUCH-MANI et al., 2017).

Em relação à herbivoria, os estímulos podem ser de origem biológica ou mecânica. Os estímulos biológicos incluem secreções orais, microrganismos associados a insetos, padrões moleculares associados a insetos e sinais de oviposição; os estímulos mecânicos podem ser caracterizados pela ação de insetos locomovendo-se sobre os tricomas. Além disso, os compostos voláteis emitidos por plantas e induzidos por herbivoria têm sido descritos como elicitores de memória imune (*priming*), devido ao fato de serem utilizados na sinalização para as plantas vizinhas decorrente do ataque de insetos herbívoros (FROST et al., 2008; MAUCH-MANI et al., 2017; ERB, 2018).

As mudanças que ocorrem na planta após o contato com um estímulo inicial podem ser em nível molecular, fisiológico ou epigenético, e mantido durante sua vida útil ou transmitidas para gerações seguintes. Dessa forma, as respostas da resistência induzida após um estímulo inicial representa um tipo de resposta imunológica das plantas, permitindo-as que armazenem informações de situações de estresse, que a longo prazo podem alterar a codificação de genes, permitindo assim manter seus mecanismos de defesa preparados para ataques futuros (BRUCE et al., 2007; HILKER et al., 2016; BORGES et al., 2017).

A resistência induzida pode ocorrer através de mecanismos específicos, como a utilização de receptores de reconhecimento de padrões (*pattern recognition receptor*, PRR) que são capazes de reconhecer moléculas derivadas de patógenos, denominadas de padrões moleculares associados a patógenos (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs), padrões moleculares associados a injúrias (*damage-associated molecular pattern*, DAMPs) e padrões moleculares associados ao herbívoro (*herbivore-associated molecular pattern*, HAMPs). (BOLLER; FELIX, 2009; THOMMA et al., 2011). A indução de resistência em plantas pode ser considerada uma forma viável para o controle de insetos-praga, visto que as plantas podem possuir características que as tornam mais resistentes que outras plantas a determinados insetos, podendo ser utilizada separadamente, ou em conjunto com outras táticas de controle do Manejo Integrado de Pragas (SANTOS, 2011).

As plantas possuem diferentes mecanismos constitutivos e induzidos de defesa a insetos, os quais são manifestados como resistência e tolerância. A resistência pode ser dividida em antibiose e antixenose (STENBERG; MUOLA, 2017). A antibiose tem um efeito direto sobre a biologia do inseto, como por exemplo, na sobrevivência, taxa de fertilidade e tempo de desenvolvimento. A antixenose se caracteriza pela não preferência do herbívoro a uma determinada planta hospedeira para alimentação, oviposição ou abrigo. Por outro lado, a tolerância é uma estratégia de defesa na qual a planta é capaz de suportar as injúrias causadas pela praga, sem sofrer redução considerável no desenvolvimento e produção, além de não exercer efeitos negativos sobre o inseto (PETERSON et al., 2017).

A indução de resistência (antixenose e antibiose) envolve a ativação de mecanismos de defesa existentes na planta, mas que se encontram latentes. Portanto, não é controlada por um gene específico (WALTERS; HEIL, 2007; CARVALHO, 2012). Assim, logo após serem atacadas por insetos, as plantas suscetíveis podem promover maior resistência para que consigam se defender melhor (WALTERS; HEIL, 2007). Compostos secundários como alcaloides, benzoxazinoides, glucosinolatos e terpenoides são compostos produzidos pelas plantas constitutivamente ou induzidos por herbivoria e que são tóxicos aos insetos (MITCHELL et al., 2016).

Para que a resistência seja induzida as plantas precisam ser primeiramente atacadas, permitindo que o organismo infestante se desenvolva, pois a expressão de genes de resistência tem um custo de produção para a planta, podendo acarretar perdas no seu crescimento e reprodução. Embora a resistência induzida gere custos energéticos à planta,

estes podem ser compensados quando são submetidas a condições de herbivoria (WALTERS; HEIL, 2007).

A tolerância é uma estratégia de defesa das plantas que não proporciona efeitos sobre o comportamento e biologia dos insetos, reduzindo a pressão de seleção e, conseqüentemente o surgimento de indivíduos resistentes. Por outro lado, os mecanismos de resistência, por antixenose e antibiose, impõem condições de pressão de seleção, de modo que também podem ser superados pelos insetos (MITCHELL et al., 2016). Dessa forma, a tolerância envolve a expressão de algumas características das plantas que conferem a capacidade de mitigar o impacto negativo causado pela praga na produtividade e rendimento da cultura (CHEN et al., 2015).

Tais características de tolerância são aquelas que apresentam influência sobre a fotossíntese e processos fisiológicos da planta, como crescimento, fenologia e uso dos nutrientes armazenados (STRAUSS; AGRAWAL, 1999; STOWE et al., 2000; TIFFIN, 2000). Outros mecanismos fisiológicos que auxiliam as plantas a suportarem melhor a herbivoria são o aumento na taxa fotossintética após injúria e detoxificação para mitigar os efeitos da herbivoria (KOCH et al., 2016). Essas características podem ser menos expressas em plantas domesticadas e melhoradas devido à seleção de outras características agronomicamente desejáveis (CHEN et al., 2015). Assim, é de grande interesse buscar genes que apresentem tal plasticidade em genótipos silvestres ou que não foram melhorados para características produtivas, tais como variedades crioulas, que apresentam grande variabilidade genética e potenciais fontes de genes de resistência a estresses bióticos e abióticos (ARAÚJO; NASS, 2002; COIMBRA et al., 2010).

Sob a perspectiva biológica-evolutiva, a imunidade inata das plantas é um mecanismo importante para a adaptação ao ambiente. Diversos compostos metabólicos são produzidos pelo sistema imune da planta com o intuito de se adaptar a um ambiente que causa algum tipo de estresse. Neste contexto, hormese é um fenômeno no qual um agente estressor estimula uma resposta de estresse em nível celular que auxilia o organismo no estabelecimento de repostas adaptativas. Os elicitores são fatores que desencadeiam as respostas de defesa da planta na forma de dose-resposta, onde baixas doses induzem uma condição de estresse e efeitos estimulatórios e em altas doses produz um efeito tóxico (MANDAL et al., 2013; GARCIA-MIER et al., 2015; ZUNUN-PÉREZ et al., 2017). Esse comportamento se assemelha ao efeito hormético que ocorre com fatores químicos e físicos (HOOPER et al., 2010; TIERRANEGRA-GARCÍA et al., 2011; MEJÍA TENIENTE et al., 2013; BAENAS et al., 2014; CALABRESE, 2014a; LIU et al., 2016).

Alguns autores propuseram que baixas concentrações de metais tóxicos induzem efeitos horméticos através da ativação dos mecanismos de defesa das plantas. Dentre eles, a ativação de enzimas antioxidantes decorrente da produção de ERO, hormônios sinalizadores do estresse ou respostas adaptativas ao crescimento são as vias mais prováveis para as respostas horméticas (POSCHENRIEDER et al., 2013). Tais efeitos podem atuar de forma conjunta no processo de homeostase celular; as alterações sofridas nas células decorrente de doses baixas de uma condição de estresse refletem no fenótipo alterado pelo ambiente, levando a um potencial quantitativo de plasticidade (CALABRESE; MATTSON, 2011; CALABRESE, 2014a). Portanto, há a possibilidade de os efeitos da aplicação de elicitores de resistência, como o Si, causarem nas plantas respostas de resistência e tolerância induzidas dependentes entre si, com amplitudes de respostas variáveis dependendo de fatores como intensidade da herbivoria, idade e estágio fenológico da planta, modo de aplicação, disponibilidade de água, nutrientes, radiação solar, entre outros.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação e laboratório, no Laboratório de Resistência de Plantas e Manejo Integrado de Pragas (LARP-MIP), Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais, Brasil. Em laboratório os ensaios foram conduzidos sob condições ambientais controladas (26 ± 2 °C; $70 \pm 10\%$ UR; 12C:12E h) e em casa de vegetação em condições de temperatura controlada (25 ± 2 °C) e luminosidade ambiente.

5.2 Criação de *Spodoptera frugiperda*

As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas no experimento foram obtidas de uma colônia de criação estabelecida no laboratório, onde foram alimentadas com dieta artificial e os adultos com solução de mel a 10%, de acordo com a metodologia de Greene, Leppa e Dickerson (1976). Os insetos foram mantidos em sala climatizada (28 ± 2 °C; $70 \pm 10\%$ UR; 12C: 12E h). Para o estabelecimento da colônia, lagartas foram coletadas do campo em uma área experimental da UFLA cultivada com milho.

5.3 Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi montado em esquema fatorial 2 x 2 x 2 (com ou sem Si x com ou sem herbivoria x híbrido ou variedade crioula), em delineamento inteiramente casualizado, formando oito tratamentos, sendo preparadas 20 plantas para cada tratamento. As combinações dos fatores avaliados constituíram os seguintes tratamentos: T1) variedade crioula, com Si, com herbivoria; T2) variedade crioula, com Si, sem herbivoria; T3) variedade crioula, sem Si, com herbivoria; T4) variedade crioula, sem Si, sem herbivoria; T5) híbrido, com Si, com herbivoria; T6) híbrido, com Si, sem herbivoria; T7) híbrido, sem Si, com herbivoria; T8) híbrido, sem Si, sem herbivoria.

5.4 Montagem e condução do experimento

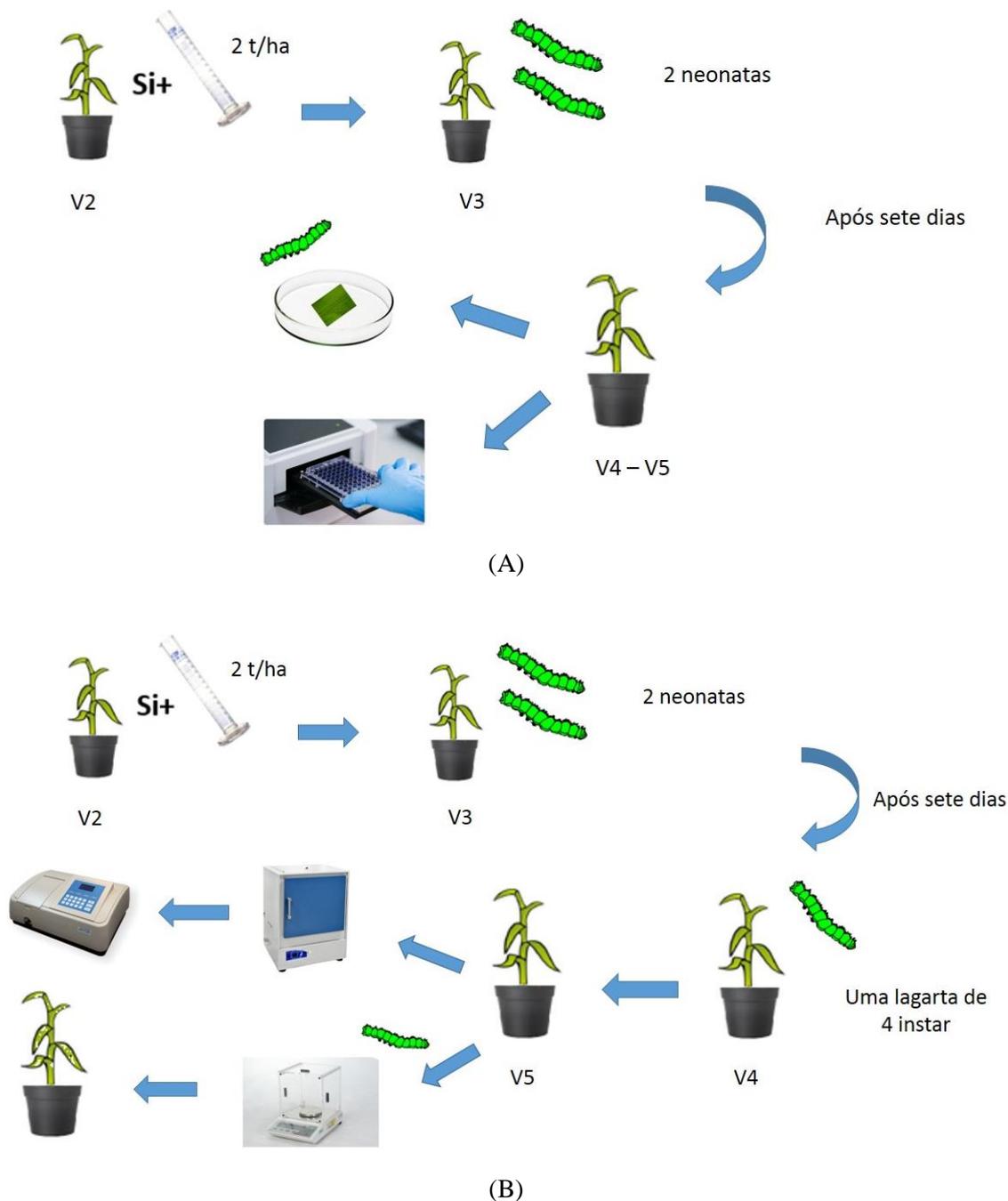
A semeadura do milho foi realizada em vasos de 3 L preenchidos com uma mistura de solo (latossolo vermelho escuro), esterco bovino e substrato tropstrato (4:1:1). Foi feita a análise de solo e a partir dela os cálculos de adubação seguindo as recomendações da 5^a

aproximação. Dessa forma, o solo foi adubado com 180 g de calcário dolomítico e 732 g de NPK (8-28-16) que foram incorporados no preparo do solo. Para os micronutrientes, preparou-se uma solução com 1,95 g de sulfato de magnésio, 0,65 g de cloreto de potássio, 1,77 g de ureia, 0,012 g de ácido bórico, 0,017g de sulfato de zinco e 1,5 g do adubo MAP, que foi aplicada 30 mL por vaso, logo após o plantio. A cada 15 dias as plantas foram fertilizadas com 30 mL da solução nutritiva de Hoagland e Arnon. Foram semeadas duas sementes de milho por vaso, e após 10 dias da foi feito o desbaste, deixando-se uma planta por vaso. A irrigação das plantas foi feita sempre que necessário. As sementes utilizadas no plantio foram da variedade crioula Amarelão e do híbrido convencional SHS 4070.

A dose de Si (solução de ácido silícico a 1%) (Vetec química fina, Duque de Caxias, Brasil) utilizada foi proporcional a 2 t ha⁻¹ (ALVARENGA et al., 2017), equivalente a 2,76 g de Si diluída em 276 mL de água, que foram aplicadas em cada vaso nos tratamentos que receberam aplicação de Si. A aplicação foi feita no vaso ao redor das plantas em estágio V2 (MAGALHÃES et al., 2002), simulando uma aplicação via *drench*.

Quando as plantas estavam em V3, duas lagartas neonatas de *S. frugiperda* foram infestadas no interior do cartucho das plantas com o auxílio de um pincel fino nos tratamentos atribuídos à herbivoria. Após 5-7 dias, as plantas em V4 de cada tratamento foram reinfestadas com uma lagarta de 4º ínstar de *S. frugiperda*. Posteriormente, as plantas em V5 foram divididas em quatro grupos para avaliação dos seguintes parâmetros: (i) efeitos induzidos no desempenho larval de *S. frugiperda*; (ii) massa seca da parte aérea e do sistema radicular, altura, índice relativo de clorofila e teor de Si foliar das plantas; (iii) atividade das enzimas SOD, CAT e APX, e concentrações de H₂O₂ e MDA; e (iv) avaliação da injúria larval nas plantas por meio de escala de notas. Essas etapas serão descritas detalhadamente a seguir (FIGURA 1).

Figura 1 - Esquema geral das etapas descritas nesta metodologia.



Fonte: Do autor (2020).

5.5 Avaliação do desempenho larval de *Spodoptera frugiperda* em laboratório

Para avaliar o desempenho larval de *S. frugiperda*, as duas folhas mais novas das plantas dos tratamentos foram destacadas da banha e levadas ao laboratório onde foram preparadas seções foliares (5 x 3 cm) com o auxílio de uma tesoura. Foram preparadas duas seções foliares de cada lado da nervura central de cada uma das folhas de milho, sendo uma seção foliar transferida para placas de Petri (5 cm de diâmetro) onde foram

realizados os bioensaios, e a seção foliar complementar foi utilizada como alíquota. Em cada placa foi confinada uma lagarta neonata (< 24h de idade), que permaneceu por cinco dias se alimentando das folhas. As placas foram forradas com papel toalha e umedecidas com água destilada; estas foram mantidas em sala climatizada com temperatura controlada a 25 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12C:12E h. Para cada tratamento foram utilizadas como repetições cinco plantas, as quais foram constituídas por quatro placas com seções foliares da mesma planta e contendo uma lagarta por placa.

Após cinco dias de montagem do bioensaio, foram avaliados a biomassa e o consumo foliar das lagartas. Para isso, as lagartas foram inspecionadas se estavam vivas ou mortas, e no caso das vivas foram retiradas das placas onde esperou-se um tempo (~ 3h) para limpeza do trato intestinal, e em seguida foram levadas à estufa onde foram secas a 60°C por 48 h, e posteriormente pesadas com o auxílio de uma balança analítica de precisão (AG200, GEHAKA, São Paulo, Brasil). Para a determinação do consumo foliar, o remanescente das seções foliares e as respectivas alíquotas foram secas em estufa a 60°C por 48 h (TE-394/2, TECNAL, Piracicaba, Brasil), e em seguida pesadas em balança analítica de precisão.

5.6 Avaliação do crescimento das plantas e concentração foliar de Si

Para a análise dos parâmetros de crescimento das plantas de milho foram utilizadas como repetições cinco plantas para cada tratamento, e para as análises de concentração foliar de Si, três plantas para cada tratamento. A altura das plantas foi avaliada antes e depois da infestação das lagartas, ou seja, quando as plantas estavam nos estádios V3 e V4, respectivamente. A altura das plantas foi avaliada com auxílio de uma régua, desde o colo da planta até a inserção da última folha na bainha das plantas. O teor relativo de clorofila foi avaliado por meio de um medidor portátil de clorofila SPAD-502 (Konica Minolta Sensing, Inc, TECNAL, Piracicaba, Brasil); realizou-se uma leitura em cada uma das duas folhas mais novas das plantas, e foi utilizada a média das duas leituras para a análise estatística.

Para a determinação da massa seca da parte aérea e do sistema radicular, as plantas de milho em estágio V4 foram retiradas cuidadosamente do vaso com o solo bem úmido, e cortadas na região do colo, de modo que ficaram separadas em parte aérea e raiz. Cada parte da planta foi embalada em saco de papel e secas em estufa de circulação forçada a 60°C por 72 h, e em seguida pesadas com auxílio de uma balança. Posteriormente, as

frações das plantas foram moídas até atingir um pó fino em um liquidificador, acondicionadas em sacos de papel, e enviadas para determinação dos teores de Si no Departamento de Solos da UFLA. A análise foliar de Si foi realizada de acordo com a metodologia de Korndörfer et al. (2004).

5.7 Avaliação do estresse oxidativo e atividades enzimáticas

As análises das atividades das enzimas SOD, CAT e APX foram realizadas a fim de verificar o efeito antioxidante da aplicação do Si na presença e ausência de herbivoria por *S. frugiperda* nas plantas de milho da variedade crioula e híbrido. Além das enzimas, também foram avaliadas as concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malondialdeído (MAD) como indicativos de estresse oxidativo nas plantas. Foram utilizadas cinco plantas de cada tratamento como repetições, e para as análises químicas foram utilizadas as duas folhas mais novas das plantas.

As folhas foram removidas cuidadosamente pela bainha, e, logo em seguida, armazenadas em envelopes de papel alumínio envolvidos por saco plástico, e colocadas no interior de uma caixa de isopor com nitrogênio líquido. As amostras foram levadas ao Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da UFLA, onde foram armazenadas em freezer $-80^{\circ}C$ até serem analisadas.

O método de extração para as análises das enzimas SOD, CAT, e APX foi feito com base no protocolo de Biemelt et al. (1998). Para as análises enzimáticas, a atividade da SOD foi avaliada conforme metodologia descrita por Giannopolitis e Ries (1977); a atividade da CAT foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Havir e Mchale (1987); e a atividade da APX foi determinada segundo o protocolo de Nakano e Asada (1981). O teor de H_2O_2 foi quantificado de acordo com a metodologia proposta por Velikova et al. (2000), e a avaliação do nível de peroxidação de lipídios foi medida em termos de concentração de malondialdeído (MDA), usando a reação do ácido tiobarbitúrico (BUEGE; AUST, 1978). As análises de H_2O_2 e MDA foram realizadas em duplicatas e as análises enzimáticas foram feitas em triplicatas.

5.8 Avaliação da injúria de *S. frugiperda* nas plantas de milho em casa de vegetação

Para determinar a injúria de *S. frugiperda*, plantas em V4 foram reinfestadas com uma lagarta de 4^o ínstar; essas lagartas foram pesadas antes da infestação e permaneceram se alimentando nas plantas por sete dias. Após sete dias, as plantas foram analisadas

visualmente quanto às injúrias sofridas, recebendo uma nota de 1 a 9 de acordo com a escala de injúria de Davis (DAVIS, 1992). Em seguida, as plantas foram cuidadosamente inspecionadas e as lagartas removidas das plantas, colocadas em uma placa de Petri e levadas ao laboratório, onde foram pesadas com o auxílio de uma balança analítica de precisão.

5.9 Análise estatística

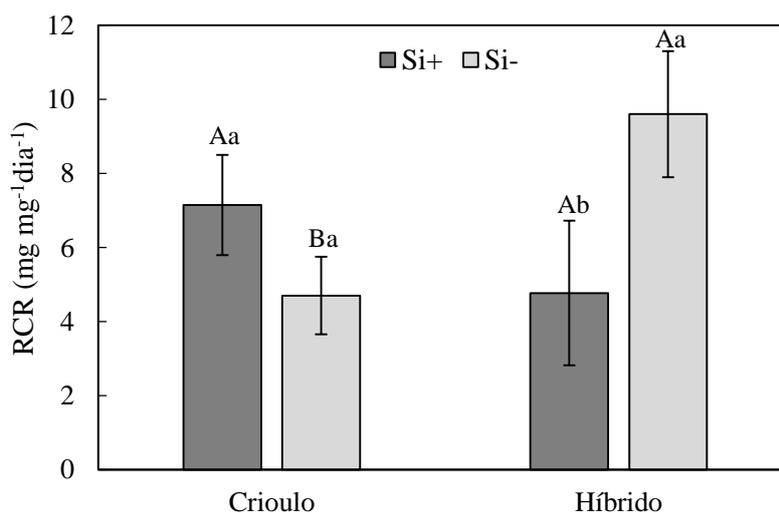
Os dados obtidos foram submetidos à análise exploratória quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, e em seguida foram submetidos à análise de variância fatorial (*three-way* ANOVA) para verificar os efeitos principais da aplicação de Si, herbivoria e genótipo de milho, e todas as interações. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). As análises foram realizadas no software R (R Development Core Team, 2014).

6 RESULTADOS

6.1 Avaliação do desempenho larval de *Spodoptera frugiperda* em laboratório

No bioensaio de laboratório, não houve efeitos significativos para a biomassa das lagartas de *S. frugiperda* ($P > 0,05$). Para o índice de consumo relativo (RCR) das lagartas, houve diferença significativa na interação genótipo de milho x Si ($F_{1, 32} = 5,88$; $P = 0,0212$). O consumo relativo das lagartas foi maior no híbrido quando não houve aplicação de Si (FIGURA 2); quando o mineral foi aplicado, não houve diferença no RCR entre os genótipos de milho. A eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) não diferiu significativamente para os efeitos analisados ($P > 0,05$).

Figura 2 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si no índice de consumo relativo (RCR) de lagartas de *Spodoptera frugiperda*.



Legenda: Colunas com diferentes letras maiúsculas entre os genótipos e minúsculas dentro do genótipo denotam diferença significativa ($P < 0,05$).

Fonte: Do autor (2020).

6.2 Avaliação do crescimento das plantas e concentração foliar de Si

A massa seca da raiz apresentou interação significativa para genótipo de milho x Si x herbivoria ($F_{1, 32} = 4,27$; $P = 0,0469$). A maior massa da raiz foi observada na variedade crioula com aplicação de Si e sem herbivoria, diferindo significativamente quando este genótipo esteve na condição com Si e com herbivoria (TABELA 1). No híbrido, a massa seca da raiz foi ligeiramente maior quando não houve aplicação de Si e sem herbivoria em comparação à condição sem Si e com herbivoria.

Tabela 1 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na massa (g) seca da raiz.

Genótipo	Herbivoria +		Herbivoria -	
	Si +	Si -	Si +	Si -
Crioulo	3,46 ± 0,15 Aa	3,65 ± 0,26 Aa	6,57 ± 0,10 Aa*	3,26 ± 0,39 Ab
Híbrido	4,06 ± 0,58 Aa	4,39 ± 0,54 Aa	4,69 ± 0,64 Ba	4,71 ± 0,33 Aa*

Legenda: Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). * indica diferença significativa entre eventos de herbivoria.

Fonte: Do autor (2020).

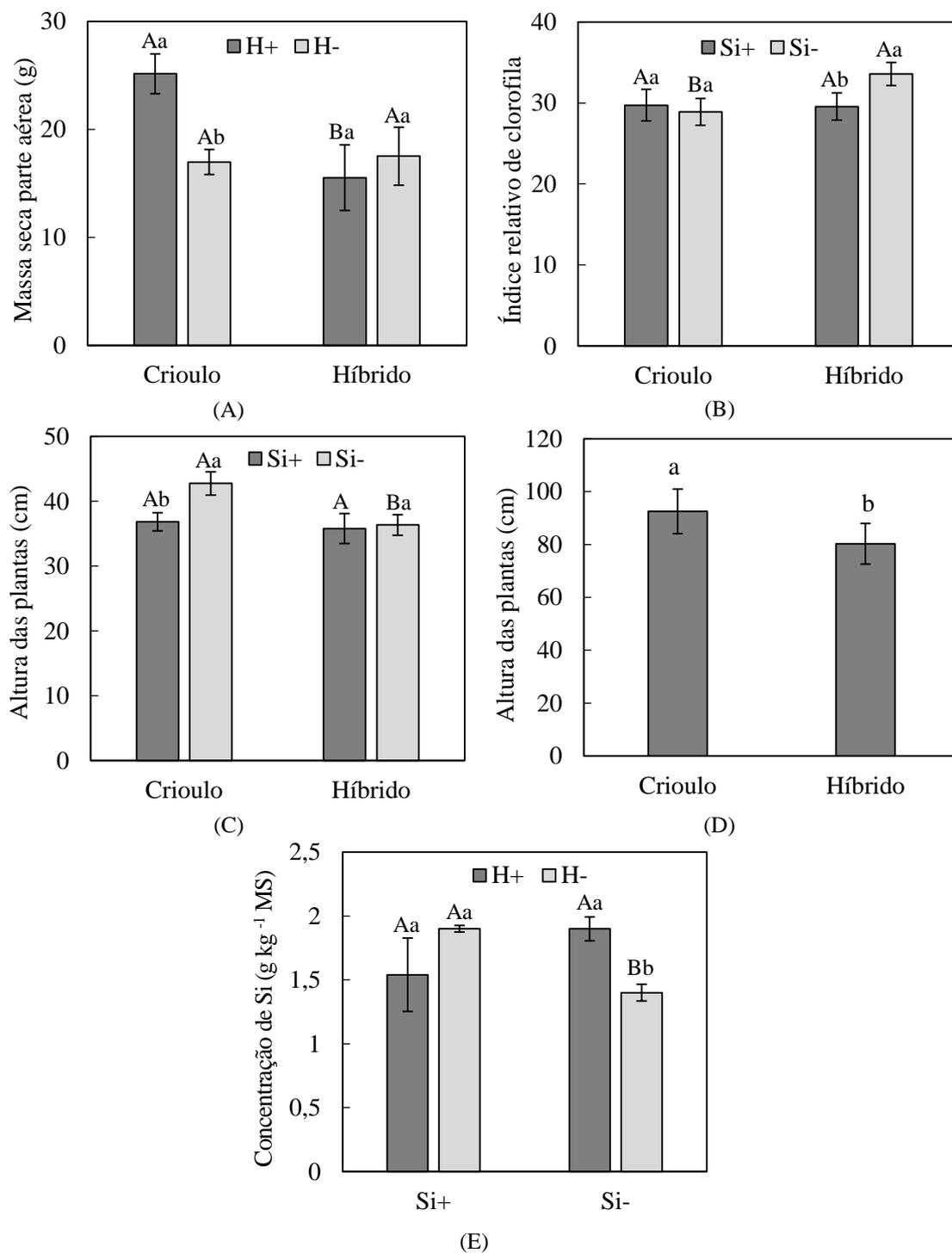
Para a massa seca da parte aérea das plantas, houve efeito significativo da interação genótipo de milho x herbivoria ($F_{1,32} = 10,26$; $P = 0,0031$); plantas da variedade crioula exibiram maior massa seca da parte aérea do que o híbrido apenas quando as plantas foram infestadas pelas lagartas (FIGURA 3A).

No índice relativo de clorofila antes da infestação de *S. frugiperda* foi observada diferença significativa para a interação dos efeitos de genótipo de milho x Si ($F_{1,32} = 5,73$; $P = 0,0227$). O índice de clorofila foi maior no híbrido sem aplicação de Si em relação ao tratamento fertilizado; esses efeitos não foram observados na variedade crioula (FIGURA 3B). O índice de clorofila medido depois da infestação não apresentou diferenças significativas ($P > 0,05$) para as interações dos efeitos analisados (dados não apresentados).

A altura das plantas de milho antes da infestação apresentou diferença significativa para a interação dos efeitos de genótipo de milho x Si ($F_{1,32} = 3,07$; $P = 0,0313$). A altura das plantas antes da infestação foi maior na variedade crioula apenas na condição sem Si (FIGURA 3C) em comparação ao híbrido.

A maior altura de plantas depois da herbivoria também foi observada no genótipo crioulo depois da infestação das lagartas (FIGURA 3D; $F_{1,32} = 8,38$; $P = 0,0068$). Esse efeito já era esperado, visto que geneticamente as variedades crioulas apresentam características agrônômicas diferentes das do híbrido de milho.

Figura 3 - (A) Efeitos da interação genótipo de milho x herbivoria por *S. frugiperda* na massa seca da parte aérea das plantas; (B) Efeitos da interação genótipo de milho x Si no índice relativo de clorofila antes da infestação; (C) Efeitos da interação genótipo de milho x Si na altura de plantas antes da infestação; (D) Efeitos do genótipo de milho na altura de plantas depois da infestação; (E) Efeitos da interação Si x herbivoria na concentração de Si na parte aérea das plantas.



Legenda: Colunas com diferentes letras maiúsculas entre os genótipos e minúsculas dentro do genótipo denotam diferença significativa ($P < 0,05$).

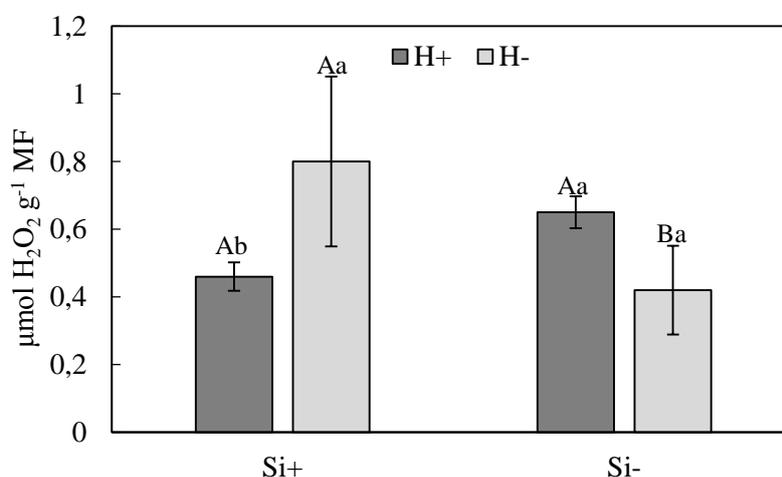
Fonte: Do autor (2020).

O teor de Si que foi absorvido pelas raízes e acumulado na parte aérea das plantas de milho não diferiu entre plantas infestadas e não infestadas com aplicação de Si (FIGURA 3E; $F_{1,32} = 7,45$; $P = 0,0149$). Entretanto, quando as plantas não foram fertilizadas com Si, o maior teor do mineral nas folhas foi quando ocorreu herbivoria. Na ausência de herbivoria por *S. frugiperda*, plantas de milho acumularam maior teor de Si quando foram suplementadas com o mineral.

6.3 Avaliação do estresse oxidativo e das atividades enzimáticas

A concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi maior quando houve aplicação de Si na ausência de herbivoria (FIGURA 4 **Erro! Fonte de referência não encontrada.**; $F_{1,32} = 9,99$; $P = 0,0034$). Quando não houve aplicação de Si, no entanto, as concentrações de H_2O_2 foram similares entre as condições com e sem herbivoria, embora tenha havido certa variação nos dados, provavelmente pelas intensidades de injúria realizadas pelas lagartas, com certa tendência de ser maior nas plantas infestadas. Isso demonstra que a aplicação de Si por si só é reconhecida pela planta como uma condição de estresse, resultando em aumento na concentração de H_2O_2 .

Figura 4 - Efeitos da interação Si x herbivoria na concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2).



Legenda: Colunas com diferentes letras maiúsculas entre os genótipos e minúsculas dentro do genótipo denotam diferença significativa ($P < 0,05$).

Fonte: Do autor (2020).

Houve diferença significativa da interação genótipo de milho x Si x herbivoria ($F_{1,32} = 4,68$; $P = 0,0380$) na peroxidação lipídica avaliada pelo teor de malondialdeído (MDA). As maiores concentrações de MDA foram observadas no híbrido sem aplicação de Si e na ausência de herbivoria (TABELA 2). Para os eventos de herbivoria, estes foram

estatisticamente diferentes no híbrido em ambas condições com e sem Si; o efeito foi maior quando não houve aplicação de Si na ausência de herbivoria e com aplicação de Si e com herbivoria.

Tabela 2 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na peroxidação lipídica ($\eta\text{mol MDA mg MF}^{-1}$).

Genótipo	Herbivoria +		Herbivoria -	
	Si +	Si -	Si +	Si -
Crioulo	132,69 \pm 27,53 Aa	55,00 \pm 50,84 Aa	100,77 \pm 67,44 Aa	69,61 \pm 27,77 Ba
Híbrido	262,31 \pm 36,38 Aa*	159,61 \pm 35,14 Aa	72,31 \pm 45,40 Ab	391,92 \pm 129,86 Aa*

Legenda: Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). * indica diferença significativa entre eventos de herbivoria.

Fonte: Do autor (2020).

Na variedade crioula, a atividade da APX foi maior na condição com Si e sem herbivoria (TABELA 3; $F_{1,32} = 6,36$; $P = 0,0169$). Isso se assemelha ao que aconteceu anteriormente, onde a aplicação de Si por si só aumentou as concentrações de H_2O_2 (FIGURA 4). A atividade enzimática da APX foi maior no híbrido quando não houve aplicação de Si e sem herbivoria (TABELA 3).

Tabela 3 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na atividade enzimática da APX ($\mu\text{M AsA min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{MF}$).

Genótipo	Herbivoria +		Herbivoria -	
	Si +	Si -	Si +	Si -
Crioulo	4,48 \pm 0,76 Aa	4,20 \pm 0,89 Aa	6,65 \pm 1,27 Aa	1,65 \pm 0,48 Bb
Híbrido	4,29 \pm 0,63 Aa	3,68 \pm 0,56 Aa	4,77 \pm 0,57 Aa	5,76 \pm 1,42 Aa

Legenda: Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Fonte: Do autor (2020).

A atividade enzimática da CAT foi maior no híbrido quando não houve aplicação de Si e na ausência de herbivoria (TABELA 4; $F_{1,32} = 11,03$; $P = 0,0022$). Na presença de herbivoria, a atividade da CAT no híbrido foi maior com aplicação de Si. Na variedade crioula, maior atividade da CAT ocorreu quando não houve aplicação de Si na presença de herbivoria ou quando houve aplicação de Si na ausência de herbivoria. Neste genótipo, ambos os efeitos de herbivoria e aplicação de Si sinalizam para a planta uma condição de estresse, aumentando a atividade enzimática da CAT.

Tabela 4 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na atividade enzimática da CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ MF}$).

Genótipo	Herbivoria +		Herbivoria -	
	Si +	Si -	Si +	Si -
Crioulo	$0,54 \pm 0,05$ Bb	$1,22 \pm 0,42$ Aa	$1,00 \pm 0,07$ Aa	$0,76 \pm 0,18$ Ba
Híbrido	$1,29 \pm 0,16$ Aa	$1,07 \pm 0,12$ Aa	$1,36 \pm 0,16$ Ab	$2,00 \pm 0,09$ Aa*

Legenda: Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). * indica diferença significativa entre eventos de herbivoria.

Fonte: Do autor (2020).

A atividade da SOD foi maior na variedade crioula sem aplicação de Si e com herbivoria (TABELA 5; $F_{1,32} = 5,14$; $P = 0,0303$). A atividade enzimática também foi maior na variedade crioula quando as plantas foram fertilizadas com Si na ausência de herbivoria.

Tabela 5 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria na atividade enzimática da SOD ($U\ SOD\ min^{-1}\ mg^{-1}\ MF$).

Genótipo	Herbivoria +		Herbivoria -	
	Si +	Si -	Si +	Si -
Crioulo	$0,26 \pm 0,00\ Ab$	$0,29 \pm 0,00\ Aa$	$0,29 \pm 0,00\ Aa^*$	$0,28 \pm 0,00\ Aa$
Híbrido	$0,28 \pm 0,00\ Aa$	$0,27 \pm 0,00\ Ba$	$0,28 \pm 0,00\ Aa$	$0,27 \pm 0,00\ Aa$

Legenda: Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). * indica diferença significativa entre eventos de herbivoria.

Fonte: Do autor (2020).

6.4 Avaliação da injúria de *S. frugiperda* em plantas de milho em casa de vegetação

Houve efeito significativo da interação genótipo de milho x Si x herbivoria no ganho de peso larval de *S. frugiperda* infestada nas plantas em casa de vegetação (TABELA 6; $F_{1,32} = 26,71$; $P = 0,0001$). O ganho de peso larval foi menor nas plantas da variedade crioula tratadas com Si e submetidas à herbivoria. Na ausência de herbivoria, maior ganho de peso larval ocorreu no híbrido sem aplicação de Si. Quanto ao efeito da herbivoria, este foi diferente nas duas condições de Si; os pesos das lagartas foram maiores no híbrido com aplicação de Si na presença de herbivoria ou no híbrido sem aplicação de Si e sem herbivoria.

Para a injúria causada por *S. frugiperda* nas plantas, houve efeitos significativos da interação Si x herbivoria (FIGURA 5A; $F_{1,32} = 4,32$; $P = 0,0457$). A nota de injúria foi menor em plantas fertilizadas com Si e submetidas à herbivoria em comparação às plantas sem Si e com herbivoria. Plantas que não sofreram herbivoria apresentaram nota de injúria menor que aquelas submetidas à herbivoria em ambas as condições de Si. A variedade crioula apresentou nota de injúria ligeiramente menor que o híbrido (FIGURA 5B; $F_{1,32} = 8,04$; $P = 0,0080$).

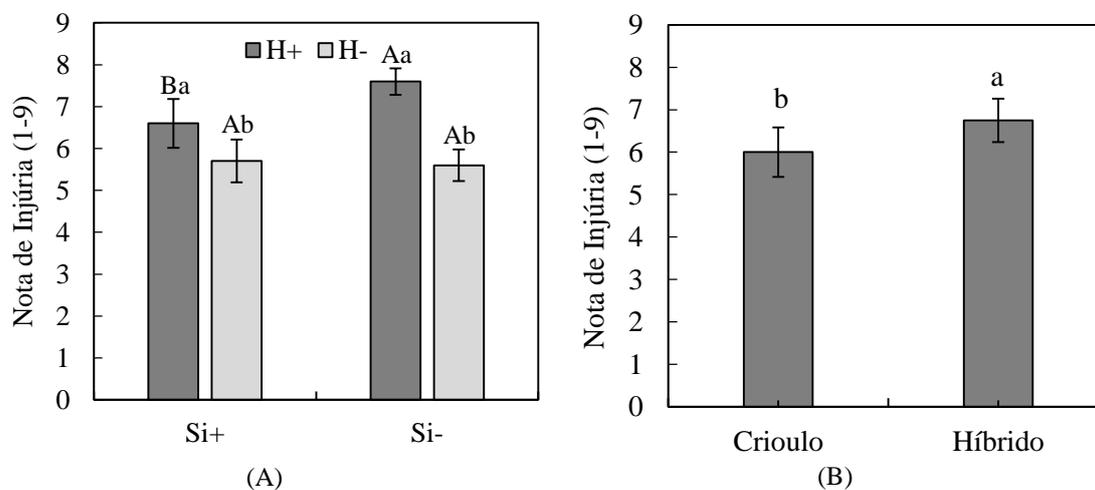
Tabela 6 - Efeitos da interação genótipo de milho x Si x herbivoria no peso (mg) de lagartas de *Spodoptera frugiperda*.

Genótipo	Herbivoria +		Herbivoria -	
	Si +	Si -	Si +	Si -
Crioulo	82,53 ± 5,30 Bb	135,26 ± 16,03 Ba	108,53 ± 5,22 Ba	104,66 ± 0,35 Ba
Híbrido	243,76 ± 8,54 Aa*	198,36 ± 3,40 Ab	185,03 ± 9,34 Ab	234,66 ± 19,41 Aa*

Legenda: Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). * indica diferença significativa entre eventos de herbivoria.

Fonte: Do autor (2020).

Figura 5 - (A) Efeitos da interação Si x herbivoria na nota de injúria de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. (B) Efeito dos genótipos de milho na nota de injúria de lagartas de *Spodoptera frugiperda*.



Legenda: Colunas com diferentes letras maiúsculas entre os genótipos e minúsculas dentro do genótipo denotam diferença significativa ($P < 0,05$).

Fonte: Do autor (2020).

7 DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho demonstraram que houve variáveis respostas induzidas de defesa das plantas pela aplicação de Si, que em parte interagiram com os efeitos de herbivoria por *S. frugiperda* e foram específicas para a variedade crioula e híbrido de milho. Maior crescimento radicular foi observado nas plantas da variedade crioula fertilizadas com Si na ausência de herbivoria, enquanto no híbrido maior crescimento radicular ocorreu nas ausências de Si e herbivoria, relacionando-se com o maior índice de clorofila nestas condições. Por outro lado, plantas da variedade crioula fertilizadas com Si e com herbivoria causaram menor ganho de peso das lagartas de *S. frugiperda* e menor injúria quando confinadas nas plantas, em detrimento da menor altura das plantas.

Tais efeitos indicam ter havido especificamente na variedade crioula indução de memória imune (*priming*) com a aplicação inicial de Si, seguido de indução de resistência com a subsequente herbivoria pelas lagartas. Além disso, verificou-se que naturalmente a variedade crioula é mais resistente e tolerante a *S. frugiperda* que o híbrido de milho, confirmado pelas menores notas de injúria e maiores biomassa da parte aérea e altura das plantas após a infestação das lagartas.

O menor ganho de peso das lagartas de *S. frugiperda* ocorreu em plantas da variedade crioula com aplicação de Si apenas quando na sequência da aplicação ocorreu herbivoria. O menor ganho de peso larval possivelmente ocorreu pelo fato de as lagartas terem se alimentado menos da variedade crioula em função de efeitos de resistência induzidos pela planta atacada sob aplicação de Si, resultando na diminuição nas notas de injúria nas plantas. Esses resultados sugerem que os efeitos ativados (*primed* = preparados, ativados) pelo Si foram potencializados pela herbivoria de *S. frugiperda*, afetando negativamente o crescimento de lagartas coespecíficas e reduzindo a injúria na variedade crioula devido à deterrência causada com o aumento de resistência das plantas.

Com base nesses resultados, hipotetiza-se que a variedade de milho crioulo possui mecanismos de resistência específicos, tais como genes que codificam proteínas transportadoras de Si nas raízes, já que os efeitos foram observados apenas nesse genótipo. Até o momento foram encontrados os transportadores Lsi1 e Lsi2 nas raízes de plantas de arroz, milho, trigo e abóbora, e Lis6 como proteína transportadora

intervascular, desempenhando um papel na descarga de Si do xilema para os tecidos foliares. No entanto, nenhuma proteína transportadora externa foi relatada nas folhas (YAMAJI; MA, 2009; REYNOLDS et al., 2016).

As análises do teor de Si indicaram que a aplicação do mineral no solo levou ao maior acúmulo na parte aérea das plantas, não havendo diferença da herbivoria na concentração foliar de Si; na ausência da aplicação de Si, as plantas acumularam mais o mineral quando ocorreu herbivoria por *S. frugiperda* do que quando não houve ataque. Isso sugere que o Si aplicado no solo foi absorvido pelas raízes das plantas, translocado para a parte aérea e depositado nas folhas; em condições de estresse, mesmo sem suplementação de Si, as plantas absorveram o mineral para auxiliar nas respostas induzidas de defesa, já que este se encontra naturalmente presente no solo por ser o segundo elemento mais abundante da crosta terrestre (EPSTEIN 1994).

Alguns trabalhos também demonstraram aumento na concentração foliar de Si em plantas de milho fertilizadas com o mineral (ALVARENGA et al., 2017; PEREIRA 2018). Estudos feitos com outras espécies de gramíneas também ressaltaram o maior acúmulo de Si nas folhas, como em Nascimento et al. (2017) e Vilela et al. (2014), que encontraram maiores teores de Si em folhas de arroz e cana-de-açúcar fertilizadas com Si, respectivamente.

Outros trabalhos na literatura já demonstraram os efeitos induzidos por Si no aumento de resistência a insetos mastigadores em diferentes espécies vegetais. Massey e Hartley (2009) encontraram menor peso larval em lagartas de *Spodoptera exempta* alimentadas com dieta artificial contendo alto teor de sílica, diminuindo a eficiência de conversão do alimento ingerido na massa corporal das lagartas. Santos et al. (2012) observaram redução na sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* em plantas de tomate fertilizadas com Si via foliar. Nascimento et al. (2017) encontraram redução no peso larval de *S. frugiperda* alimentada com folhas de arroz fertilizadas com Si via solo. Nogueira et al. (2018) também encontraram redução no peso de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de plantas de arroz tratadas com Si. No entanto, poucos trabalhos avaliaram se os efeitos do Si interagiram com a herbivoria, aumentando a tolerância das plantas ao estresse.

Dentre os poucos trabalhos disponíveis, Jhonson et al. (2019) demonstraram aumento na biomassa da parte aérea de plantas de trigo fertilizadas com Si sob condições de herbivoria em comparação com aquelas que foram fertilizadas com Si mas não sofreram herbivoria, sugerindo que a herbivoria não foi capaz de reduzir a biomassa da

parte aérea em plantas fertilizadas com Si. No presente estudo observou-se que a maior massa seca da parte aérea foi na variedade crioula quando houve herbivoria, sugerindo que a planta de milho ativou mecanismos de tolerância a fim de compensar as injúrias sofridas pela herbivoria de *S. frugiperda*, causando maior crescimento vegetativo.

A via de sinalização do ácido jasmônico (JA) desempenha função importante na mediação das respostas de defesa das plantas contra insetos herbívoros mastigadores, no qual após ataque as plantas reconhecem padrões moleculares dos herbívoros que a estão atacando e desencadeiam processos de defesa. Já foi provado por Ye et al. (2013) que há uma forte interação do Si com as vias de sinalização mediadas por JA, de modo que a fertilização das plantas de arroz com Si aumentaram as repostas de defesa mediadas pelo fitormônio, atuando como um preparador (= *primer*) contra a herbivoria de lagartas; entre os resultados desses autores houve aumento das atividades de enzimas e proteínas de defesa, maior indução de transcritos que codificam proteínas envolvidas na sinalização de JA e maior acúmulo do fitormônio após o ataque. Além disso, os efeitos do Si nas plantas também foram mediados pelo JA, promovendo a silicificação da parede celular vegetal (YE et al., 2013).

Pelos resultados aqui obtidos, a aplicação de Si no solo por si só aumentou as concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas folhas, sinalizando às plantas uma condição de estresse e preparando-as para futuros ataques (FESTER; HAUSTER, 2005). O peróxido de hidrogênio é uma espécie reativa de oxigênio produzida pelas plantas em condições de estresse e que estimula reações que levam à expressão de genes de defesa, prevenindo as plantas de futuros ataques por patógenos e insetos (TORRES, 2010). Sabe-se que em baixas concentrações H_2O_2 atua como uma molécula sinalizadora das defesas de plantas (MAFFEI et al., 2007); no entanto, é difícil de estimar qual o limiar entre uma concentração alta e baixa de H_2O_2 que possa ser comparada com os valores obtidos na análise e que possa auxiliar na melhor correlação das suas concentrações com as respostas de defesa das plantas, merecendo futuros estudos neste tema. O presente trabalho é o segundo na literatura que demonstrou aumento nas concentrações de H_2O_2 pela aplicação de Si. Anteriormente, Yang et al. (2017) também relataram aumento na concentração de H_2O_2 em plantas de arroz fertilizadas com Si.

Assim, conclui-se com os resultados que o Si não atuou por si só como um composto indutor de resistência a *S. frugiperda*. Tais efeitos podem ser verificados diretamente no inseto, onde apenas na condição de aplicação de Si seguida de herbivoria houve redução no peso larval na variedade crioula, provavelmente devido à maior

deterrença das lagartas, já que houve também menor injúria nas plantas, indicando menor ganho de peso larval devido à reduzida alimentação.

As plantas podem responder à presença de um herbívoro de forma complexa, onde a indução de memória imune (*priming*) e a resistência induzida podem ocorrer de forma conjunta, minimizando os custos energéticos com a indução de defesa em condições de estresse biótico (FROST et.al., 2008). Dessa forma, é mais provável que o Si atue como um ativador (= *primer*) das repostas de resistência induzida do que propriamente um indutor, levando à expressão de respostas de defesa apenas quando a planta está sob estresse, no caso por herbivoria (DIXON et al., 1994; FAWER et al., 2001; REYNOLDS et al., 2009; ALHOUSARI; GREGER, 2018). Assim, pelos resultados do presente trabalho, observa-se que moléculas de H₂O₂ produzidas pela aplicação de Si desempenham um importante papel na ativação (= *priming*) das defesas das plantas de milho a *S. frugiperda*. Os fatores moleculares, bioquímicos e fisiológicos associadas ao fenótipo são utilizados para avaliar o efeito de *priming* nas plantas. Além disso, mudanças nas concentrações de compostos fenólicos, espécies reativas de oxigênio, lignina e compostos voláteis induzidos pela herbivoria são respostas do mecanismo de defesa das plantas ao estresse sofrido pela herbivoria (MARTINEZ-MEDINA et al., 2016).

A variedade crioula apresentou maior atividade da APX quando houve aplicação de Si na ausência de herbivoria de *S. frugiperda*, indicando que o Si desempenha um papel importante na eliminação das ERO, aumentando as atividades do metabolismo antioxidante. Para a CAT e SOD, as maiores atividades enzimáticas na variedade crioula ocorreram quando não houve aplicação de Si na presença de herbivoria, ou quando houve aplicação de Si sem herbivoria. Essas maiores atividades podem ter resultado na maior biomassa da parte aérea das plantas, de modo que o aumento nas atividades enzimáticas em resposta à herbivoria de *S. frugiperda* possam ter contribuído com a eliminação das ERO, resultando assim na maior tolerância das plantas da variedade crioula.

Em trabalho de Yang et al. (2017), houve aumento nas atividades da CAT e SOD em plantas de arroz fertilizadas com Si sob herbivoria, sugerindo que o Si retardou a diminuição das atividades enzimáticas em condições de infestação. Torabi et al. (2005) observaram que a atividade da SOD aumentou quando houve aplicação de Si em plantas de arroz; entretanto, as atividades da CAT e APX foram diminuídas. Gong et al. (2005) e Shi et al. (2014; 2016) relataram que a fertilização com Si aumentou a tolerância em plantas de tomate e trigo submetidas ao estresse hídrico através do aumento nas atividades enzimáticas da SOD e CAT. Jhonson et al. (2019) demonstraram que o Si pode promover

tolerância à herbivoria em culturas como trigo, milho e arroz, espécies de gramíneas que apresentam alta capacidade de acumular Si. No entanto, em outras culturas que são consideradas não acumuladoras de Si, isto é, a maioria das dicotiledôneas, a tolerância à herbivoria é considerada incomum.

As maiores atividades das enzimas CAT e APX no híbrido de milho foram observadas nas condições sem aplicação de Si e sem herbivoria, onde também foram observados maior concentração de MDA e maior peso larval de *S. frugiperda*. Pelo fato de os efeitos terem sido genótipo-dependente, as maiores atividades das enzimas antioxidantes nessas condições ocorreram a fim de removerem as ERO das células para reduzir o estresse oxidativo nas plantas devido a possíveis estresses abióticos proporcionados pelas condições experimentais na casa de vegetação; por exemplo, a reduzida disponibilidade de nutrientes às plantas nos vasos pode ser um fator influente, uma vez que geralmente híbridos de milho são melhorados a fim de responderem a maiores níveis de fertilização de macronutrientes visando altas produtividades (AMORIM; SOUZA 2005).

O aumento da peroxidação lipídica pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) resulta no aumento das concentrações de malondialdeído (MDA), um dos principais produtos da peroxidação lipídica das membranas celulares, indicando dano oxidativo a essas estruturas (CORBINEAU et al., 2002). O MDA é utilizado como um dos principais indicativos de ocorrência de estresse oxidativo nas plantas (YANG et al., 2017). Portanto, os resultados do presente estudo indicam que a fertilização com Si reduz as concentrações de MDA em plantas sob condições de estresse, reduzindo o dano oxidativo às células vegetais.

Yang et al. (2017) encontraram resultados diferentes dos do presente trabalho, onde plantas de arroz fertilizadas com Si e submetidas à herbivoria pelo inseto sugador *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) apresentaram aumento nas concentrações de MDA quando comparadas aquelas que não foram fertilizadas. Entretanto, ao longo do tempo de infestação, as plantas fertilizadas com Si mantiveram um nível constante da concentração de MDA, enquanto que aquelas que não foram fertilizadas demonstraram aumento na concentração de MDA; portanto, a fertilização com Si inibiu o aumento das concentrações de MDA nas plantas atacadas. Os autores também encontraram que as concentrações de H₂O₂ foram maiores em plantas fertilizadas com Si ao longo do tempo de infestação. Os resultados do presente trabalho foram semelhantes aos encontrados por esses autores, onde as concentrações de H₂O₂ também foram maiores em plantas

fertilizadas com o mineral. Ma et al. (2016) também concluíram que a fertilização com Si diminuiu a peroxidação lipídica nas plantas.

As enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX são as principais enzimas envolvidas no processo de tolerância das plantas ao estresse oxidativo. Plantas que expressam atividades enzimáticas altas têm a capacidade de eliminar de maneira mais eficiente o excesso de ERO, protegendo o conteúdo celular contra os efeitos tóxicos das ERO produzidas em condições de estresse, e conseqüentemente sofrem menor dano oxidativo; dessa forma, toleram condições de estresse com mais eficiência (CAVERZAN; CASASSOLA; BRAMMER, 2016). Em geral, os resultados do presente estudo demonstraram que o aumento nas atividades das enzimas antioxidantes ocorreram de forma independente entre plantas fertilizadas com Si ou submetidas à herbivoria, e que provavelmente foram decorrentes da sequência de eventos (primeiro aplicação de Si e depois infestação das lagartas) na metodologia utilizada e o momento em que as amostras foram coletadas.

No bioensaio de desempenho larval de *S. frugiperda* não foi possível observar os mesmos efeitos do experimento de casa de vegetação, não ocorrendo diferenças no consumo foliar e biomassa das lagartas na variedade crioula. Apesar disso, no híbrido houve menor taxa de consumo foliar e menor ganho de peso larval respectivamente nos experimentos de laboratório e casa de vegetação. As diferenças dos efeitos entre experimentos foram devido à metodologia empregada. A presença das lagartas se alimentando nas plantas em casa de vegetação foram fundamentais para que as respostas induzidas de defesa ocorressem de forma mais dinâmica e efetiva, enquanto no bioensaio foram observados provavelmente os efeitos pré-formados pela aplicação de Si; estes efeitos podem ser advindos da barreira mecânica formada nas folhas pela deposição e polimerização (SiO_2) do mineral (MA; YAMAJI, 2006). Assim, a utilização da metodologia em casa de vegetação é mais adequada em experimentos que visem avaliar os efeitos induzidos de defesa por Si.

Embora não seja um nutriente essencial para as plantas, o Si pode interagir com as vias de sinalização de defesa, regulando diversas atividades fisiológicas sob condições de estresse bióticos e abióticos, atenuando o estresse oxidativo caracterizado pelo aumento na produção de ERO (YE et al., 2013). Os resultados do presente trabalho demonstram que os efeitos proporcionados pelo Si provavelmente não possam ser caracterizados como de indução de resistência, uma vez que a aplicação por si só de Si não foi capaz de induzir resistência nas plantas de milho. Portanto, um termo mais

adequado a ser empregado para o Si quanto aos efeitos negativos promovidos sobre os insetos e que compreenderiam tanto os de indução de memória imune (*priming*) e indução de resistência seria “elicitador de resistência” (SOUZA; BOIÇA JÚNIOR, 2019).

Outro resultado interessante deste trabalho foi o efeito bioestimulante do Si na variedade crioula na condição de fertilização na ausência de herbivoria, que resultou no maior crescimento radicular das plantas. Efeitos bioestimulantes de Si já foram reportados na literatura (VAN OOSTEN et al., 2017). Bioestimulante é um termo recentemente desenvolvido pela comunidade científica e indústria para caracterizar compostos de natureza química ou oriundos de microrganismos com função de aumentar a capacidade de nutrição, tolerância a estresses abióticos e/ou melhorar características agrônômicas das culturas, independentemente do teor de nutrientes (DU JARDIN, 2015; YAKHIN et al., 2017). Assim, bioestimulantes são compostos que atuam nas vias metabólicas e de sinalização de defesa das plantas. No presente trabalho, o efeito bioestimulante do Si foi genótipo-dependente e ocorreu apenas quando não houve conjuntamente herbivoria. Vargas-Hernandez et al. (2017) sugerem que alguns compostos desempenham tanto a função de elicitores de resistência quanto bioestimulantes dependendo das doses utilizadas, assemelhando-se a efeitos horméticos, um assunto que merece futuras investigações.

Análises moleculares também serão fundamentais para responder melhor algumas questões das interações do Si nas rotas metabólicas e vias de sinalização de defesa das plantas, como também quais genes seriam ativados pelo Si, bem como a identificação de transportadores presentes na raiz de diferentes genótipos de plantas a fim de potencializar os efeitos induzidos com o uso de plantas que respondem melhor aos efeitos do mineral. Outro assunto a ser abordado é se a indução de memória imune (= *priming*) das plantas pode ser repassada às gerações seguintes, ou seja, se o efeito de ativação das defesas de natureza epigenética pode ser transgeracional. Os resultados obtidos neste estudo são importantes por caracterizar os efeitos induzidos proporcionados pelo Si e estimular seu uso de modo mais adequado em programas de Manejo Integrado de Pragas, como no manejo de *S. frugiperda* tanto nos países em que a praga já ocorre quanto nas regiões do mundo onde foi recentemente introduzida.

8 CONCLUSÕES

- Os efeitos de indução de resistência, indução de memória imune e tolerância podem ocorrer de forma conjunta pelas plantas de milho como estratégias de defesa à herbivoria, cujos efeitos são mais acentuados na presença de herbivoria na variedade crioula;

- A variedade crioula é mais resistente e tolerante a *S. frugiperda* que o híbrido de milho;

- A fertilização com Si aumenta as concentrações de H₂O₂, atuando como sinalizadoras de estresse oxidativo celular;

- Os efeitos nas atividades antioxidantes foram variáveis em função do genótipo de milho e aplicação de Si em conjunto ou não com herbivoria, de modo que no genótipo crioulo as maiores atividades da APX ocorrem com aplicação de Si e sem herbivoria, e da SOD nas condições com Si e sem herbivoria ou com herbivoria e sem Si.

9 REFERÊNCIAS

- ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell and Environment**, v.24, n.12, p.1337-1344, 2001.
- ALHOUSARI, F.; GREGER, M. Silicon and mechanisms of plant resistance to insect pests. **Plants**, v. 7, n. 2, p. 33, 2018.
- 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**, v. 107, n. 4, p. 527-533, 2017.
- ALVES, L. R. A. et al. Avaliação econômica de milho geneticamente modificado resistente a insetos—MON89034 e MON810. In: **47° Congresso SOBER**, 2009, Piracicaba-SP. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/br/documentos/texto/avaliacaoeconomica-de-milho-geneticamente-modificado-resistente-a-insetos-a-artigo-publicado-no-xxvii-congresso-da-sober2009.aspx>>. Acesso em: 23 ago. 2018.
- AMORIM, E. P.; SOUZA, J. C.. Híbridos de milho inter e intrapopulacionais obtidos a partir de populações S0 de híbridos simples comerciais. **Bragantia**, v. 64, n. 4, p. 561-567, 2005.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.
- ARAÚJO, P. M.; NASS, L. L. Caracterização e avaliação de populações de milho crioulo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 3, p. 589-593, 2002.
- BAENAS, N., GARCÍA-VIGUERA, C., MORENO, D. A. (2014). Biotic elicitors effectively increase the glucosinolates content in Brassicaceae sprouts. **J. Agric. Food Chem.** 62, 1881–1889. doi: 10.1021/jf404876z
- BALMER, A. et al. The ‘prime-ome’: towards a holistic approach to priming. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 7, p. 443-452, 2015.
- BAXTER, A.; MITTLER, R.; SUZUKI, N. ROS as key players in plant stress signalling. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 5, p. 1229-1240, 2013.
- BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 651-658, Feb. 1998.
- BOLLER, T.; FELIX, G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 379-406, 2009.

- BORGES, M. et al. **Metodologias para o estudo da defesa de memória (Priming) em plantas frente a estresse biótico**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 9, 2017 (Circular técnica 91).
- BRUCE, T. J. A et al. Stressful “memories” of plants: evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, v. 173, n. 6, p. 603-608, 2007.
- CALABRESE, E. J. Hormesis: a fundamental concept in biology. **Microb. Cell** **1**, 145–149, 2014a.
- CALABRESE, E. J., MATTSON, M. P.. Hormesis provides a generalized quantitative estimate of biological plasticity. **J. Cell CommunSignal**. **5**, 25–38, 2011.
- CALDARELLI, C. E.; BACCHI, M. R. P. Fatores de influência no preço do milho no Brasil. **Nova Economia**, v. 22, n. 1, p. 141-164, 2012.
- CAMPANHA, M. M. et al. **Sistema de produção integrada de milho para Região Central de Minas Gerais**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 76, 2012 (Documento 148).
- CARVALHO, N. L. Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 7, n. 7, p. 1379-1390, 2012.
- CARVALHO, R. A. et al. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Plos One**, v. 8, n. 4, p. 62268, 2013.
- CAVERZAN, A; CASASSOLA, A; BRAMMER, S. P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. **Abiotic and Biotic Stress in Plants-Recent Advances and Future Perspectives**, p. 463-480, 2016.
- CHEN, Y. H.; GOLS, R.; BENREY, B. Crop domestication and its impact on naturally selected trophic interactions. **Annual Review of Entomology**, v. 60, p. 35-58, 2015.
- COIMBRA, R. R. et al. Caracterização e divergência genética de populações de milho resgatadas do Sudeste de Minas Gerais. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 1, p. 159-166, 2010.
- CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Série histórica das safras**, 2108. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=20>> Acesso em: 17 ago. 2018.
- CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Boletim da safra de grãos**, 2020. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>> Acesso em: 09 jan. 2020.

- CORBINEAU, F., GAY-MATHIEU, C., VINEL, D. CÔME, D. Decrease in sunflower (*Helianthus annuus*) seed viability caused by high temperature as related to energy metabolism, membrane damage and lipid composition. **Physiol Plant** 116, 489–496, 2002.
- COORS, J. G.; CARTER, P. R.; HUNTER, R. B. Silage corn. In: HALLAUER, A. R. (Ed.). **Specialty corns**. Boca Raton: **CRC Press**, p. 305-340, 1994.
- COORS, J. G. Findings of the Wisconsin corn silage consortium. In: SEEDS OF ANIMAL NUTRITION SYMPOSIUM, 1996, **Johnston. Proceedings**, 1996.
- COSKUN, D. et al. The controversies of silicon's role in plant biology. **New Phytologist**, v. 221, n. 1, p. 67-85, 2019.
- CRUZ, I. et al. **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. Brasília-DF: EMBRAPA, p. 192, 2008.
- CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, p. 45, 1995, (Circular técnica, 21)
- CRUZ, I. **Manejo da resistência de insetos-praga a inseticidas, com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith)**. Embrapa Milho e Sorgo, p. 30, 2002 (Documentos 21)
- CRUZ, C. D.; REGAZZIE, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, v. 1, 2004.
- CRUZ, I.; SANTOS, J.P.; WAQUIL, J. M. **Pragas da cultura do milho**. Embrapa Milho e Sorgo, p. 28, 1983
- CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 355-359, 1982.
- CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Yield impact of larval infestations of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to midwhorl growth stage of corn. **Journal of Economic Entomology**, v. 76, n. 5, p. 1052-1054, 1983.
- CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. **Manejo das pragas iniciais de milho mediante o tratamento de sementes com inseticidas sistêmicos**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, p. 39, 1999, (Circular Técnica, 31)
- CRUZ, J. C. et al. **Manejo da cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, p. 65, 2006, (Circular técnica, 87)
- DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 53, 2014.

DAY, R., ABRAHAMAS, P., BATEMAN, M., BEALE, T., CLOTTEY, V., COCK, M., WITT, A. Fall armyworm: Impacts and implications for Africa. **Outlooks on Pest Management**, 28, 196–201, 2017.

DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. Silicon on agriculture. **Elsevier Science**, 424 p, 2001.

DIXON, R. A.; HARRISON, M. J.; LAMB, C. J. Early events in the activation of plant defense responses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 32, n. 1, p. 479-501, 1994.

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

EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **É preciso monitorar a lagarta do cartucho**, 2016. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/19126212/e-preciso-monitorar-a-lagarta-do-cartucho>> Acesso em: 09 ago 2018

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p.641-664, 1999.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 91, n. 1, p. 11-17, 1994.

ERB, M. Volatiles as inducers and suppressors of plant defense and immunity origins, specificity, perception and signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 44, p. 117-121, 2018.

FARIAS, J. R. et al. Dominance of Cry1F resistance in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on TC1507 Bt maize in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, n. 5, p. 974-979, 2015.

FAWE, A et al. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, v. 88, n. 5, p. 396-401, 1998.

FAWE, A. et al. Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: *Studies in Plant Science*. **Elsevier**, v. 8, p. 159-169, 2001.

FERREIRA, J. M.; MOREIRA, R. M. P.; HIDALGO, J.A. F. Capacidade combinatória e heterose em populações de milho crioulo. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 332-339, 2009.

FESTER, T. HAUSE, G. Accumulation of reactive oxygen species in arbuscular mycorrhizal roots. **Mycorrhiza**, v. 15, n. 5, p. 373-379, 2005.

FOYER, C. H.; SHIGEOKA, S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions in order to enhance photosynthesis. **Plant Physiology**, p. pp. 110.166181, 2010.

FROST, C. J. et al. Plant defense priming against herbivores: getting ready for a different battle. **Plant Physiology**, v. 146, n. 3, p. 818-824, 2008.

GALLO, D. et al. Genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. **Plant Science**, v.163, n.5, p.1037-1046. 2002. In: Manual de Entomologia Agrícola. São Paulo: FEALQ, v. 10, p. 920, 2002.

GARBUGLIO, D. D.; GERAGE, A. C.; ARAÚJO, P. M.; FONSECA JUNIOR, N. S.; SHIOGA, P. S. Análise de fatores e regressão bissegmentada em estudos de estratificação ambiental e adaptabilidade em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 183-191, 2007.

GARCIA-MIER, L., JIMENEZ-GARCIA, S. N., GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G., FERREGRINO-PEREZ, A. A., CONTRERAS-MEDINA, L. M., TORRES-PACHECO, I. Elicitor mixtures significantly increase bioactive compounds, antioxidant activity, and quality parameters in sweet bell pepper. **J. Chem.** 2015,

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutases. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, p. 309-314, 1977.

GOERGEN, G. et al. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PloS one**, v. 11, n. 10, p. e0165632, 2016.

GONG, H., ZHU, X., CHEN, K., WANG, S., AND ZHANG, C.. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Sci.** 169, 313–321, 2005.

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

GOUSSAIN, M. M. et al. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, 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.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 84, n. 2, p. 450- 455, 1987.

HILKER, M. et al. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. **Biological Reviews**, v. 91, p. 1118- 1133, 2016.

HOOPER, P. L., HOOPER, P. L., TYTELL, M., and VÍGH, L. Xenohormesis: health benefits from an eon of plant stress response evolution. **Cell Stress Chaperones** 15, 761–770, 2010.

HUANG, J. et al. A decade of Bt cotton in Chinese fields: Assessing the direct effects and indirect externalities of Bt cotton adoption in China. **Science China Life Sciences**, v. 53, n. 8, p. 981-991, 2010.

IMEA- INSTITUTO MATO GROSSENSE DE ECONOMIA AGROPECUÁRIA. **Entendendo o mercado do milho**, 2015. Disponível em: <http://www.imea.com.br/upload/pdf/arquivos/Paper_jornalistas_Milho_AO.pdf> Acesso em: 20 ago. 2018.

JING, D.-P. et al. Initial detections and spread of invasive *Spodoptera frugiperda* in China and comparisons with other noctuid larvae in cornfields using molecular techniques. **Insect science**, 2019.

JOHNSON, S. N. et al. When resistance is futile, tolerate instead: silicon promotes plant compensatory growth when attacked by above-and belowground herbivores. **Biology letters**, v. 15, n. 7, p. 20190361, 2019.

KING, A. B. S.; SAUNDERS, J. L. **The Invertebrate Pests of Annual Food Crops in Central America**. 166 p, 1984.

KOCH, K. G. et al. Plant tolerance: a unique approach to control hemipteran pests. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1363, 2016.

KORNDÖRFER, G.H. et al. **Análise de silício: solo planta e fertilizante**. 50p. (Boletim Técnico, 02), 2004.

KUŹNIAK, E.; URBANEK, H. The involvement of hydrogen peroxide in plant responses to stresses. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 22, n. 2, p. 195-203, 2000.

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. Water stress augments silicon-mediated resistance of susceptible sugarcane cultivars to the stalk borer *Eldana saccharina* (Lepidoptera: Pyralidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 97, n. 2, p. 175-183, 2007.

LABRADOR, J. R. Estudio de la biología y combate del gusano cogollero del maíz *Laphygma frugiperda* S. & A. 83 p, 1967.

LI, Z. et al. Responses of soil enzymatic activities to transgenic *Bacillus thuringiensis* (Bt) crops-A global meta-analysis. **Science of The Total Environment**, v. 651, p. 1830-1838, 2018.

LIMA FILHO, O.F.; LIMA, M.T.G.; TSAI, S. M. O silício na agricultura. **Informe Agrônômico**, Piracicaba, v. 87, p. 1-7, 1999.

LIMA JUNIOR, I.S. et al. Infestação de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho nas condições de sequeiro e irrigado. **Agrarian**, v. 5, n. 15, p. 14-19, 2012.

LIU, J., LIU, Y., WANG, Y., ZHANG, Z.-H., ZU, Y.-G., EFFERTH, T., et al. The combined effects of ethylene and MeJA on metabolic profiling of phenolic compounds in *Catharanthus roseus* revealed by metabolomics analysis. **Front. Physiol.**217.

LOBO, V. et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, n. 8, p. 118, 2010.

LUGINBILL, P. H. The fall armyworm. **Technical Bulletin United States Department of Agriculture**. v. 34, p. 1-91, 1928.

MA, D., SUN, D., WANG, C., QIN, H., DING, H., LI, Y., et al. Silicon application alleviates drought stress in wheat through transcriptional regulation of multiple antioxidant defense pathways. **J. Plant Growth Regul.** 35, 1–10, 2016.

MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATINOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.). *Silicon in Agriculture*. Elsevier Science, chap. 2, p. 17-39, 2001.

MA, J. F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 8, p. 392-397, 2006.

MANDAL, S., KAR, I., MUKHERJEE, A. K., ACHARYA, P. Elicitor-induced defense responses in *Solanum lycopersicum* against *Ralstonia solanacearum*. **ScientificWorldJournal**, 2013.

MAFFEI, M. E.; MITHÖFER, A.; BOLAND, W. Before gene expression: early events in plant–insect interaction. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 7, p. 310-316, 2007.

MAGALHÃES, P. C. et al. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas, p. 970, 2002. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMS/15589/1/Circ_22.pdf> Acesso em: 13 ago. 2018.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2ed.. 889 p., 1995.

MARTINEZ-MEDINA, A. et al. Recognizing plant defense priming. **Trends Plant Science**, v. 21, n. 10, p. 818-822, 2016.

MAUCH-MANI, Brigitte et al. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 68, p. 485-512, 2017.

MEJÍA-TENIENTE, L., DURÁN-FLORES, F. D. D., CHAPA-OLIVER, A. M., TORRES-PACHECO, I., CRUZ-HERNÁNDEZ, A., GONZÁLEZ-CHAVIRA, M. M., et al. Oxidative and molecular responses in *Capsicum annuum* L. after hydrogen peroxide, salicylic acid and chitosan foliar applications. **Int. J. Mol. Sci.** 14, 10178–10196, 2013.

MENDES, M. C. et al. Avaliação de híbridos de milho obtidos do cruzamento entre linhagens com diferentes níveis de degradabilidade da matéria seca. **Bragantia**, v. 67, n. 2, p. 285-297, 2008.

MENDONÇA, O.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; GARBUGLIO, D. D.; FONSECA JUNIOR, N. S. Análise de fatores e estratificação ambiental na avaliação da

adaptabilidade e estabilidade em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 11, p. 1567-1575, 2007.

MITCHELL, C. et al. Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1132, 2016.

NASCIMENTO, A. M. et al. Silicon application promotes rice growth and negatively affects development of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). **Journal of Applied Entomology**, v. 142, n. 1-2, p. 241-249, 2017.

NATAREN P.D. et al. Doses de silício na produtividade e na indução de resistência de plantas de milho a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). 2017.

NOGUEIRA, A. M. et al. Efeito do Silício no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do arroz. **Connection Line**, n. 19, 2018.

NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P.; DIAS, F.N.. Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. **Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas**, v. 1, p. 127-145, 2001.

OLIVEIRA, F. et al. **Silício como estratégia para o manejo de *Spodoptera frugiperda***. Sete Lagoas. Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, p. 22, 2017.

OLIVEIRA, J. S. Avaliação da qualidade da planta de milho para silagem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1997, Juiz de Fora. **Anais... Juiz de Fora: SBZ**, v. 1, p. 161-163, 1997.

PATERNIANI, E.; NASS, L. L.; SANTOS, M. X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil: uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. **Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos**. Brasília: Paralelo, v. 15, p. 11-41, 2000.

PEREIRA, P. Fertilização com silício altera a defesa direta e indireta da planta de milho (*Zea mays* L.) contra a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Je Smith) (Lepidoptera: noctuidae). 2018. 62f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras MG.

PETERSON, R. K. D; VARELLA, A. C.; HIGLEY, L. G. Tolerance: the forgotten child of plant resistance. **PeerJ**, v. 5, p. e3934, 2017.

POSCHENRIEDER, C., CABOT, C., MARTOS, S., GALLEGU, B., and BARCELÓ, J. Do toxic ions induce hormesis in plants? **Plant Sci**. 212, 15–25, 2013.

RAHMAN, A., WALLIS, C. M.; UDDIN, W. Silicon induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology** 105, n. 6, p. 748–757, 2015.

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, p. 744, 2016.

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.

ROSA, A. P. S. A.; BARCELOS, H. T. **Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 9- 10, 2012 (Documento 344).

SÁ, V. G. M. et al. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, v. 38, n.1, p. 108-115, 2009.

SAIRAM, R. K., RAO, K. V., SRIVASTAVA, G. C. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. **Plant Science**, v.163, n.5, p.1037-1046. 2002.

SANTIAGO, G. P. et al. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 792-796, 2008.

SANTOS, F. A. Milho bt e silício na resistência A *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 2011. 40f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras MG.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, 2012.

SHI, Y., ZHANG, Y., YAO, H., WU, J., SUN, H., GONG, H. Silicon improves seed germination and alleviates oxidative stress of bud seedlings in tomato under water deficit stress. **Plant Physiol. Biochem.** 78, 27–36, 2014.

SHI, Y., ZHANG, Y., HAN., W., FENG, R., HU, Y., GUO, J., et al. Silicon enhances water stress tolerance by improving root hydraulic conductance in *Solanum lycopersicum* L. **Front. Plant Science**. 7-196, 2016.

SHYLESHA, A. N. et al. Studies on new invasive pest *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and its natural enemies. **Journal of Biological Control**, v. 32, n. 3, p. 145-51, 2018.

SILVEIRA, D. C. et al. Caracterização agromofológica de variedades de milho crioulo (*Zea mays* L.) na região noroeste do Rio Grande do Sul. **Ciência e Tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 01-11, 2015.

SOUZA, B. H. S.; BOIÇA Jr., A. L.; Resistência induzida e bioestimulantes no manejo integrado de pragas. In: **Tópicos em Entomologia Agrícola XII**. Jaboticabal (SP): Sem editora, 2019. P. 161.

STENBERG, J. A.; MUOLA, A. How should plant resistance to herbivores be measured. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 663, 2017.

STOWE, K. A. et al. The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 31, n. 1, p. 565-595, 2000.

STRAUSS, S. Y.; AGRAWAL, A. A. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 14, n. 5, p. 179-185, 1999.

SISAY, B. et al. First report of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), natural enemies from Africa. **Journal of Applied Entomology**, v. 142, n. 8, p. 800-804, 2018.

THOMMA, B. P. H. J; NÜRNBERGER, T.; JOOSTEN, M. H. A. J. Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. **The Plant Cell**, v. 23, p.4-15, 2011.

TIERRANEGRA-GARCÍA, N., SALINAS-SOTO, P., TORRES-PACHECO, I., OCAMPO-VELÁZQUEZ, R. V., RICO-GARCÍA, E., MENDOZA-DIAZ, S. O., et al. Effect of foliar salicylic acid and methyl jasmonate applications on protection against pill-bugs in lettuce plants (*Lactuca sativa*). **Phytoparasitica** **39**, 137–144, 2011.

TIFFIN, P. Mechanisms of tolerance to herbivore damage: what do we know. **Evolutionary Ecology**, v. 14, n. 4-6, p. 523-536, 2000.

TISDALE, S.L.; NELSON, W.J.; BEATON, J.D. Soil fertility and fertilizers. **New York: Macmillan Publishing Company**, p. 202-331, 1993.

TRIPATHI, D. K. et al. Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 110, p. 70-81, 2017.

TORABI, F., MAJD, A., ENTESHARI, S.. The effect of silicon on alleviation of salt stress in borage (*Borago officinalis* L.). **Soil Science**. Plant Nut. 61, 788–798, 2015.
TORRES, M. A. ROS in biotic interactions. **Physiol Plant** 138, 414–429, 2010.

VAN OOSTEN, M. J et al. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 4, n. 1, p. 5, 2017.

VARGAS-HERNANDEZ, M. et al. Plant hormesis management with biostimulants of biotic origin in agriculture. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1762, 2017.

VILELA, M. et al. Induced resistance to *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) via silicon application in sugarcane. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 40, n. 1, p. 44-48, 2014.

WALTERS, D. R.; NEWTON, A. C.; LYON, G. D.. Induced resistance for plant defense: a sustainable approach to crop protection. Wiley-Blackwell, 2014.

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

WAQUIL, J. M. et al. Manejo de lepidópteros-praga na cultura do milho com o evento Bt piramidado Cry1A. 105 e Cry2Ab2. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 12, p. 1529-1537, 2013.

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.

YANG, L. et al. Silicon amendment is involved in the induction of plant defense responses to a phloem feeder. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 4232, 2017.

YAKHIN, O.I. et al. Biostimulants in plant science: a global perspective. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 2049, 2017.

YE, M. et al. Priming of jasmonate-mediated antiherbivore defense responses in rice by silicon. **Proc Natl Acad Sci**. 2013.

ZHANG, L et al. High-depth resequencing reveals hybrid population and insecticide resistance characteristics of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) invading China. **bioRxiv**, p. 813154, 2019.

ZUNUN-PÉREZ, A. Y., GUEVARA-FIGUEROA, T., JIMENEZ-GARCIA, S. N., FERREGRINO- PÉREZ, A. A., GAUTIER, F.,GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G.Effect of foliar application of salicylic acid, hydrogen peroxide and a Xyloglucan oligosaccharide on capsiate content and gene expression associated with capsinoids synthesis in *Capsicum annuum* L. **J. Biosci.** **42**, 245–250,2017.

10 ANEXOS

Efeitos	RCR		ECI	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Genótipos	0,7094	0,4059 ns	0,1177	0,7337 ns
Si	0,6236	0,4355 ns	1,0338	0,3169 ns
H	0,286	0,5965 ns	0,0203	0,8875 ns
Genótipos × Si	5,8774	0,0212 *	0,0422	0,8385 ns
Genótipos × H	0,4668	0,4994 ns	0,4912	0,4885 ns
Si × H	0,3004	0,5874 ns	0,2814	0,5994 ns
Genótipos × Si × H	1,3067	0,2615 ns	0,2909	0,5933 ns

RCR – Taxa de consumo relativo, * $P < 0,005$, NS- não significativo

Efeitos	MSR		MSP		IRC		APA		APD		Si	
	<i>F</i>	<i>P</i>										
Genótipos	0,355	0,5555 ns	8,211	0,0073 *	4,973	0,0329 *	9,840	0,0037 *	8,388	0,0068 *	0,961	0,3415 ns
Si	3,195	0,0833 ns	1,125	0,2957 ns	2,488	0,1246 ns	7,513	0,0099 *	0,003	0,9534 ns	0,243	0,6288 ns
H	5,625	0,0239 *	3,803	0,0600 ns	1,339	0,2558 ns	0,460	0,5027 ns	3,160	0,0849 ns	0,203	0,6584 ns
Genótipos × Si	5,04	0,0318*	0,092	0,7631 ns	5,727	0,0227*	5,074	0,0313 *	0,233	0,6326 ns	0,900	0,3570 ns
Genótipos × H	1,308	0,2612 ns	10,265	0,0031*	0,001	0,9726 ns	0,128	0,7228 ns	1,199	0,2817 ns	0,233	0,6362 ns
Si × H	6,062	0,0194*	0,058	0,8117 ns	0,323	0,5736 ns	3,448	0,0726 ns	0,978	0,3301 ns	7,448	0,0149 *
Genótipos × Si × H	4,271	0,0469*	2,582	0,1179 ns	1,141	0,2935 ns	1,153	0,2910 ns	0,005	0,9441 ns	0,008	0,9293 ns

MSR- Massa seca da raiz, MSP- Massa seca da parte aérea, IRC- Índice relativo de clorofila, APA- Altura de plantas antes da infestação, APD- Altura de plantas depois da infestação, Si- concentração foliar de Si, * $P < 0,005$, NS- não significativo

Efeitos	H ₂ O ₂		MDA		APX		CAT		SOD	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Genótipos	0,409	0,5270 ns	9,25	0,0047 *	0,368	0,5484 ns	16,563	0,0003 *	3,879	0,0576 ns
Si	1,217	0,2783 ns	0,387	0,5381 ns	3,821	0,0594 ns	2,492	0,1243 ns	0,000	0,9975 ns
H	0,334	0,5671 ns	0,021	0,8864 ns	0,775	0,3853 ns	3,356	0,0763 ns	1,474	0,2336 ns
Genótipos × Si	3,819	0,0595 ns	3,520	0,0698 ns	5,107	0,0308 *	0,001	0,9735 ns	8,025	0,0079 *
Genótipos × H	0,309	0,5821 ns	0,118	0,7336 ns	1,386	0,2477 ns	3,350	0,0765 ns	0,841	0,3658 ns
Si × H	9,991	0,0034 *	7,291	0,0110 *	1,539	0,2238 ns	0,013	0,9096 ns	3,879	0,0576 ns
Genótipos × Si × H	0,165	0,6870 ns	4,684	0,0380 *	6,357	0,0169 *	11,032	0,0022 *	5,136	0,0303 *

H₂O₂ – Concentrações de peróxido de hidrogênio, MDA- Concentrações de malondialdeído na peroxidação lipídica, APX- Atividade enzimática da Ascorbato peroxidase, CAT- Atividade enzimática da Catalase, SOD- Atividade enzimática da Superóxido dismutase,

* *P* < 0,005, NS- não significativo

Efeitos	PL		NI	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Genótipos	215,593	0,0000 *	8,036	0,0079 *
Si	3,275	0,0892 ns	2,839	0,0987 ns
H	0,849	0,3706 ns	30,036	0,0000 *
Genótipos × Si	2,314	0,1477 ns	0,893	0,3518 ns
Genótipos × H	0,369	0,5519 ns	0,036	0,8513 ns
Si × H	1,716	0,0001 *	4,321	0,0457 *
Genótipos × Si × H	26,706	0,2087 *	0,893	0,3518 ns

PL- Peso de lagartas de *S. frugiperda*, NI- Notas de injúria de *S. frugiperda*, * $P < 0,005$,

NS- não significativo