



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE LARANJEIRAS DO SUL/PR
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA E
DESENVOLVIMENTO RURAL SUSTENTÁVEL - PPGADR**

SUELHEN THAIS MARCHIORO

**BIOLOGIA E MORTALIDADE DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)
(Lepidoptera: Noctuidae) EM MILHO TRATADO COM SILÍCIO E INOCULANTE
Azospirillum brasilense, SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO**

LARANJEIRAS DO SUL/PR

2019

SUELHEN THAIS MARCHIORO

**BIOLOGIA DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) E
INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MILHO TRATADO COM SILÍCIO E
INOCULANTE *Azospirillum brasilense*, SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E
CAMPO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável – PPGADR, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora Prof. Dra. Aline Pomari Fernandes
Coorientador Dr. Adeney de Freitas Bueno

LARANJEIRAS DO SUL/PR

2019

SUELHEN THAIS MARCHIORO

**BIOLOGIA DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E
INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MILHO TRATADO COM SILÍCIO E *Azospirillum
brasiliense*, SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação *Stricto Sensu*, da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, para obtenção do título de Mestre em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável.


Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

03 / 09 / 2019

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dra. Aline Pomari Fernandes (UFFS – presidente / orientadora)



Prof. Dr. Orcial Ceolin Bortolotto (UNICENTRO – 1º membro)



Prof. Dr. Rubens Fey (UFFS – 2º membro)

Prof. Dr. Gilmar Franzener (UFFS – suplente)

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Marchioro, Suelhen Thais

Biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e indução de resistência em milho tratado com silício e inoculante *Azospirillum brasilense*, sob condições de laboratório e campo / Suelhen Thais Marchioro. -- 2019.

88 f.:il.

Orientador: Doutora em Ciências com ênfase em Entomologia Aline Pomari Fernandes.

Co-orientador: Doutor em Entomologia Adeney de Freitas Bueno .

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável-PPGADR, Laranjeiras do Sul, PR , 2019.

1. Lagarta-do-cartucho. 2. Resistência de plantas. 3. Injúria . I. Fernandes, Aline Pomari, orient. II. , Adeney de Freitas Bueno, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A Deus, meus pais e meu irmão dedico, pois
sem eles seria incapaz de chegar até aqui!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado forças, sabedoria e discernimento.

Aos meus pais e meu irmão, Milton, Rose e Gabriel. Não tem palavras que possam expressar toda a gratidão por tê-los e serem tão presentes na minha vida. Serei eternamente grata pelo amor incondicional, confiança, companheirismo, apoio e por sempre andarem de mãos dadas comigo independente da situação e lugar. Sempre serei com vocês e por vocês!

Ao restante da família e amigos por sempre me enviarem energias positivas.

A Prof. Dra. Aline Pomari Fernandes, minha mãezona científica. Sou e serei imensamente grata por tudo que fez por mim, pela atenção, paciência, acolhida, amizade, pelo respeito, carinho e por todo o conhecimento transmitido nesta jornada.

Ao Dr. Adeney de Freitas Bueno, pela oportunidade de desenvolver o trabalho na Embrapa Soja, pela confiança e pelos conhecimentos transmitidos.

Ao MsC. Augusto Pomari Fernandes e Dra. Gabriela Silva Moura pelo apoio e auxílio nas atividades e também pelo conhecimento transmitido neste período.

Ao meu companheiro de Mestrado e colega de laboratório, Marcos, pelo auxílio nas atividades, pelo companheirismo, paciência e principalmente pela amizade.

A todos meus colegas do laboratório de Entomologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). Em especial José Edeval, Vanessa e Marcelo, os quais me auxiliaram nas atividades laboratoriais e nos experimentos realizados, tanto na cidade de Londrina/PR quanto na cidade de Laranjeiras do Sul/PR.

A toda equipe da Embrapa Soja (funcionários, estagiários e doutoranda). Em especial Ivanilda, Nivaldo, Elias, Pavão, Carneiro, Juvenil, Leonardo, Mônica e Jaciara, pela acolhida, auxílio, conhecimento e amizade.

A banca examinadora, Dr. Orcial e Dr. Rubens, muito obrigada!

Enfim à todos aqueles que de forma direta ou indireta fizeram parte desta caminhada, meu muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	5
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	6
2.1 A PRODUÇÃO DE MILHO DE BASE ECOLÓGICA	7
2.2 A LAGARTA-DO-CARTUCHO, <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).....	7
2.3 UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES E CONTROLE DE PRAGAS.....	9
3 REFERÊNCIAS.....	12
CAPÍTULO 1: BIOLOGIA E COMPORTAMENTO DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) EM MILHO TRATADO COM <i>Azospirillum brasilense</i> E SILÍCIO	17
RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	19
4.1 INTRODUÇÃO	20
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.2.1 Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	22
4.2.2 Obtenção das sementes e cultivo das plantas	24
4.2.3 Preparo das plantas	24
4.2.4 Bioensaio 1: Preferência alimentar em teste de livre escolha.....	25
4.2.5 Bioensaio 2: Sobrevivência de lagartas de 2º instar em teste sem chance de escolha.....	26
4.2.6 Bioensaio 3: Efeito do silício nas fases imaturas.....	26
4.2.7 Análise Estatística.....	27
4.3 RESULTADOS	27
Preferência alimentar em teste de livre escolha.....	27

Sobrevivência de lagartas de 2º instar em teste sem chance de escolha	29
Efeito do silício nas fases imaturas	30
4.4 DISCUSSÃO	33
4.5 CONCLUSÃO.....	37
4.6 REFERÊNCIAS.....	38
CAPÍTULO 2: INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E QUANTIFICAÇÃO DE SILÍCIO EM MILHO TRATADO COM <i>Azospirillum brasilense</i> E SILÍCIO	42
RESUMO	42
ABSTRACT	44
5.1 INTRODUÇÃO	46
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	47
5.2.1 Obtenção das sementes e cultivo das plantas	48
5.2.2 Preparo das plantas	48
5.2.3 Bioensaio 1: Quantitativo de silício na folha através da utilização do método amarelo	49
5.2.4 Bioensaio 2: Indução de enzimas de defesa	50
5.2.4.1 Peroxidase	51
5.2.4.2 Fenilalanina amônia-liase (FAL).....	51
5.2.5 Análise Estatística	52
5.3 RESULTADOS	52
Quantitativo de silício na folha através da utilização do método amarelo	52
Peroxidase	53
Fenilalanina amônia-liase (FAL)	54
5.4 DISCUSSÃO	55
5.5 CONCLUSÃO.....	58
5.6 REFERÊNCIAS.....	58

CAPÍTULO 3: CONTROLE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) COM UTILIZAÇÃO DE <i>Azospirillum brasilense</i> E SILÍCIO EM PLANTAS DE MILHO SOB CONDIÇÕES DE CAMPO	61
RESUMO	62
ABSTRACT	64
6.1 INTRODUÇÃO	66
6.2 MATERIAL E MÉTODOS	67
6.2.1 Local de realização do experimento	67
6.2.2 Cultivar, delineamento experimental, tratamentos adubação e formas de aplicação	67
6.2.3 Avaliações	68
Injúrias foliares	68
Parasitismo.....	69
Ocorrência de inimigos naturais	69
6.2.4 Média de precipitação pluviométrica (mm) e temperatura (°C) no período das avaliações	70
6.2.5 Análise estatística	70
6.3 RESULTADOS	70
Injúrias foliares	70
Total de lagartas, parasitismo e predadores	72
6.4 DISCUSSÃO	73
6.5 CONCLUSÃO	75
6.6 REFERÊNCIAS	75
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	77

BIOLOGIA DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MILHO TRATADO COM SILÍCIO E INOCULANTE *Azospirillum brasilense*, SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO

RESUMO

A cultura do milho possui grande importância no cenário agrícola e seu potencial produtivo é afetado em decorrência de uma série de fatores, como por exemplo, o ataque de pragas. A espécie *Spodoptera frugiperda* é considerada a principal praga da cultura, causando perdas qualitativas na planta e quantitativas na produção, dependendo do estágio fenológico da planta. Atualmente, seu controle é realizado principalmente com cultivos transgênicos ou através da aplicação de inseticidas. No entanto, ambos têm ocasionado a seleção de populações resistentes, dificultando seu controle. Diante disso, cresce a busca de alternativas que reduzam os impactos ambientais, mantenham a praga abaixo do nível de controle. Diante disso, este trabalho objetivou utilizar o silício e inoculante *Azospirillum brasilense* como alternativa de controle de *S. frugiperda*, bem como verificar se a utilização dos mesmos induzem a resistência da planta ao ataque da lagarta. Para tanto, inicialmente foram criadas lagartas *S. frugiperda* para realização de bioensaios com objetivo de avaliar a biologia e comportamento das mesmas, bem como a indução de resistência a partir da utilização de silício e inoculante biológico. Os resultados identificaram menor preferência alimentar, maior mortalidade, menor desenvolvimento larval no segundo instar e período larval total, menor peso de pupas e maior número de indivíduos deformados quando as lagartas foram alimentadas com plantas tratadas com silício. Posteriormente, realizou-se quantificação de silício através do método amarelo e avaliou-se a indução de resistência na planta em folhas onde foram quantificadas a atividade das enzimas peroxidase e fenilalanina amônia-liase (FAL). Os resultados não constataram diferenças entre os tratamentos no quantitativo de silício, porém maior quantidade de silício em folhas velhas em relação às folhas novas nos tratamentos contendo silício. Na indução de resistência, não observou aumento nas atividades em nenhum tratamento. E por fim, realizou-se trabalho de campo com objetivo de avaliar desfolha, parasitismo e inimigos naturais. Neste estudo os resultados não identificaram diferenças entre os tratamentos quanto ao número de lagartas, parasitismo natural e número de predadores. No entanto, verificou-se

redução de desfolha ao longo do período vegetativo da cultura do milho com os tratamentos contendo silício. Com isto, é possível concluir que o silício independente da forma de aplicação auxilia no controle de *S. frugiperda* e atua no comportamento e biologia. Porém, neste trabalho o silício não conferiu aumento de atividades enzimáticas, tendo necessidade de outros estudos.

Palavras-chaves: lagarta-do-cartucho, comportamento, indução de resistência.

BIOLOGY OF *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) AND RESISTANCE INDUCTION IN SILICE AND INOCULATING CORN *Azospirillum brasilense*, UNDER LABORATORY AND FIELD CONDITIONS

ABSTRACT

Corn crop is very important in the agricultural scenario and its productive potential is affected due to a number of factors, such as pest attack. The species *Spodoptera frugiperda* is considered the main crop pest, causing qualitative plant losses and quantitative yield losses, depending on the phenological stage of the plant. Currently, its control is mainly carried out with transgenic crops or through the application of insecticides. However, both have caused the selection of resistant populations, making their control difficult. Given this, the search for alternatives that reduce environmental impacts, keep the pest below the control level, is growing. Therefore, this work aimed to use the silicon and inoculant *Azospirillum brasilense* as a control alternative of *S. frugiperda*, as well as to verify if their use induces the resistance of the plant to the attack of the caterpillar. To this end, initially *S. frugiperda* caterpillars were created to perform bioassays to evaluate their biology and behavior, as well as the induction of resistance from the use of silicon and biological inoculant. The results identified lower feeding preference, higher mortality, lower second instar larval development and total larval period, lower pupal weight and larger number of deformed individuals when the caterpillars were fed with silicon treated plants. Subsequently, silicon quantification was performed by the yellow method and resistance induction was evaluated in the leaves where the activity of the enzymes peroxidase and phenylalanine ammonia lyase (FAL) were quantified. The results did not find differences between treatments in the amount of silicon, but higher amount of silicon in old leaves compared to new leaves in treatments containing silicon. In resistance induction, there was no increase in activity in any treatment. Finally, field work was carried out to evaluate defoliation, parasitism and natural enemies. In this study the results did not identify differences between treatments regarding the number of caterpillars, natural parasitism and number of predators. However, there was a reduction in defoliation over the growing season of corn with silicon-containing treatments. Thus, it is possible to conclude that silicon independent of the application form helps control *S. frugiperda* and acts on

behavior and biology. However, in this work silicon did not confer increase in enzymatic activities, requiring further studies.

Key-words: fall armyworm, behavior, resistance induction.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A importância econômica do milho é caracterizada pelas diversas formas de utilização, desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. O uso do milho em grão na alimentação animal representa a maior parte do consumo desse cereal no mundo. No Brasil, a utilização desse cereal na alimentação é importante, principalmente, em regiões de baixa renda, como no Nordeste, sendo considerada uma importante fonte de energia (DUARTE et al., 2010).

Conforme Cruz et al. (2013) alguns fatores causam a queda na produção dessa cultura, a qual é caracterizada em sua maioria pelo ataque de pragas, principalmente da espécie *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797). Atualmente o principal método de controle é através da utilização de híbridos resistentes, milho Bt, porém, esta tecnologia já apresenta variabilidade entre as diferentes cultivares de milho Bt, sendo necessário em certos casos, uso de medidas complementares para o controle, como aplicação de inseticidas sintéticos (CRUZ, 2013).

A categoria de controle de pragas é a mais conhecida das biotecnologias voltadas à agricultura, a qual pode utilizar aplicações de inseticidas ou cultivares geneticamente modificadas para esta finalidade (DUARTE, 2001). Porém, o uso dessas alternativas tecnológicas, podem selecionar populações resistentes da praga e, além disso, não contemplam produtores de base ecológica, de acordo com a Instrução Normativa n°. 64, de 18 de dezembro de 2008, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (LONDRES; JOVCHELEVICH; MOREIRA, 2014).

Não é novidade que a agricultura moderna preconiza a utilização de insumos químicos sintéticos para controle de pragas, doenças, plantas daninhas, entre outros. Porém, a utilização destes de forma desmedida tem causado efeitos colaterais, cujo impacto mais severo ocorre principalmente em recursos naturais não renováveis, uma vez que objetiva-se aumento de produtividade e lucro, sem considerar impactos ambientais. Diante disso, a agricultura de base ecológica ganha cada vez mais espaço no cenário agrícola mundial (BORSATO, 2015), pois visa propiciar sustentabilidade nos agroecossistemas, diminuindo a desigualdade social e os impactos ambientais (ALVES et al., 2012).

No intuito de promover agricultura de base ecológica Lopes e Lopes (2011) consideram de grande importância estudos científicos que promovam e atribuam tecnologias e métodos alternativos e ecológicos, os quais possam favorecer o

produtor e o meio ambiente. A adoção de práticas deve ter como objetivo solucionar ou ao menos amenizar o problema em questão, como, o ataque de pragas e a injúrias causadas por elas. Dentre os aspectos que aumentam a resistência das plantas ao ataque de pragas, pode-se citar que a nutrição da planta é um fator importante, pois, considera-se que a nutrição de plantas visa diminuir o estresse causado pelas adversidades, podendo reduzir consideravelmente o ataque de pragas, por deixar a planta nutrida e mais resistente, reduzindo as injúrias causadas nas plantas e posteriormente diminuindo perdas na produtividade (RESENDE et al., 2012; WILDA, 2014). A exemplo disso, Dartora et al. (2013), preconiza que a inoculação de sementes com bactérias diazotróficas, como *Azospirillum brasilense*, melhora a absorção de água e nutrientes, além de promover a fixação biológica de nitrogênio, caracterizando melhorias no desenvolvimento da cultura e melhorando aspectos nutricionais da planta. Diante disso, se mantém a hipótese de que plantas nutridas não cumprem as exigências tróficas de parasitas, sendo assim são menos atrativas ao ataque de insetos (DOURADO NETO; SEVERINO, 2001). Outros aspectos importantes do uso deste inoculante estão relacionados à busca por maior eficiência nos sistemas agrícolas de produção, já que a utilização dele pode suplementar ou substituir fertilizantes químicos nitrogenados (BERGAMASCHI, 2006; CANTARELLA, 2007).

Adicionado a isso, o silício (Si) aumenta a resistência natural das plantas, promovendo barreira física nas mesmas, tornando-as menos palatável à insetos pragas (KORNDÖRFER; PEREIRA; CAMARGO, 2004). De acordo com Goussain et al. (2002), o acúmulo de silício nas plantas dificulta a alimentação de *S. frugiperda*, causando morte e aumento nas taxas de canibalismo das mesmas, pelo aumento do estresse alimentar causado. A utilização de silício tem propiciado a agricultura de forma mais sustentável, tendo vantagens em relação ao menor custo e ser opção de agricultura mais ecológica e eficiente (FERNANDES et al., 2009).

Diante do exposto, esse trabalho tem como objetivo avaliar a influência da utilização de produtos que possam promover a nutrição e induzir a resistência em plantas de milho, no desenvolvimento e mortalidade da lagarta-do-cartucho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A PRODUÇÃO DE MILHO DE BASE ECOLÓGICA

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é uma das plantas mais antigas do mundo, sendo cultivado há pelo menos 5 mil anos, sendo originário das Américas. Está entre as culturas de maior importância, sendo relacionado às mais diferentes formas de utilização, que vai desde a alimentação humana, com importância reconhecida na culinária, principalmente no México, até a alimentação animal, onde a sua utilização tem maior expressão (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000; COELHO, 2008).

A enorme utilização desse cereal levou ao aumento da sua escala de produção. Além disso, de acordo com Duarte et al. (2010), o milho também tem grande importância em regiões de baixa renda, em razão da quantidade das reservas acumuladas em seus grãos, onde pode-se constituir como alimento para pessoas que vivem no Semiárido. Ainda de acordo com os referidos autores, no Brasil, o milho é produzido em grandes e pequenas propriedades rurais.

Apesar da expansão de áreas cultivadas pela agricultura de base ecológica, ainda há predomínio de baixas produtividades, causadas por estresses bióticos e abióticos, incluindo também a utilização de técnicas inadequadas de cultivo. Isso pode ocorrer devido ao suporte de pesquisa para avanço da produção agrícola de forma sustentável ser baixa (CRUZ et al., 2006). Portanto vale ressaltar a importância de pesquisas que promovam o avanço da agricultura de base ecológica, pois ela tem grande importância para o desenvolvimento sustentável, sendo que a mesma desempenha inúmeras funções na sociedade, como produção de alimentos saudáveis tanto às comunidades rurais quanto às urbanas, promovendo segurança alimentar e contribuindo com a conservação e preservação dos recursos naturais (LOPES; LOPES, 2011).

2.2 A LAGARTA-DO-CARTUCHO, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

As pragas que atacam o milho podem ser classificadas entre praga-chave e praga-secundária, isso irá depender da importância do dano que causam à cultura. Diante disso, a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, é classificada como

praga-chave na cultura do milho, pois esta praga é agressiva e pode reduzir a produção (VALICENTE, 2015).

A lagarta-do-cartucho é uma praga polífaga, sendo que na fase larval é considerada praga-chave da cultura do milho, acarretando em grandes injúrias nas plantas, principalmente no cartucho de plantas jovens (CRUZ et al., 2008; OTA et al., 2011). O ataque dessa tem aumentado, principalmente no plantio de milho em segunda safra (VALICENTE, 2015). A lagarta ataca tanto na fase vegetativa quanto reprodutiva da cultura, apresentando mais de cem espécies botânicas hospedeiras (FIGUEIREDO, CRUZ, DELLA LUCIA, 1999).

As lagartas em início de desenvolvimento raspam o tecido da folha de um lado, deixando a epiderme oposta intacta. Já no segundo e/ou terceiro instar, as lagartas começam a fazer furos nas folhas, se alimentado em seguida do cartucho das plantas de milho (VALICENTE; TUELHER, 2009). Ainda de acordo com esses autores, a densidade de lagartas no cartucho é reduzida devido ao comportamento canibal deste inseto. O ciclo desta praga tem duração média de 25 a 30 dias, dependendo da temperatura.

Durante o dia, a mariposa pode ser encontrada próxima do solo ou então, nas folhas do cartucho do milho. A diferenciação entre machos e fêmeas se dá através da coloração do primeiro par de asas. No macho, as asas são mais escuras e apresentam manchas e, nas fêmeas as asas são cinza. A oviposição acontece à noite e cada mariposa deposita cerca de 1500 a 2000 ovos no total, podendo variar de 100 à 200 ovos por postura/fêmea (CRUZ, 2008; VALICENTE, TUELHER, 2009).

Os ovos apresentam geralmente coloração acinzentada, sendo depositados em camadas, protegidos pelas fêmeas com escamas. A eclosão ocorre em média de 3 a 4 dias. As lagartas inicialmente são claras passando para pardo escuro a esverdeada até quase preta. A lagarta recém-eclodida tece um fio de seda que é usado como meio de dispersão e/ou escape de inimigos naturais, sendo que a habilidade de tecer é perdida após o terceiro instar larval. Elas se deslocam logo após a eclosão para a região do cartucho, onde começam a se alimentar das folhas. Quanto maior a lagarta, maior a injúria, podendo acarretar em morte da planta, em casos mais drásticos, pois pode destruir totalmente o cartucho da mesma (CRUZ; FIGUEIREDO, 1994; PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004).

Conforme Cruz (1995), no final da fase jovem, a lagarta chega a atingir 50 mm de comprimento. Todo o período larval ocorre dentro do cartucho, porém, o ataque

nas espigas tem aumentado bastante. A espécie apresenta a particularidade de ter hábito canibal, sendo comum encontrar apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho. No entanto, podem ser encontradas larvas de diferentes instares dentro de um mesmo cartucho, porém estas podem estar separadas pelas folhas (RUBIN, 2009). No fim do seu desenvolvimento, o inseto sai do local de ataque e direciona-se para o solo, onde se transforma em pupa.

O período larval e de pupa duram, respectivamente, cerca de 25 e 11 dias, a temperatura média de 25°C. A lagarta prefere geralmente solos arenosos e, em situações onde o solo é muito argiloso, já foram encontradas pupas na planta. A pupa possui coloração avermelhada até quase preta (SARMENTO et al., 2002). As perdas na produção causada por este inseto praga podem variar em função da cultivar e do estágio fenológico da planta, sendo mais sensível entre os estádios de 8 a 10 folhas completamente formadas (AFONSO et al., 2013; OTA et al., 2011; CRUZ; TURPIN, 1982).

2.3 UTILIZAÇÃO DE INOCULANTES E CONTROLE DE PRAGAS

O conhecimento de que as raízes das plantas terrestres obtêm alimento do solo já vem de muitos séculos. A aplicação de substâncias tanto em solo, plantas ou até mesmo em sementes tem intuito de aumentar o crescimento das plantas sendo esses métodos considerados, possivelmente, uma ação tão velha como a própria agricultura (NOGGLE; FRITZ, 1976).

Ano após ano vêm surgindo produtos novos no mercado, tendo como objetivos promover agricultura de forma mais eficiente. Esses produtos são capazes de melhorar o desenvolvimento das plantas utilizando práticas coerentes com o meio ambiente. Nesse sentido, há um inoculante para a cultura do milho, o qual é um produto biológico capaz de reduzir o uso de fertilizantes químicos, que são originários de combustíveis fósseis, portanto, fontes não renováveis (ROBERTO; SILVA; LOBATO, 2010; NOVAKOWISKI et al., 2011).

Esse inoculante, conforme Roberto, Silva e Lobato (2010), utiliza a espécie de bactéria, *Azospirillum brasilense* e foi desenvolvido pela Embrapa Soja em parceria com a Universidade Federal do Paraná (UFPR), com intuito de maximizar a produção e diminuir o uso e custo de adubação química nitrogenada. Os pesquisadores

presumem que, com a utilização deste produto, seja capaz de economizar na safra de milho em todo o país e também diminuir o impacto causado à natureza.

As bactérias do gênero *Azospirillum* são endofíticas, facultativas e colonizam o interior e a superfície das raízes (BERGAMASCHI, 2006). Conforme, Novakowski et al. (2011), essas bactérias tendem a promover a fixação biológica de nitrogênio (FBN), a qual é um processo de transformação do nitrogênio na forma inorgânica combinada NH_3 , sendo realizado por microrganismos conhecidos por fixadores de nitrogênio ou diazotróficos, como *A. brasilense*, que se associam à rizosfera da planta e contribuem com a nutrição nitrogenada da cultura. Além disso, o efeito estimulatório executado por este gênero de bactérias tem sido referido a vários mecanismos além da FBN, considerando a produção de hormônios vegetais (BERGAMASCHI, 2006; VINHAL-FREITAS; RODRIGUES, 2010)

A vantagem da inoculação com estas bactérias em gramíneas, como o milho, ocorre principalmente, pela maior facilidade de aproveitamento de água, maior efetividade fotossintética e por estas, apresentarem sistema radicular fasciculado. Dessa forma, a utilização de *A. brasilense* é um fator que se associa com melhor absorção de água e nutrientes (HUNGRIA, 2011).

Em relação à influência de *A. brasilense* no controle de pragas, há poucos estudos que comprovem tal efeito (ALBUQUERQUE et al., 2015). Porém, a relação direta com o fato de *A. brasilense* melhorar a qualidade nutricional das plantas, por promover a fixação do nitrogênio, que é o principal nutriente para a maioria das culturas pode influenciar a redução de populações de pragas. Diante disso, explora-se que quando existe um equilíbrio nutricional na planta, um ou mais elementos agem de forma benéfica no metabolismo, acabam estimulando a proteossíntese, a qual resulta num baixo teor de substâncias solúveis nutricionais, não correspondendo às exigências tróficas do parasita, ficando as plantas desta forma menos suscetíveis ao ataque de insetos (DOURADO NETO; SEVERINO, 2001).

2.4 O SILÍCIO NO CONTROLE DE PRAGAS

O silício (Si), depois do oxigênio (O), é o elemento mais abundante na litosfera, representando 27,7% da crosta terrestre. Está presente em minerais primários, como feldspato, augita, quartzo e mica, e secundários, como caulinita, montmorilonita, illita e clorita (MALAVOLTA, 1980; EXLEY, 1998).

Embora os fisiologistas não reconheçam o silício (Si) como elemento essencial, existe ampla evidência de que quando disponível para as plantas, o Si tem importante papel no crescimento e na nutrição mineral (ALCOFORADO, 1996). Além disso, ele tende a promover resistência a doenças e pragas, resistência à toxicidade a metais, menor evapotranspiração, efeitos na atividade de enzimas, entre outros benefícios (JONES; HANDRECK, 1967; MALAVOLTA, 1980; MARSCHNER, 1995). O silício quando está em forma solúvel nas plantas pode também induzir a resistência das mesmas, pois se liga no interior da planta, assumindo forma polimerizada. No entanto, caso ocorra retirada deste nutriente esta resistência pode ser anulada (FAWE et al., 1998).

Conforme Epstein (1994) e Marschner (1995), a importância de aplicação de Si para as plantas está relacionada principalmente ao aumento do crescimento e produção vegetal por meio de várias ações indiretas, deixando as folhas mais eretas, com diminuição do auto sombreamento, redução do acamamento, maior rigidez estrutural dos tecidos, proteção contra estresses abióticos como redução de toxidez de Fe, Mn, Al e Na, diminuição na incidência de patógeno e aumento na proteção contra herbívoros, incluindo os insetos fitófagos. De acordo com Fawe et al. (2001), o silício promove a formação de uma barreira física, a qual tem efeito no controle de pragas.

Keeping e Meyer (2000) conduziram trabalho utilizando silício na cana-de-açúcar, onde os efeitos da aplicação de silicato de sódio conferiu a resistência à broca-da-cana, *Eldana saccharina* (Lepidoptera: Pyralidae). Os tratamentos com silício reduziram as injúrias provocadas pelo inseto bem como reduziram seu tamanho

Goussain et al. (2002) observaram em seu trabalho o efeito da aplicação de silício em plantas de milho, no desenvolvimento biológico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Neste trabalho foi avaliado o desenvolvimento de lagartas alimentadas com folhas de milho tratadas com silício em comparação com lagartas alimentadas com folhas de milho não tratadas. Observaram que as mandíbulas das lagartas apresentaram desgaste na região incisora quando em contato com folhas com maior teor de silício. Dessa forma, concluíram que a aplicação de silício pode dificultar a alimentação das lagartas, pois, os resultados mostraram aumento na mortalidade e canibalismo, tornando as plantas de milho mais resistentes à *S. frugiperda*.

Albuquerque et al. (2010) conduziram experimento à campo com *S. frugiperda* em plantas de milho utilizando aplicações via solo de Agrosilício® nas quantidades de 500, 750 e 1000 kg/ha e verificaram redução na desfolha; esta redução também pode ser verificada quando aplicado silicato de potássio associado aos tratamento de silício.

Kvedaras et al. (2010) conduziram um trabalho aplicando silicato de potássio em plantas de pepino. Verificaram que existe forte interação entre Si e jasmonatos (JA), agindo dessa forma, na defesa contra insetos e na atratividade de inimigos naturais, tendo elevado efeito no controle biológico.

Nascimento (2013) verificou em seu trabalho o efeito de aplicações de silício na indução de resistência em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) à *S. frugiperda*, onde constatou que insetos alimentados com plantas tratadas com silício apresentaram menor consumo, redução no peso de lagartas e de pupas, diminuição na longevidade de adultos e redução no número e na viabilidade de primeira e segunda postura quando comparadas ao controle. Assim, concluíram que o silício interfere nos aspectos biológicos e comportamentais de *S. frugiperda*.

3 REFERÊNCIAS

AFONSO, A. P. S.; NAVA, D. E.; MELO, M.; MARTINS, J. F. S.; SILVA, S. D. A. **A lagarta do cartucho de milho.** 2013. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/44083/1/a-lagarta-do-cartucho.pdf>>. Acesso em: 18 abr. 2019.

ALBUQUERQUE, F. A.; LIMA, J. M.; CAVALCANTI, R. W. G.; BORIN, A. L. D. C.; SARAIVA, J. P. *Azospirillum* spp. como potencial indutor de resistência a *Alabama argillacea* (Hub) em plantas de algodoeiro. **Resumo.** Embrapa. 2015.

ALBUQUERQUE, F. A.; SCAPIM, C. A.; LIMA, R. S.; BETIOLI JUNIOR, E.; CRUBELATI, N. C. S. Efeito da aplicação do silicatos via solo e via foliar no manejo de lagarta-do-cartucho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28., 2010, Goiânia. **Anais...** Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 323-327.

ALCOFORADO, P. A. U. G. **Aspectos do Silício no sistema solo-planta:** UFLA, 1996. 53p. (datilografado).

ALVES, A. C. O.; SANTOS, A. L. S.; AZEVEDO, R. M. M. C. Agricultura orgânica no Brasil: sua trajetória para a certificação compulsória. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.7, n.2, p.19-27, 2012.

BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BORSATO, A. V. Sistema de Produção Agrícola de Base Ecológica. In: NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. (Org.). **Recurso Solo: Propriedades e Usos**. São Carlos: Editora Cubo, 2015. p. 499-523.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 2007. p. 375-470.

COELHO, A. M. **A cultura do Milho**. Nutrição e Adubação do Milho. Sete Lagoas: Embrapa, Milho e Sorgo, 2008. p. 132.

CRUZ, I. **A lagarta do cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, 1995. 45 p.

CRUZ, I. **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2008. 192 p.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C. Estudos preliminares do parasitóide *Telenomus* sp. Nixon sobre ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1992-1993**, Sete Lagoas, v.6, p.104-105, 1994.

CRUZ, I. Pragas emergentes em lavouras de milho transgênico Bt. In: Milho Safrinha XII Seminário Nacional. Dourados – MS. **Anais...** 2013. 21p.

CRUZ, J. C.; KONZEN, E. A.; PEREIRA FILHO, I. A.; MARRIEL, I. E.; CRUZ, I.; DUARTE, J. O.; OLIVEIRA, M. F.; ALVARENGA, R. C. **Produção de milho orgânico na agricultura familiar**. Sete Lagoas, MG: Embrapa, 2006. 17 p. (Circular técnica, 81).

CRUZ, I.; TURPIN, F.T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estágios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n.3, p.355-359, 1982.

CRUZ, I.; VALICENTE, F.H.; VIANA, P.A.; MENDES, S.M. **Risco potencial das pragas de milho e de sorgo no Brasil**. EMBRAPA, CNPMS, 40p. (Documentos, 150). 2013.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

DOURADO NETO, D.; SEVERINO, F. J. **A teoria da Trofobiose**. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Departamento de Produção Vegetal. Seminários em Fitotecnia. Piracicaba-SP. 2001.

DUARTE, J. O. **Effects of the biotechnology and intellectual property right law in the seed industry**. 2001. Tese (Doutorado) - University of Nebraska, Lincoln.

DUARTE, J. O.; CRUZ, J. C.; GARCIA, J. C.; MATTOSO, M. J. **Economia da produção**. In: CRUZ, J. C. (Ed.). Cultivo do milho. 6. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de produção, 1).

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

EXLEY, C. Silicon in life: a bioinorganic solution to bioorganic essentiality. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v. 69, n. 3, p. 139-144, Feb. 1998.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária. 2000. v. 18. p. 360.

FAWE, A.; ABOU-ZAID, M.; MENZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. Silicon –mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**. St. Paul, v. 88, n.5, p. 396-401, maio 1998. DOI: 10.1094/PHYTO.1998.88.5.396.

FAWE, A.; MENZIES, J.G.; CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R.R. Silicon and disease resistance in dicotyledons, in: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (eds.). **Silicon in agriculture**. The Netherlands: Elsevier Science, 2001. 403 p.

FERNANDES, A. L. T.; MERRIGHI, A. L. N.; SILVA, G. A.; FRAGA JÚNIOR, E. F. F. Utilização do silício no controle de pragas e doenças do cafeeiro irrigado. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 6, p. 11-52, 2009.

FIGUEIREDO, M.L.C.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T.M. C. Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott) utilizando-se o parasitóide *Telenomus remus* NIXON. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.11, p.1975-1982, 1999.

GOUSSAIN, M. M; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G. NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 305-310, 2002.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Documentos 325. **Embrapa Soja**, Londrina – PR, 2011. 36 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29560/1/DOC325.2011.pdf>>. Acesso em: 17 mai. 2019.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica in soils, plant and animals. **Advances in Agronomy**, v. 19, p. 107-149, 1967.

KEEPING, M. G.; MEYER, J. H. **Increased resistance of sugarcane to *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) with calcium silicate application**. Proceedings of the Annual Congress South African Sugar Technologists Association, n. 74, p. 221-222, 2000.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; CAMARGO, M. S. DE. Silicatos de cálcio e magnésio na agricultura. **Boletim técnico**, 2 ed. Uberlândia, n.1, p.23, 2004.

KVEDARAS, O. L.; AN, M.; CHOI, Y. S.; GURR, G. M. Silicon enhances natural enemy attraction and biological control through induced plant defences. **Bulletin of Entomological Research**, Londres, v. 100, n. 3, p. 367–371, set. 2010. DOI: 10.1017/S0007485309990265.

LONDRES, F.; JOVCHLEVICH, P.; MOREIRA, V. Sementes locais: Experiências agroecológicas e conservação de uso. **Associação Biodinâmica e o Desafio da Produção das Sementes de Hortaliças**. Rio de Janeiro – RJ, 2014. 52 p.

LOPES, P. R.; LOPES, K. C. S. A. Sistemas de produção de base ecológica – a busca por um desenvolvimento rural sustentável. **Revista Espaço de Diálogo e Desconexão**, Araraquara, v. 4, n. 1, jul/dez. 2011.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica. Ceres. 251 p. 1980.

MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of higher plants. New York: **Academic Press**, 887p. 1995.

NOGGLE G R, FRITZ G J. 1976. **Introductory Plant Physiology**. New Jersey:Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs. 168-232.

NASCIMENTO, A. M. **Indução de Resistência em arroz a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) pela aplicação de Silício**. 2013. 45 p. Dissertação. Universidade Federal de Lavras. Lavras – MG.

NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI, J. H.; CHENG, N. C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1687-1698, 2011.

OTA, É. C.; LOURENÇÃO, A. L.; DUARTE, A. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; ITO, M. A. Desempenho de cultivares de milho em relação à lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, p. 850-859, 2011. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf/brag/v70n4/18.pdf>>. Acesso em: 18 abr. 2019.

PINTO, A. S.; PARRA, J.R.P.; OLIVEIRA, H. N. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2004. 108p.

RESENDE, A.V.; COELHO, A.M.; SANTOS, F.C.; JESUS, J.J. **Fertilidade do Solo e Manejo da Adubação NPK para Alta Produtividade de Milho no Brasil Central**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. (Circular Técnica, 181).

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. **Resposta da Cultura do Milho a Aplicação de Diferentes Doses de Inoculante (*Azospirillum brasilense*) Via**

Semente. XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. CD-Rom.

RUBIN, L. A. **Manejo Lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidade), na cultura do milho.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS. Dezembro. 2009.

SARMENTO, R. A.; AGUIAR, R. S.; AGUIAR, R. A. S. S.; VIEIRA, S. M. J.; OLIVEIRA, H. G.; HOLTZ, A. M. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em milho no Brasil. **Bioscience Journal**, v. 18, n. 2, p. 41-48, 2002.

VALICENTE, F. H. **Manejo integrado de pragas na cultura do milho.** Circular Técnica 208, Embrapa Milho e Sorgo, p. 01-03. Jun. 2015.

VALICENTE, F.H.; TUELHER, E.S. **Controle Biológico da Lagarta do Cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com Baculovírus.** Sete Lagoas: EMBRAPA, 2009. 15p. Circular Técnica 114.

VINHAL-FREITAS, I. C.; RODRIGUES, M. B. Fixação biológica do nitrogênio na cultura do milho. **Agropecuária Técnica**, v. 31, n. 2, p 143–154, 2010.

WILDA, L. R. M. **Amostragem georreferenciada e aplicação à taxa variável de corretivos e fertilizantes: dinâmica da fertilidade do solo em lavoura de grãos do Cerrado.** 2014. 84 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CAPÍTULO 1: BIOLOGIA E COMPORTAMENTO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) EM MILHO TRATADO COM *Azospirillum brasilense* E SILÍCIO

RESUMO

Injúrias causadas por *Spodoptera frugiperda* tem aumentado ano a ano, trazendo perdas quantitativas e qualitativas. O controle geralmente é químico ou através da utilização de híbridos resistentes, milho Bt, porém, essas alternativas não contemplam produtores de base ecológica. Desta forma, objetivou-se avaliar os efeitos da utilização de inoculante *Azospirillum brasilense* e da aplicação de silício em plantas de milho (*Zea mays* L.) na biologia da lagarta-do-cartucho. Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação e nos laboratórios de Entomologia da Embrapa Soja. Os tratamentos utilizados foram: T₁: testemunha; T₂: Inoculante *A. brasilense*; T₃: Inoculante *A. brasilense* + Silício no solo; T₄: Inoculante *A. brasilense* + Silício foliar; T₅: Silício no solo e; T₆: Silício foliar. As aplicações dos produtos à base de silício foram realizadas 16 e 26 dias após o plantio e a inoculação das sementes no momento do plantio. Foram realizados três bioensaios, sendo: Bioensaio 1: Preferência alimentar em teste de livre escolha, onde foram dispostas por 72 h, 10 lagartas de 2º instar no centro da placa de Petri em pontos equidistantes com seções foliares de cada tratamento. Há cada 24 h foram contabilizadas as lagartas encontradas em cada tratamento. Bioensaio 2: A sobrevivência de lagartas de 2º instar foi avaliada em teste sem chance de escolha, onde foram dispostas 10 lagartas recém-eclodidas sob seção foliar acondicionada em placa de Petri, que permaneceram até o 3º instar e após término desse período, realizou-se avaliações de mortalidade e canibalismo. Bioensaio 3: Foi avaliado o efeito do silício nas fases imaturas, onde lagartas recém-eclodidas foram dispostas em copo plástico de 100 mL revestidos com papel filtro umedecido, sob seção foliar, a qual foi trocada diariamente. Foram avaliados, duração da fase larval e pupal, mortalidade em cada instar e total, peso de pupas, razão sexual e deformação de adultos. Os bioensaios foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento. No bioensaio 1 foram representativos os resultados de preferência em 24, 48 e 72 h, sendo preferido a testemunha e o menor número de lagartas verificados nos tratamentos contendo silício. Para o bioensaio 2, os maiores índices de

mortalidade e canibalismo aos 16 DAP foram verificados no tratamento contendo inoculante + silício foliar e, aos 26 DAP a maior mortalidade foi verificada no tratamento com silício foliar. Não diferiram duração da fase larval (exceto 2º instar e total). A razão sexual não diferiu estatisticamente e, quanto ao peso de pupas, menores médias foram verificadas nos tratamentos contendo silício foliar. As maiores médias de mortalidade foram verificadas na fase de pré-pupa e os tratamentos com índices superiores a 50% de mortalidade foram inoculante +Si solo e Si foliar, este último também foi o responsável pela maior média de adultos deformados. Diante destes resultados, é possível concluir que o silício é uma alternativa de controle de *S. frugiperda*, sendo a aplicação foliar mais eficiente e recomendada também pela praticidade na aplicação. Em relação ao uso do inoculante *A. brasilense*, não observou-se efeitos diretos no comportamento de *S. frugiperda*, necessitando dessa forma de outros estudos para avaliar os efeitos do mesmo em relação ao controle de pragas, pois de modo geral o inoculante não agiu de forma isolada.

Palavras-chaves: lagarta-do-cartucho, parâmetros biológicos, deformação de adultos.

CHAPTER 1: BIOLOGY AND BEHAVIOR OF *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) IN CORN TREATED WITH *Azospirillum brasilense* E SILICON

ABSTRACT

Injuries caused by *Spodoptera frugiperda* have been increasing year by year, bringing quantitative and qualitative losses. The control is usually chemical or through the use of resistant hybrids, Bt corn, however, these alternatives do not include ecologically based producers. Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of the use of inoculant *Azospirillum brasilense* and the application of silicon on corn (*Zea mays* L.) plants in the biology of the leafworm. The experiments were carried out in the greenhouse and in the Embrapa Soy Entomology laboratories. The treatments used were: T₁: control; T₂: Inoculant *A. brasilense*; T₃: Inoculant *A. brasilense* + Silicon in soil; T₄: Inoculant *A. brasilense* + Leaf Silicon; T₅: Silicon in soil and; T₆: Leaf silicon. Silicon-based products were applied 16 and 26 days after planting and seed inoculation at the time of planting. Three bioassays were performed: Bioassay 1: Food preference in a free choice test, where they were arranged for 72 h, 10 second instar caterpillars in the center of the Petri dish in equidistant points with leaf sections of each treatment. Every 24 h the caterpillars found in each treatment were counted. Bioassay 2: Survival of 2nd instar caterpillars was evaluated in a no-choice test, where 10 newly hatched caterpillars were placed under leaf section in Petri dish, which remained until the 3rd instar and after the end of this period. assessments of mortality and cannibalism. Bioassay 3: The effect of silicon in the immature phases was evaluated, where newly hatched caterpillars were placed in a 100 mL plastic cup covered with moist filter paper, under leaf section, which was changed daily. Larval and pupal phase duration, mortality at each instar and total, pupal weight, sex ratio and adult deformation were evaluated. The bioassays were performed in a completely randomized design with 20 replications per treatment. In bioassay 1 the results were preferably at 24, 48 and 72 h, with the control and the smallest number of caterpillars found in the silicon containing treatments. For bioassay 2, the highest mortality and cannibalism rates at 16 dbh were observed in the treatment containing inoculant + leaf silicon and at 26 dbh the highest mortality was found in the treatment with leaf silicon. There was no difference in larval phase duration (except 2nd instar and total). Sex ratio

did not differ statistically and, as for pupal weight, lower means were found in treatments containing leaf silicon. The highest averages of mortality were verified in the pre-pupa phase and the treatments with mortality rates above 50% were inoculant + Si soil and leaf Si, the latter was also responsible for the highest average of deformed adults. Given these results, it is possible to conclude that silicon is an alternative for *S. frugiperda* control, being the most efficient foliar application and also recommended by its practicality. Regarding the use of the inoculant *A. brasilense*, there were no direct effects on the behavior of *S. frugiperda*, thus requiring further studies to evaluate its effects in relation to pest control, since in general the inoculant did not act in isolation.

Key-words: fall armyworm, biological parameters, adult deformation.

4.1 INTRODUÇÃO

A espécie *Spodotera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) é considerada praga-chave na cultura do milho, causando injúrias em quase todos os estágios vegetativos da planta, acarretando em perdas na produção. O principal método de controle desta praga é o químico e a utilização de sementes geneticamente modificadas para esta finalidade, porém, pode causar a seleção de populações resistentes deste inseto (WISEMAM, 1999; SILOTO, 2002) não contempla produtores de base ecológica.

Diante disso, a resistência de plantas a insetos é um excelente método de controle de pragas, apresentando vantagens econômicas, biológicas e ambientais (WISEMAM, WIDSTRON 1986). Ainda em relação a esse método, Goussain et al. (2002), salientam que cresce a busca de alternativas que proporcionem resistência à planta, diminuindo de *S. frugiperda*. Nesse sentido, plantas nutridas tem menor grau de suscetibilidade de ataque de agentes adversos, sendo que sua nutrição pode ocorrer através do solo ou aplicação foliar. A aplicação de silício em gramíneas pode constituir alternativa viável, já que essas tem grande capacidade de acumular este mineral (EPSTEIN, 1994; MARSCHENER, 1995; EPSTEIN, 1995).

O efeito da nutrição mineral das plantas é normalmente analisado em termos do aumento de produtividade, porém, também tem efeitos no produto colhido e na sua resistência ao ataque de doenças e pragas. Embora o silício não seja reconhecido como elemento essencial, há vários estudos que comprovam o seu benefício nas plantas (ALCOFORADO, 1996; EPSTEIN, 2001; FAWE et al. 2001; GOUSSAIN et al. 2002; FENG, 2004).

Além da nutrição mineral e de acordo com Bashan e Bashan (2010), a inoculação em sementes com bactérias diazotróficas, como *Azospirillum brasilense*, tem sido utilizadas, pois além de apresentarem baixo custo, melhoram o teor nutricional dos grãos, aumentam a fixação de nitrogênio, produzem fitormônios que estimulam o desenvolvimento e crescimento das raízes, aumentando a área de absorção de água e nutrientes, características que são capazes de promover o crescimento vegetal e gerar incrementos no desenvolvimento e na produtividade das culturas. Além disso, vários trabalhos com *Azospirillum* spp. têm demonstrado acúmulo de nutrientes por plantas inoculadas (REIS JÚNIOR et al., 2008; HUNGRIA, 2011; QUADROS et al., 2014).

Dessa forma, o efeito do silício no controle de pragas, está ligado à hipótese de formação de barreira física, fundamentada na forma do Si acumular-se nas plantas (FAWE et al., 2001) e o efeito da utilização de *Azospirillum brasilense*, está relacionado à hipótese de que plantas equilibradas nutricionalmente estarão menos suscetíveis ao ataque de agentes causadores de injúrias, considerando que o nutriente de maior importância para a cultura é o nitrogênio (ROBERTO, SILVA, LOBATO, 2010.) e a utilização deste inoculante *Azospirillum brasilense* promove a fixação biológica do mesmo.

Nesse sentido, Goussain et al. (2002), verificaram efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico de *S. frugiperda*, constatando também aumento no índice de mortalidade e canibalismo, possivelmente causado pela dificuldade na alimentação. Nascimento (2013) aplicou silício em plantas de arroz e verificou que este interferiu nos aspectos comportamentais de *S. frugiperda*.

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da utilização de inoculante biológico *A. brasilense* e silício em plantas de milho e sua influência na biologia e no comportamento de *S. frugiperda*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Entomologia e na casa de vegetação da Embrapa Soja, no município de Londrina/PR.

4.2.1 Criação de *Spodoptera frugiperda*

A população inicial foi obtida através de coleta em cultivo de milho, na cidade de Londrina/PR e as lagartas utilizadas estavam entre as gerações 30^a e 38^a. As lagartas utilizadas para realização dos experimentos foram obtidas do Laboratório de criação de lagartas da Embrapa Soja criadas em dieta artificial adaptada por Bowling (1967) (Tabela 1).

Tabela 1. Composição da dieta para criação de *Spodoptera frugiperda*, adaptada de Bowling (1967)

Ingredientes	Quantidade
Feijão carioca	100 g
Levedura de cerveja	15,0 g
Ácido ascórbico	3,0 g
Nipagin (metilparahidroxibenzoato)	1,0 g
Benzoato de sódio	0,5 g
Formaldeído	1,0 mL
Ágar (+250 mL de água destilada)	9,0 g
Água destilada	375,0 mL

A metodologia de criação utilizada foi adaptada de Santiago (2005), onde a dieta foi armazenada em copinhos plásticos de 50 mL sob refrigeração média, preenchidos com $\frac{1}{4}$ de dieta artificial, sendo retiradas horas antes da utilização para atingir a temperatura ambiente. Os ovos foram mantidos em copos de 200 mL vedados com papel fino e tampados com papelão fino, até a eclosão das lagartas. Posteriormente, foi adicionada dieta aos copos para alimentação das lagartas, até atingirem o terceiro instar, quando então foi realizada a repicagem, acondicionando-se duas lagartas por copinho plástico, sendo este vedado com tampinha de papelão fino. A dieta foi substituída quando se encontravam desidratadas, juntamente com uma avaliação de instar para acompanhamento do desenvolvimento da criação até atingir a fase de pupa, onde foi realizada a identificação dos sexos (BUTT; CANTU, 1962).

Após a identificação dos sexos, as pupas foram acondicionadas em Gerbox® e posteriormente em gaiolas de acrílico até a emergência dos adultos. Quando adultos permaneceram em gaiolas confeccionadas de acrílico com forma retangular sendo 50x30x30 cm (comprimento, largura e altura), revestido por folha sulfite A3. As mariposas foram alimentadas com algodão embebido em solução melífera a 10%. As gaiolas foram mantidas até o terceiro dia de oviposição, onde os ovos foram retirados diariamente e acondicionados em copos de 200 mL para utilização nos experimentos e/ou continuidade da criação.

4.2.2 Obtenção das sementes e cultivo das plantas

A semente utilizada foi a cultivar AL Bandeirante. A adubação foi de 30g/vaso de adubo formulado 08-28-16 (N-P-K), incorporado junto ao solo no momento do plantio. Foram semeadas 6 sementes em vasos de 12 L. Após verificar a primeira folha estendida (estádio fenológico V1) da planta foi realizado raleio, deixando 2 plantas/vaso. A irrigação foi realizada por sistema de gotejamento, sendo esses, gotejadores intrusos. A temperatura na casa de vegetação no período de realização de experimento (janeiro à fevereiro) oscilou entre 25 e 28°C.

4.2.3 Preparo das plantas

Os tratamentos com suas respectivas doses e forma de aplicação estão descritos na Tabela 2. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e 12 repetições (n=1).

Tabela 2. Descrição dos tratamentos, doses e formas de aplicação

Tratamentos	Descrição	Dose e aplicação
T1	Testemunha	-
T2	Inoculante A. brasilense (Grap Nod a®)	100 mL para 25 kg/semente aplicados 30 minutos antes do plantio
T3	Inoculante A. brasilense (Grap Nod a®) + Si solo (Diaflow®)	100 mL para 25 kg/semente aplicados 30 minutos antes do plantio e 4g de Diaflow® + 400 mL água destilada aplicados no solo 16 e 26 dias após o plantio
T4	Inoculante A. brasilense (Grap Nod a®) + Si foliar (Sifol®)	100 mL para 25 kg/semente aplicados 30 minutos antes do plantio e 10 mL de Sifol® + 1000 mL água destilada aplicados nas folhas 16 e 26 dias após o plantio até o escoamento da calda
T5	Si solo (Diaflow®)	4g de Diaflow® + 400 mL água destilada aplicados no solo 16 e 26 dias após o plantio
T6	Si foliar (Sifol®)	10 mL de Sifol® + 1000 mL água destilada aplicado nas folhas 16 e 26 dias após o plantio até o escoamento da calda

- = ausência de aplicação

4.2.4 Bioensaio 1: Preferência alimentar em teste de livre escolha

Lagartas de 2º instar e seções foliares de 2 cm de comprimento dos 6 tratamentos, foram dispostas aleatoriamente e equidistantes em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, com fundo revestido com papel filtro umedecido. Foram liberadas 10 lagartas no centro de cada placa. Após 24, 48 e 72 h foram contabilizadas as lagartas encontradas em cada tratamento. O experimento foi mantido em câmara climatizada do tipo BOD regulada a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 h e umidade relativa de $80\pm 10\%$. Este bioensaio foi conduzido em dois momentos, levando em consideração a primeira e segunda aplicação de silício que foram realizadas aos 16 e 26 dias após o plantio,

respectivamente. O primeiro ensaio foi realizado 4 dias após a primeira aplicação e o segundo foi realizado 2 dias após a segunda aplicação. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e 20 repetições.

4.2.5 Bioensaio 2: Sobrevivência de lagartas de 2º instar em teste sem chance de escolha

Este bioensaio foi conduzido em dois momentos, levando em consideração a primeira e segunda aplicação de silício que ocorreram aos 16 e 26 dias após o plantio, respectivamente. Dessa forma, o primeiro bioensaio foi conduzido aos 4 dias após a primeira aplicação e o segundo, 2 dias após a segunda aplicação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 20 repetições. Cada parcela foi constituída por placa de Petri de 10 cm de diâmetro, com fundo revestido com papel filtro umedecido, onde foi colocada uma seção foliar de 9 cm de comprimento. Sobre a folha foram liberadas 10 lagartas recém-eclodidas (até 24 h). As lagartas permaneceram neste conjunto até atingirem o 3º instar, sendo a seção foliar trocada diariamente. O experimento foi mantido em câmara climatizada do tipo BOD regulada a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 h e umidade relativa de $80\pm 10\%$.

Foram avaliados, a mortalidade e o canibalismo ao final do 2º instar, onde foram consideradas lagartas mortas àquelas que após estímulo se encontravam imóveis e sem mutilação no corpo. O canibalismo foi considerado quando as lagartas mortas estavam mutiladas ou encontravam-se somente as cápsulas cefálicas.

4.2.6 Bioensaio 3: Efeito do silício nas fases imaturas

Este bioensaio foi realizado 4 dias após a primeira aplicação de silício, sendo que no sexto dia de avaliação do experimento, as plantas receberam a segunda aplicação de silício. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com 6 tratamentos e 4 repetições. Cada repetição foi constituída por cinco copos plásticos de 100 mL com tampa, sendo o fundo revestido com papel filtro umedecido, nos quais foram colocados um pedaço de folha de aproximadamente 4 cm^2 e uma lagarta recém-eclodida (até 24 h) em cada copo. As seções foliares foram trocadas diariamente, ofertando-se alimento “*ad libitum*”. Os copos foram mantidos em câmara climatizada do tipo BOD regulada a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 h e umidade relativa de $80\pm 10\%$. Foram avaliados: duração fase larval (dias); razão sexual; peso de pupas (24 h após

a transformação); duração da fase de pupa (dias); deformação de adultos (número de indivíduos) e mortalidade total e em cada instar (%).

4.2.7 Análise Estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2014).

4.3 RESULTADOS

Preferência alimentar em teste de livre escolha

O comportamento de preferência alimentar, independentemente do número de aplicações de silício, foi pela testemunha em comparação aos demais tratamentos (Figuras 1 e 2). Aliado a isso, não houve a preferência alimentar pelos tratamentos contendo silício, principalmente na forma de aplicação diretamente na folha (Figuras 1 e 2).

No experimento com apenas uma aplicação de silício, observou-se que em todas as avaliações, 24, 48 e 72 horas após o início do experimento, o maior número de lagartas foi verificado na testemunha, e o tratamento que obteve menor média de preferência foi o que utilizou aplicação de silício foliar (Figura 1). Na segunda avaliação, 48 horas após o início do experimento, os tratamentos contendo inoculante + silício foliar, silício aplicado no solo ou silício aplicado na folha (T4, T5 e T6) apresentaram menor número de lagartas (Figura 1).

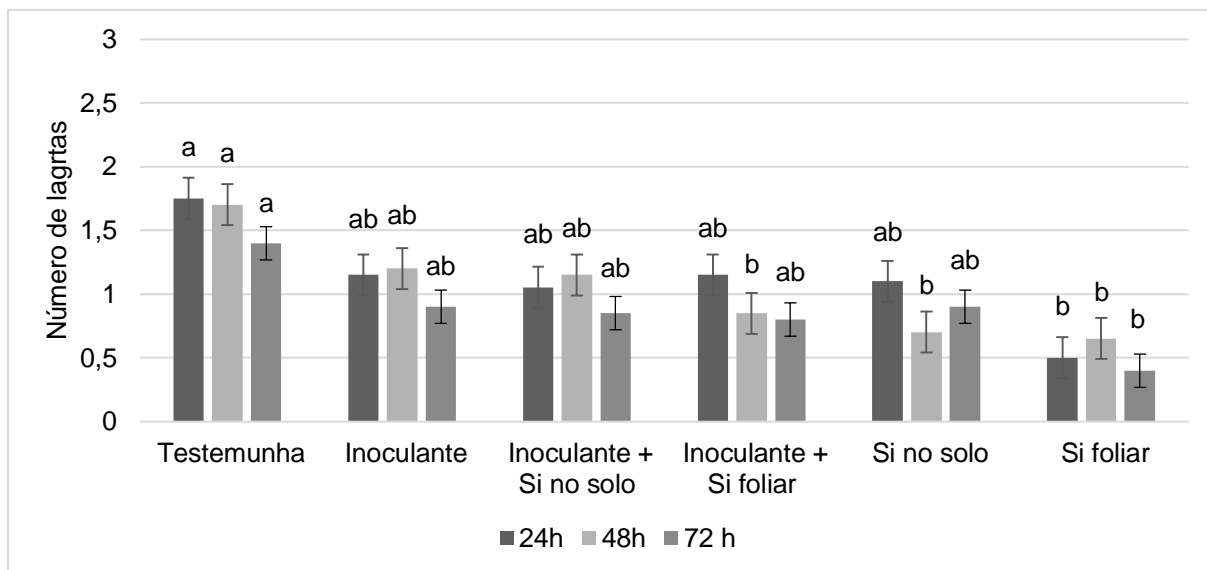


Figura 1. Média \pm EP do número de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho, com ou sem adição de inoculante e silício (apenas uma aplicação realizada aos 16 DAP), ao final do 2º instar a temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e UR de $80\pm 10\%$. Médias com diferenças pelo teste Tukey à 5% de significância. Dados transformados em “Raiz quadrada de $Y + 1.0 - \text{SQRT}(Y + 1.0)$ ”.

No segundo experimento, com duas aplicações de silício, constatou-se que decorridas 24, 48 e 72 horas após início do experimento, o maior número de lagartas foi encontrado na testemunha (Figura 2). Em contrapartida, verificou-se menor preferência alimentar de lagartas após 24 h do início do experimento nos tratamentos inoculante + silício foliar, silício no solo e silício foliar (Figura 2). Na segunda avaliação, 48 horas após início do experimento, observou-se menor preferência alimentar em todos os tratamentos, com exceção da testemunha e após 72 horas, o alimento que obteve menor preferência alimentar foi o composto por aplicação de inoculante e silício foliar (Figura 2).

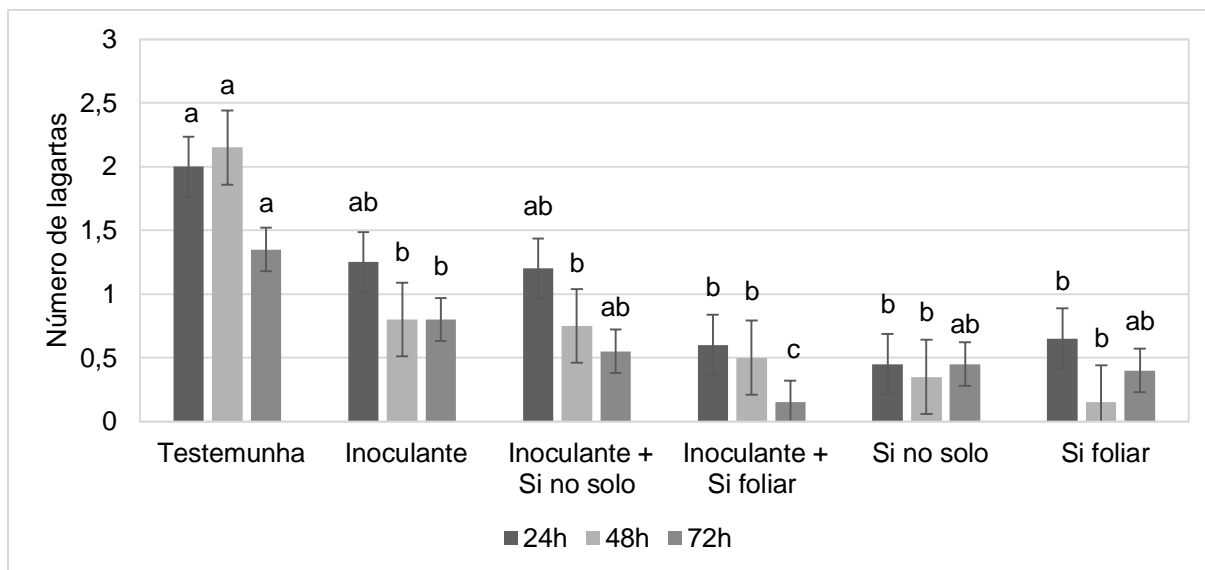


Figura 2. Média \pm EP do número de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho, com ou sem adição de inoculante e silício (duas aplicações aos 16 e 26 DAP), ao final do 2º instar a temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e UR de $80\pm 10\%$. Médias com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. Dados transformados em “Raiz quadrada de $Y + 1.0 - \text{SQRT}(Y + 1.0)$ ”.

Sobrevivência de lagartas de 2º instar em teste sem chance de escolha

Maior mortalidade e canibalismo de *S. frugiperda* ao final do 2º instar foi verificado para as lagartas alimentadas com folhas tratadas com inoculante e aplicação de silício foliar aos 16 dias após plantio (Figura 3).

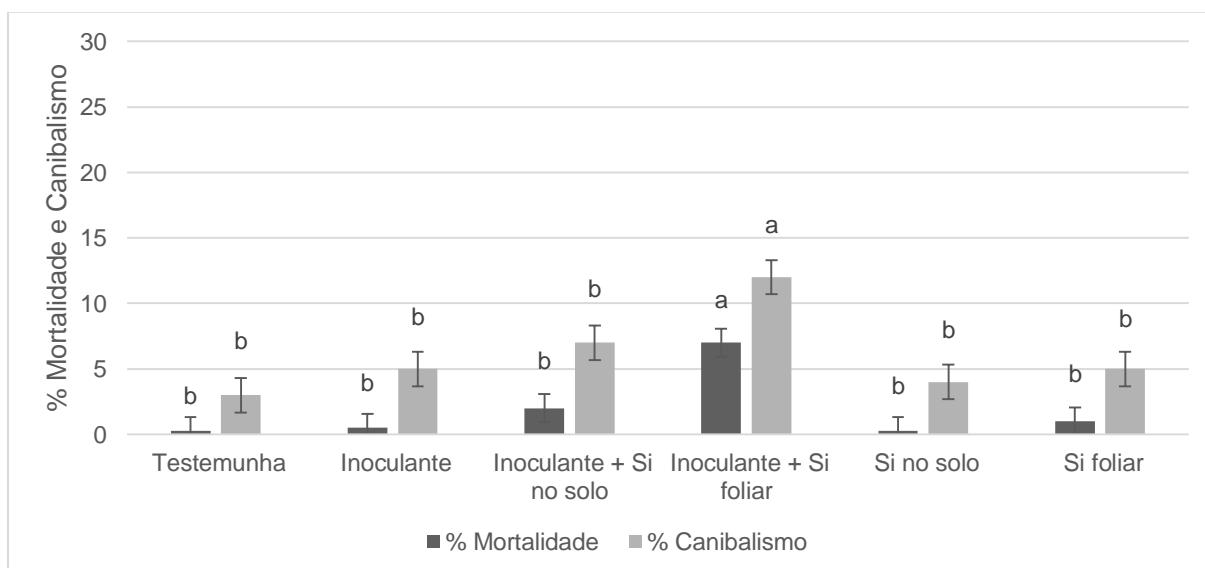


Figura 3. Percentual Médio \pm EP da Mortalidade e Canibalismo de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho, com ou sem adição de inoculante e silício (apenas uma aplicação aos 16 DAP), ao final do 2º instar a temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e UR de $80\pm 10\%$. Médias com diferenças significativas pelo teste de Tukey à 5% de significância. Dados transformados em “Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$ ”.

Em relação à mortalidade, o tratamento que apresentou maior média foi o que utilizou aplicações de silício foliar aos 16 e 26 dias após o plantio (Figura 4). Embora constatado a presença de canibalismo, em nenhum dos tratamentos foi verificada diferença (Figura 4).

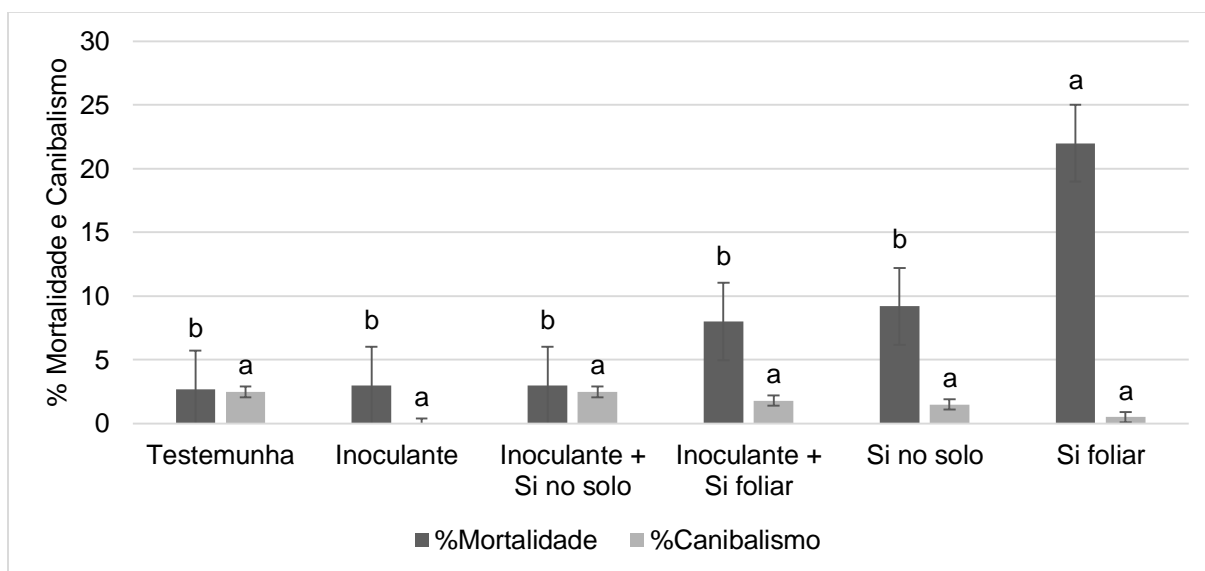


Figura 4. Percentual Médio \pm EP de da Mortalidade e Canibalismo de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho, com ou sem adição de inoculante e silício (duas aplicações aos 16 e 26 DAP), ao final do 2º instar a temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e UR de $80\pm 10\%$. Médias com diferenças significativas pelo teste de Tukey à 5% de significância. Dados transformados em "Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$ ".

Efeito do silício nas fases imaturas

Em relação à duração do período larval por instar, constatou-se maior duração do desenvolvimento larval apenas durante o 2º instar para os tratamentos que receberam aplicação de silício (Tabelas 1 e 2). Apesar dos demais instares não apresentarem diferença, observou-se aumento no período larval total nos tratamentos contendo inoculante + silício foliar, silício solo e silício foliar e o menor período larval foi verificado na testemunha (Tabela 2).

Tabela 1. Média±EP da duração da fase larval (dias) de *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de milho tratadas com inoculante e sílicio e acondicionadas à temperatura de 25±2°C, fotofase de 12h e UR de 80±10%.

Tratamentos	1º instar	2º instar	3º instar	4º instar
Testemunha	2,00±0,0 ^{ns}	1,20±0,48 a	1,23±0,44 ^{ns}	1,73±0,29 ^{ns}
Inoculante	2,00±0,0	1,12±0,50 a	1,55±0,55	1,57±0,54
Inoculante + Si solo	2,00±0,0	1,70±0,51 b	1,49±0,58	1,68±0,72
Inoculante + Si foliar	2,00±0,0	1,77±0,45 b	1,41±0,49	1,87±0,57
Si solo	2,00±0,0	1,70±0,49 b	1,61±0,80	1,87±0,63
Si foliar	2,00±0,0	1,82±0,49 b	1,62±0,38	1,89±0,36
CV (%)	2,03	13,71	25,48	17,65

*Médias±EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo.

Tabela 2. Média±EP da duração da fase larval (dias) de *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de milho tratadas com inoculante e sílicio e acondicionadas à temperatura de 25±2°C, fotofase de 12h e UR de 80±10%.

Tratamentos	5º instar	6º instar	Pré-Pupa	Total
Testemunha	2,08±0,39 ^{ns}	2,80±0,37 ^{ns}	2,00±0,00 ^{ns}	13,03±0,48 b
Inoculante	2,39±0,59	2,69±0,44	2,00±0,00	13,32±0,55 ab
Inoculante + Si solo	1,93±0,66	2,77±0,40	2,00±0,00	13,63±0,72 ab
Inoculante + Si foliar	1,94±0,49	2,96±0,52	2,00±0,00	13,96±0,73 a
Si solo	2,00±0,00	2,79±0,50	2,00±0,00	13,97±0,62 a
Si foliar	2,14±0,41	2,61±0,38	2,00±0,00	14,09±0,50 a
CV (%)	13,67	6,28	0,00	2,83

Médias±EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo.

A razão sexual, não diferiu entre os tratamentos avaliados (Tabela 3). A média do peso de pupas foi maior na testemunha e menor nos tratamentos que continham sílicio foliar (Tabela 3). Em relação à duração da fase de pupa, houve diferença entre a testemunha e os demais tratamentos, onde foi possível constatar menor e maior duração, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Média \pm EP da Razão sexual; peso de pupas (g) e duração fase de pupa (dias) de *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de milho tratadas com inoculante e silício e acondicionadas à temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e UR de $80\pm 10\%$.

Tratamentos	Razão sexual ¹	Peso de Pupa (g)	Pupas (dias)
Testemunha	0,15 \pm 0,61 ^{ns}	0,32 \pm 0,15 a	10,25 \pm 0,44 b
Inoculante	0,05 \pm 0,49	0,28 \pm 0,16 ab	11,19 \pm 0,74 a
Inoculante + Si solo	0,10 \pm 0,68	0,27 \pm 0,17 ab	11,67 \pm 0,69 a
Inoculante + Si foliar	0,10 \pm 0,64	0,25 \pm 0,12 b	11,67 \pm 0,49 a
Si solo	0,10 \pm 0,64	0,27 \pm 0,18 ab	11,33 \pm 0,49 a
Si foliar	0,10 \pm 0,70	0,26 \pm 0,13 b	11,33 \pm 0,69 a
CV (%)	19,25	9,21	3,42

Médias \pm EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo.

¹Dados transformados em raiz quadrada de $Y + 0,5 - \text{SQRT}(Y + 0,5)$

Na deformação das asas de adultos houve diferença entre os tratamentos, onde o maior número de indivíduos deformados foram aqueles alimentados com folhas de milho tratadas com silício foliar (Tabela 4). Os tratamentos inoculante *A. brasilense* e testemunha apresentaram menor média de deformação de adultos (Tabela 4).

Tabela 4. Média \pm EP de deformação de adultos de *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de milho tratadas com inoculante e silício e acondicionadas à temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e UR de $80\pm 10\%$

Tratamentos	Nº indivíduos deformados
Testemunha	0,25 \pm 0,71 b
Inoculante	0,25 \pm 0,71 b
Inoculante + Si solo	0,50 \pm 0,76 ab
Inoculante + Si foliar	1,25 \pm 0,71 ab
Si solo	1,25 \pm 1,12 ab
Si foliar	2,00 \pm 0,90 a
CV (%)	18,74

Médias \pm EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. Dados transformados em raiz quadrada de $Y + 1,0 - \text{SQRT}(Y + 1,0)$

Na mortalidade total de lagartas, nos tratamentos com Si foliar e inoculante + Si solo foram verificados os maiores índices de mortalidade sendo 65% e 55%, respectivamente (Tabela 5). Já os tratamentos inoculante + Si foliar e Si solo apresentaram mortalidade de 45%. O maior índice de mortalidade encontrou-se na fase de pré-pupa, no 2º e 1º instar, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5. Mortalidade (%) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de milho tratadas com inoculante e silício e acondicionadas à temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, fotofase de 12h e UR de $80\pm 10\%$.

Tratamentos	1º instar	2º instar	3º instar	4º instar	5º instar	6º instar	Pré-pupa	Total
Testemunha	0	0	5	0	0	0	0	5
Inoculante	0	5	0	5	0	0	10	20
Inoculante + Si solo	0	20	0	0	5	0	30	55
Inoculante + Si foliar	0	15	0	0	0	0	30	45
Si solo	15	5	0	0	0	0	25	45
Si foliar	15	15	0	0	0	0	35	65

4.4 DISCUSSÃO

A preferência alimentar de lagartas de segundo instar por folhas não tratadas com silício, possivelmente ocorreu pela provável deposição de sílica amorfa na parede celular da epiderme dos tecidos vegetais, caracterizando uma barreira física, elevando a dureza dos tecidos nas plantas e reduzindo a digestibilidade e o acesso ao nitrogênio e carbono durante a digestão (KEEPING, KVEDARAS, BRUTON, 2009; DIAS et al., 2014).

Os resultados obtidos são semelhantes aos relatados por Nascimento et al. (2014), que verificou não preferência alimentar em plantas de arroz tratadas com silício em relação a testemunha, desta forma concluiu que a aplicação de silício em arroz afeta a preferência alimentar de lagartas de *S. frugiperda*. Além disso, os resultados foram melhores com a aplicação via foliar trazendo mais praticidade no momento da aplicação para o produtor, conforme também relatado por Reis et al., (2007).

Diante dos resultados verificados neste trabalho e sua correlação com trabalhos semelhantes em culturas da família Poacea (Reis et al., 2007), é possível presumir que a preferência alimentar de lagartas-do-cartucho está diretamente correlacionada a deposição de silício nas folhas de milho. O uso de inoculante biológico *A. brasilense* também interferiu na preferência alimentar de lagartas de segundo instar, esse fato pode ter ocorrido devido às bactérias desse inoculante atuarem no crescimento da planta através de produção de substâncias promotoras de desenvolvimento, proporcionando melhor crescimento radicular, melhorando absorção de água e nutrientes e resultando assim em uma planta mais vigorosa (CORREA et al. 2008; HUNGRIA, 2011), o que, possivelmente torna a planta menos atrativa à insetos (DOURADO NETO, SEVERINO, 2001).

A mortalidade e canibalismo verificados nos tratamentos com silício foliar, possivelmente, estão correlacionados ao aumento na rigidez do tecido foliar. Semelhante a esse resultado foi o de Goussain et al. (2002), o qual verificou mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* em 2º instar tratadas com silício. Diante disso é possível correlacionar esses resultados com a hipótese de que o Si aumenta a resistência dos tecidos das plantas, aumentando a espessura da epiderme, o que dificulta a mastigação de insetos pragas, como lagartas (DATNOFF, SNYDER, KORNDÖRFER, 2001), acarretando na morte dos mesmos.

No entanto, o inoculante *A. brasilense* também apresentou influência em relação ao índice de canibalismo, quando utilizado junto à aplicação de Si foliar. Esse resultado possivelmente pode ter ocorrido pelo fato de *A. brasilense* possibilitar fixação biológica de nitrogênio e aumentar a absorção de nutrientes (HUNGRIA, 2011). Podendo, neste caso, ter aumentado a absorção de silício, acarretando à este tipo de comportamento, o qual é favorecido quando há estresse alimentar de *S. frugiperda*.

Embora haja trabalhos que se refiram ao aumento de absorção de nutrientes utilizando esta bactéria na inoculação de sementes, há poucos estudos que correlacionam *A. brasilense* com o controle de pragas (ALBUQUERQUE et al., 2015). Dessa forma, apenas é possível propor a hipótese de que essa bactéria possivelmente favorece a absorção da planta quanto ao silício, possibilitando o enrijecimento dos tecidos dificultando a alimentação das lagartas. No entanto, com duas aplicações de silício, embora tenha sido verificado canibalismo, não foi observada diferença entre os tratamentos. Diferentemente deste resultado, no que se refere a mortalidade e

canibalismo, Goussain et al. (2002), observou que o canibalismo foi maior que a mortalidade, quando confinou lagartas *S. frugiperda* com folhas tratadas com silício. No entanto, vale ressaltar que neste trabalho, com duas aplicações de silício foliar, a mortalidade de lagartas aumentou exponencialmente, o que pode explicar o baixo índice de canibalismo.

Em relação ao menor período de desenvolvimento observado no segundo instar larval este está, possivelmente, correlacionado a maior palatabilidade e digestibilidade de folhas sem adição de silício, acelerando o desenvolvimento nesse respectivo instar, considerando a aceitação do alimento, já que a partir desse período larval, as lagartas iniciam o processo de raspagem das folhas, ocasionando pequenas injúrias. No entanto, apesar de não ter sido verificado diferenças nos demais instares de forma isolada, observou-se que na duração larval total as maiores médias foram observadas nas folhas que receberam tratamentos à base de silício, corroborando com a hipótese supracitada. Ainda, esses resultados podem ter relação com a qualidade e quantidade do alimento consumido nesta fase, pois de acordo com Antunes et al. (2010), isso pode afetar o desenvolvimento larval isolado e/ou total. Em contrapartida, Nascimento (2013), não verificou diferenças na fase larval total utilizando silício em plantas de arroz.

Na fase de pupa, observou-se menor média de duração na testemunha, expressando emergência de adultos antes que os demais tratamentos e, conseqüentemente acelerando o ciclo de reprodução destas pragas. Divergindo com esses resultados, Nascimento (2013) e Nogueira et al. (2018), não verificaram diferenças na fase de pupa quando alimentaram lagartas com plantas de arroz tratadas e não tratadas com silício.

No que se refere ao peso de pupas observou-se maior média na testemunha, o que sugere que essas lagartas tiveram alimentação sem fatores limitantes, como rigidez de tecidos foliares, ocasionados pelo silício. Semelhante à este resultado, Antunes et al. (2010), verificou que a alimentação de *S. frugiperda* com plantas de milho não tratadas com silício obtiveram maiores pesos de pupas em relação às que foram alimentadas com plantas tratadas com silício. Nesse sentido, considera-se o peso de pupas de grande importância, pois assimila-se que quanto mais pesada a pupa, maior será o adulto emergido e conseqüentemente, maior será a aceitação e acesso a cópula, aumentando a reprodução desta espécie (PANIZZI; PARRA, 2009).

As menores médias de peso de pupa foram verificadas novamente nos tratamentos com aplicação de silício foliar, nesse caso considerando também facilidade na aplicação do produto, tendo vantagens em relação ao método *drench*. Apesar de não ter obtido o melhor resultado, o inoculante *A. brasilense* também exerceu efeito no peso de pupas quando aliado com o silício foliar, ligando-se a hipótese de ter melhorado a nutrição das plantas, podendo também ter elevado a absorção de silício.

Os tratamentos não influenciaram a razão sexual, dessa forma é possível inferir que os tratamentos utilizados não atuam na determinação dos sexos da espécie estudada. Em contrapartida Nogueira et al. (2018), constatou diferenças na razão sexual quando comparou lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com plantas de arroz sem e com adição de silício. Antunes et al. (2010), relata que a razão sexual pode ser afetada pela qualidade e quantidade de alimento consumido na fase larval, assim como outros parâmetros da espécie (taxa de crescimento, tempo de desenvolvimento, peso final, dispersão e sobrevivência) e, em certos casos, também a fecundidade, a fertilidade e a dispersão dos adultos.

A maior taxa de indivíduos com asas deformadas nos tratamentos que receberam silício, pode estar correlacionada com a inadequação nutricional do alimento ofertado às lagartas, causando esta anormalidade (JUSTI JR, 1994). Adicionalmente, Parolin (2012), também observou aumento desta anomalia em *S. frugiperda* quando tratou plantas de milho com silício. Importante enfatizar que há poucos trabalhos que indiquem que o silício causa deformação em adultos de *S. frugiperda*.

O silício apresentou influência em diversos parâmetros avaliados neste trabalho, incluindo a mortalidade de *S. frugiperda*. A maior mortalidade verificada na fase de pré-pupa sugere que os tratamentos com silício reduziram a alimentação das lagartas, não permitindo que as mesmas acumulassem energia suficiente para o processo de metamorfose. Possivelmente, isso tenha ocorrido pela deposição de sílica nos tecidos foliares impedindo que as lagartas se alimentassem adequadamente, nesse caso, não atendendo as exigências nutricionais da espécie. Nesse sentido, vale ressaltar que a nutrição dos insetos classifica-se em aspectos qualitativos e quantitativos. Os aspectos qualitativos se referem às exigências nutricionais básicas divididos entre nutrientes essenciais e não essenciais (PARRA, PANIZZI, HADDAD, 2009), podendo este aspecto ter correlação com os resultados

alcançados neste trabalho. Ainda esses autores relatam que os aspectos quantitativos da nutrição, referem-se a quantidade de alimento ingerido, digerido, assimilado e convertido em tecidos de crescimento. Porém, não pode se afirmar que as lagartas tenham ingerido menores quantidades de alimento, pois o consumo foliar não foi avaliado. O efeito do silício também pode estar associado à alterações hormonais nas lagartas, interferindo na ecdise e, conseqüentemente, afetando a metamorfose das mesmas (BOGORNI, VENDRAMIM, 2005).

De forma geral, o maior índice de mortalidade verificado nos tratamentos que receberam silício pode estar diretamente relacionado à hipótese de barreira física a qual o silício proporciona às plantas, tornando os tecidos mais rígidos (FAWE et al., 2001), podendo ocasionar estresse alimentar e conseqüentemente, aumentar o índice de mortalidade. Semelhante a esses resultados, Antunes et al. (2010), verificaram em seu trabalho que o silício exerceu aumento na mortalidade larval tanto em plantas de milho como em plantas de girassol, podendo ser um método promissor para redução da susceptibilidade de milho e girassol à *S. frugiperda*, fato observado também neste trabalho.

Acredita-se que os resultados obtidos com silício neste trabalho se dão, possivelmente pela promoção de resistência à pragas (JONES, HANDRECK, 1967; MALAVOLTA, 1980; MARSCHNER, 1995). Ainda, conforme Malavolta (1980), a absorção e acumulação nas células da planta, varia de espécie para espécie. Diante disso, é importante destacar que as gramíneas tem maior capacidade de acumular silício, com isso levando à supressão da alimentação das lagartas e alterações no seu desenvolvimento e comportamento.

4.5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se considerar o silício como alternativa em redução de injurias ocasionadas por *S. frugiperda*. Além disso, a aplicação foliar apresentou-se mais eficiente em relação a via *drench*, considerando a praticidade ao produtor rural no momento da aplicação, podendo, ser alternativa não somente aos produtores de base ecológica mas de maneira geral, tendo em vista em diminuir a aplicações de inseticidas sintéticos. Por fim, é importante ressaltar que há necessidade de mais estudos, a fim de conhecer o impacto do consumo foliar, pois, o maior índice de mortalidade foi observado na fase de pré-pupa. Quanto ao uso do

inoculante *A. brasilense* de modo geral não houve efeito direto nos parâmetros avaliados, sugerindo que o mesmo pode ter exercido efeito em parâmetros fisiológicos da planta, os quais não foram avaliados neste trabalho, tendo necessidade assim de outros estudos, já que o mesmo não teve efeito de forma isolada.

4.6 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, F. A.; LIMA, J. M.; CAVALCANTI, R. W. G.; BORIN, A. L. D. C.; SARAIVA, J. P. *Azospirillum* spp. como potencial indutor de resistência a *Alabama argillacea* (Hub) em plantas de algodoeiro. **Resumo**. Embrapa. 2015.

ALCOFORADO, P. A. U. G. **Aspectos do Silício no sistema solo-planta**: UFLA, 1996. 53p. (datilografado).

ANTUNES, C. S.; MORAES, J. C.; COSTA, M. B.; ANTONIO, A.; LIMA, R. K. Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho e girassol tratados com silício. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 2010. **Anais...** Lavras- MG.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. (2010) How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in agronomy**, 108:77-136.

BOWLING, C. C. Rearing of two lepidopterous pests of rice on common artificial diet. *Annals of the Entomological Society of America*, **College Park**, v. 60, n. 6, p. 1215-1216, 1967.

BOGORNI, P.C.; VENDRAMIM, J. D. 2005. Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology** 34: 311-317.

BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. Washington, DC: USDA, 1962. 7 p.

CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum* brasilense-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, p.87-95, 2008.

DATNOFF, L.E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. Silicon on Agriculture. Amsterdam: **Elsevier Science**, 2001. 403p.

DIAS, P. A. S.; SAMPAIO, M. V.; RODRIGUES, M. P.; KORNDÖRFER, A. P.; OLIVEIRA, R. S.; FERREIRA, S. E.; KORNDÖRFER, G. H. Induction of resistance by silicon in wheat plants to alate and apterous morphs of *Sitobion avenae* (Hemiptera:

- Aphididae). *Environmental Entomology*, **Oxford**, v. 43, n. 4, p. 949-956, ago.2014.DOI: 10.1603/EN13234.
- DOURADO NETO, D.; SEVERINO, F. J. **A teoria da Trofobiose**. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Departamento de Produção Vegetal. Seminários em Fitotecnia. Piracicaba-SP. 2001.
- EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings National of Academy Science**, v. 91, p. 11-17, 1994.
- EPSTEIN, E. Photosynthesis, inorganic plant nutrition, solutions, and problems. **Photosynthesis Research**, v. 46, p. 37-39, 1995.
- EPSTEIN, E. Silicon in plants: facts vs concepts, in: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (eds.). Silicon in agriculture. The Netherlands: **Elsevier Science**, 2001. 403 p.
- FAWE, A.; MENZIES, J.G.; CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R.R. Silicon and disease resistance in dicotyledons, in: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (eds.). Silicon in agriculture. The Netherlands: **Elsevier Science**, 2001. 403 p.
- FENG, M. J. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. **Soil Science and Plant Nutrition**. v. 50, n. 1, p. 11-18, 2004.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n.2, p. 109-112, 2014.
- GOUSSAIN, M. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 305-310, abr./jun. 2002.
- HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Documentos 325. **Embrapa Soja**, Londrina – PR, 2011. 36 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29560/1/DOC325.2011.pdf>>. Acesso em: 23 maio 2019.
- JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica in soils, plant and animals. **Advances in Agronomy**, v. 19, p. 107-149, 1967.
- JUSTI JUNIOR, J. **Desenvolvimento de uma dieta artificial e técnicas de criação de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em laboratório**. Piracicaba, 1994. 75p. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- KEEPING, M. G.; KVEDARAS, O. L.; BRUTON, A. G. Epidermal silicon on sugarcane: cultivar differences and role in resistance to sugarcane borer *Eldanasaccharina*. *Environmental and Experimental Botany*, **Oxford**, v. 60, n. 1, p. 54-60, 2009.DOI:10.1016/j.envexpbot.2008.12.012.

MALAVOLTA, E. Elementos de nutrição mineral de plantas. São Paulo: Agronômica. **Revista Ceres**. 251 p. 1980.

MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of higher plants. New York: **Academic Press**, 887p. 1995.

NASCIMENTO, A. M. **Indução de Resistência em arroz a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) pela aplicação de Silício**. 2013. 45 p. Dissertação. Universidade Federal de Lavras. Lavras – MG.

NASCIMENTO, A. M.; ASSIS, F. A.; MORAES, J. C.; SAKOMURA, R. Não preferência a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) induzida em arroz pela aplicação de silício. 2014. *Brazilian Journal of Agricultural Sciences*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 9, 215–218.

NOGUEIRA, A. M.; JESUS, K. A.; LINS JUNIOR, J. C.; BEZERRA, C. E. S. Efeito do silício no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do arroz. 2018. **Connection line** n.19 - 2018 ISSN 1980-7341.

QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**. vol.61. nº 2. Viçosa – MG. Mar./Apr. 2014.

PANIZZI, R.A.; PARRA, J.R.P. **Consumo e utilização do alimento para o crescimento da fase larval**. In: Ed.). Bioecologia e nutrição de insetos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. Cap.2, p.65- 90.

PAROLIN, F. J. T. **Aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho sob efeito de silício, ácido giberélico ga3 e herbivoria prévia**. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia) LAVRAS – MG: Universidade Federal de Lavras (UFLA), 2012.

PARRA, J.R.P.; PANIZZI, A.R; HADDAD, M.L Índices nutricionais para medir consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A.R; PARRA, J.R.R. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009. p.37-90.

REIS JUNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.

REIS, T. H. P.; GUIMARÃES, P. T. G.; FIGUEIREDO, F. C.; POZZA, A. A. A.; NOGUEIRA, F. D.; RODRIGUES, C. R. **O silício na nutrição e defesa de plantas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2007.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. Resposta da Cultura do Milho a Aplicação de Diferentes Doses de Inoculante (*Azospirillum brasilense*) Via Semente.

In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. 2010. **Anais...** Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. CD-Rom.

SANTIAGO, G. P. **Avaliação dos efeitos de extratos aquosos de plantas sobre a biologia da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) mantida em dieta artificial.** 2005. 110f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de concentração Produção vegetal). Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI. 2005.

SILOTO, R. C. **Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em genótipos de milho.** 2002, 93 p. Dissertação (Mestrado em entomologia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

WISEMAM, B. R. Cumulative effects of antibiosis on five biological parameters of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, v. 82, n. 2, p. 277-283, 1999.

WISEMAM, B. R.; WIDSTRON, N. W. Mechanisms of resistance in "Zapalote Chico" corn silks to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 5, p. 1390-1393, 1986.

CAPÍTULO 2: INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E QUANTIFICAÇÃO DE SILÍCIO EM MILHO TRATADO COM *Azospirillum brasilense* E SILÍCIO

RESUMO

Conhecidos os efeitos dos agrotóxicos no ser humano e no meio ambiente, busca-se cada vez mais métodos de controle que possam contribuir tanto com o agricultor quanto com o meio ambiente. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de *Azospirillum brasilense* e silício na indução de resistência da plantas através da expressão da atividade enzimática peroxidase e fenilalanina amônia-liase (FAL), bem como a determinação da quantidade de silício no tecido vegetal através do método amarelo. Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Biotecnologia e em casa de vegetação da Embrapa Soja, município de Londrina/PR e nos laboratórios de Fitopatologia e Física dos Solos da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul/PR*. Os tratamentos utilizados foram: T₁: testemunha; T₂: *A. brasilense*; T₃: *A. brasilense* + Si solo; T₄: *A. brasilense* + Si foliar; T₅: Si solo e T₆: Si foliar. A aplicação dos produtos à base de silício ocorreram 16 e 26 DAP (dias após o plantio). As folhas foram coletadas 96h e 48h após a primeira e segunda aplicação de silício, respectivamente, sendo coletadas folhas que se apresentavam completamente abertas e presas ao cartucho (folhas novas) e folhas que se apresentavam completamente abertas e fora do cartucho (folhas velhas) e posteriormente realizados dois bioensaios. Bioensaio 1: quantitativo de silício em folhas novas e velhas através de utilização do método amarelo. Bioensaio 2: indução de resistência na planta em folhas novas e folhas velhas, a partir da atividade das enzimas peroxidase e fenilalanina amônia-liase (FAL). Os bioensaios foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 4 repetições. Os resultados não foram significativos para os tratamentos em nenhum dos bioensaios tanto para folhas novas quanto para folhas velhas. No entanto, para o quantitativo de silício, observou-se que folhas velhas apresentaram maior percentual no quantitativo de silício nos tratamentos Si foliar com aplicação 16 DAP e *A. brasilense* + Si foliar e Si solo com aplicações 16 e 26 DAP. Conclui-se que o silício tende a não se redistribuir das folhas velhas para as folhas novas e neste trabalho a indução de resistência por meio de aumento na atividade enzimática peroxidase e fenilalanina amônia-liase não ocorreu, tendo necessidade de maiores estudos nesta área. Também verificou-se que

o inoculante *A. brasilense* não exerceu efeito nos parâmetros avaliados de forma direta.

Palavras-chaves: peroxidase, fenilalanina amônia-liase, resistência de plantas.

CHAPTER 2: INDUCTION OF RESISTANCE AND QUANTIFICATION OF SILICON IN CORN TREATED WITH *Azospirillum brasilense* AND SILICON

ABSTRACT

Knowing the effects of pesticides on humans and the environment, we are increasingly seeking control methods that can contribute to both the farmer and the environment. In this sense, the objective of this work was to evaluate the influence of *Azospirillum brasilense* and silicon on the induction of plant resistance through the expression of the enzymatic activity peroxidase and phenylalanine ammonia lyase (FAL), as well as the determination of the amount of silicon in the plant tissue through of the yellow method. The experiments were conducted at the Biotechnology laboratory and greenhouse of Embrapa Soja, municipality of Londrina/PR and at the Phytopathology and Soil Physics laboratories of the Federal University of Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul/PR*. The treatments used were: T₁: witness; T₂: *A. brasilense*; T₃: *A. brasilense* + Si solo; T₄: *A. brasilense* + leaf Si; T₅: Si solo and T₆: Si leaf. The application of silicon-based products occurred 16 and 26 DAP (days after planting). The leaves were collected 96h and 48h after the first and second application of silicon, respectively, and leaves that were completely open and attached to the cartridge (new leaves) and leaves that were completely open and out of the cartridge (old leaves) and two bioassays were subsequently performed. Bioassay 1: Quantitative silicon in new and old leaves using the yellow method. Bioassay 2: Induction of resistance in the plant in young and old leaves, from the activity of the enzymes peroxidase and phenylalanine ammonia lyase (FAL). The bioassays were performed in a completely randomized design with 6 treatments and 4 replications. Results were not significant for treatments in either bioassay for either new or old leaves. However, for the quantity of silicon, it was observed that old leaves presented higher percentage in the quantity of silicon in treatments Si foliar with application 16 DAP and *A. brasilense* + Si foliar and Si soil with applications 16 and 26 DAP. It was concluded that silicon tends not to redistribute from the old leaves to the new leaves and in this work the induction of resistance by increasing the enzymatic activity peroxidase and phenylalanine ammonia lyase did not occur, requiring further studies in this area. It was also verified that the inoculant *A. brasilense* had no effect on the parameters evaluated directly.

Key-words: peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, plant resistance.

5.1 INTRODUÇÃO

A espécie *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), ataca várias culturas, porém, assume status de praga-chave na cultura do milho (VALICENTE, 2015). Nos últimos anos o ataque deste inseto praga vem aumentando e, pode estar relacionado à grande oferta de hospedeiro ao longo do ano, contribuindo assim, em dificuldades no manejo de *S. frugiperda* (BARROS; TORRES; BUENO, 2010). O controle desta praga geralmente é realizado com inseticidas e/ou através de utilização de híbridos resistentes (CRUZ, 2013). Entretanto, essas formas de controle além de apresentarem custo relativamente alto, não contempla produtores de base ecológica.

Além disso, esses métodos de controle apresentam efeitos adversos na saúde e no meio ambiente (SOARES, 2010). Por essa razão, procura-se cada vez mais métodos de controle de pragas que possam contribuir com a diminuição da utilização destes produtos, a fim de reduzir também os danos que eles causam. Neste contexto, a indução de resistência em plantas utilizando silício apresenta-se como possível alternativa (YOSHIDA, 1982; LOCATELLI, 2017).

Nesse sentido, alguns trabalhos relatam que a aplicação de silício tem aumentado a resistência das plantas, principalmente em gramíneas (GOUSSAIN et al., 2002; NASCIMENTO, 2013; COSTA; MORAES; ANTUNES, 2007). A resistência induzida corresponde ao aumento da capacidade de defesa da planta contra patógenos e insetos-pragas (DIXON; HARRISON; LAMB, 1994). A expressão da resistência induzida pode ser local ou ainda, sistêmica quando ela é expressa em locais não expostos diretamente ao agente indutor, podendo ocorrer após a exposição de agentes bióticos e/ou abióticos, no qual o silício se encaixa (VAN LOON; BAKKER; PIETERSE, 1998; STADINIK, 2000). A defesa induzida nas plantas, utilizando silício, ocorre em razão da formação de barreiras mecânicas e/ou pela alteração das respostas bioquímicas da planta ao ataque de herbívoros, aumentando a síntese de toxinas que podem agir como substâncias inibidoras ou repelentes (EPSTEIN, 1994; MARSCHNER, 1995; DANNON; WYDRA, 2004) e também pode aumentar os mecanismos de defesa, incluindo acúmulo de lignina e compostos fenólicos.

Pode-se dizer que a resistência das plantas envolve a ativação de mecanismos latentes, frente a indutores externos, sem qualquer alteração no genoma da planta (BAYSAL et al., 2003). Nesse sentido, as alterações nas atividades de enzimas-

chave permitem acompanhar o estado de indução de resistência em plantas expostas ao agente indutor (MACAGNAN et al., 2008). Entre essas enzimas, estão as peroxidases e a fenilalanina amônia-liase (FAL) (BAYSAL et al., 2003).

As peroxidases, oxidam substratos orgânicos por meio da eliminação do peróxido de hidrogênio, espécie reativa de oxigênio e aceptora de elétrons. Além disso, essas enzimas participam do crescimento e do desenvolvimento vegetais, da destoxificação celular e de mecanismos de defesa como lignificação, cicatrização de ferimentos e oxidação de compostos fenólicos (BAYSAL et al., 2003). A fenilalanina amônia-liase (FAL) é fundamental na biossíntese de fenilpropanóis e participa da síntese de monômeros de lignina, ácido salicílico, fitoalexinas e flavonóides (GERASIMOVA et al., 2005).

Outro fator importante é a determinação de quantidade de silício no tecido vegetal, com o método amarelo. Este método parte do pressuposto de que quanto mais amarela a solução, maior a quantidade de silício no material vegetal. A cor amarela é formada pela reação entre o silício e o molibdato de amônio em meio ácido. O método amarelo tem sido utilizado para a determinação de silício no tecido vegetal (HALLMARK, et al., 1982; KORNDÖRFER; PEREIRA; NOLLA, 2004).

O inoculante biológico *Azospirillum brasilense* tem sido utilizado em gramíneas por melhorar aspectos de absorção de água e nutrientes, além de promover a fixação biológica de nitrogênio (HUNGRIA, 2011). No entanto, há poucos trabalhos que se refiram ao aumento de resistência das plantas. Diante disso, a utilização de *A. brasilense* liga-se à hipótese de aumento da absorção de silício nas plantas e visa verificar se o mesmo também pode ser um agente indutor de resistência em plantas.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do silício e do inoculante *A. brasilense* na indução de resistência da planta através da expressão da atividade enzimática peroxidase e fenilalanina amônia-liase (FAL), bem como determinar a quantidade de silício no tecido vegetal através do método amarelo.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Biotecnologia e na casa de vegetação da Embrapa-CNPSO, no município de Londrina/PR e também, nos laboratórios de Fitopatologia e Física dos Solos da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul/PR*.

5.2.1 Obtenção das sementes e cultivo das plantas

A semente utilizada foi a cultivar AL Bandeirante. A adubação foi de 30g/vaso de adubo formulado 08-28-16 (N-P-K), incorporado junto à solo convencional no momento do plantio. Foram semeadas 6 sementes em vasos de 12 L, após verificar a primeira folha estendida da planta foi realizado raleio (estádio fenológico V1), deixando 2 plantas/vaso. A irrigação foi realizada por sistema de gotejamento, sendo esses, gotejadores intrusos. A temperatura na casa de vegetação no período de realização de experimento (janeiro à fevereiro) oscilou entre 25 e 28°C.

5.2.2 Preparo das plantas

Os tratamentos com suas respectivas doses e formas de aplicação estão descritos na Tabela 2. Foram coletadas folhas novas e folhas velhas, 96h e 48h após a primeira e segunda aplicação, respectivamente. Foram consideradas folhas novas, aquelas que se apresentavam completamente abertas e presas ao cartucho (folhas do cartucho) e, folhas velhas, aquelas que se apresentavam completamente abertas e fora do cartucho (folhas expandidas). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e 12 repetições (n=1).

Tabela 1. Descrição dos tratamentos, doses e formas e de aplicação

Tratamentos	Descrição	Dose e aplicação
T1	Testemunha	-
T2	Inoculante <i>A. brasilense</i> (Grap Nod a®)	100 mL para 25 kg/semente aplicados 30 minutos antes do plantio
T3	Inoculante <i>A. brasilense</i> (Grap Nod a®) + Si solo (Diaflow®)	100 mL para 25 kg/semente aplicados 30 minutos antes do plantio e 4g de Diaflow® + 400 mL água destilada aplicados no solo 16 e 26 dias após o plantio
T4	Inoculante <i>A. brasilense</i> (Grap Nod a®) + Si foliar (Sifol®)	100 mL para 25 kg/semente aplicados 30 minutos antes do plantio e 10 mL de Sifol® + 1000 mL água destilada aplicados nas folhas 16 e 26 dias após o plantio até o escoamento da calda
T5	Si solo (Diaflow®)	4g de Diaflow® + 400 mL água destilada aplicados no solo 16 e 26 dias após o plantio
T6	Si foliar (Sifol®)	10 mL de Sifol® + 1000 mL água destilada aplicado nas folhas 16 e 26 dias após o plantio até o escoamento da calda

- = ausência de aplicação

5.2.3 Bioensaio 1: Quantitativo de silício na folha através da utilização do método amarelo

A metodologia utilizada para esses procedimentos foi adaptada por Korndörfer, Pereira e Nolla (2004). Para tanto, foi realizado o pré-tratamento, seguindo os passos: 1) secagem prévia do material ao ar livre para retirar excesso de umidade; 2) lavagem das folhas em uma solução detergente; 3) passagem das folhas em água destilada, retirando o detergente; 4) secagem das folhas em estufa de circulação forçada à 65° C até peso constante; 5) secagem do material por mais 30 minutos à 60° C; 6) moagem do material em moinho Willey com peneira 2,5 mm e; 7) acondicionamento

e identificação do material moído em sacos ou tubos plásticos até a utilização das análises, seguindo as etapas descritas abaixo.

Extração/digestão: foi pesado 0,1000 g do material vegetal moído e acondicionados em tubos de polipropileno de 100 mL, adicionado 2 mL de H₂O₂ (300 ou 500 g L⁻¹) sendo posteriormente agitado (agitador magnético) por alguns segundos. Esse e os demais procedimentos foram efetuados dentro da capela com luvas plásticas, onde foi adicionado 3 mL de NaOH (500 g L⁻¹) e agitado novamente. O controle da digestão foi realizado mediante o uso do agitador para tubos tipo Vortex, sendo colocados os tubos em banho-maria (85°C) por aproximadamente 1 hora. Depois que os extratos/amostras não estavam mais liberando gases, os tubos foram tampados e acondicionados na autoclave por 1h à 123°C e 1,5 atm (20 psig), onde foi adicionado 45 mL de água destilada. Posteriormente foi transferido o extrato para frasco plástico identificado, onde permaneceu em repouso até que os resíduos ficassem depositados no fundo do tubo.

Determinação das amostras: foi acondicionado uma alíquota de 1 mL do sobrenadante do extrato em copo plástico de 50 mL, onde foi acrescentado 19 mL de água destilada.

Determinação dos Padrões (0, 2, 4, 6 e 8 mg L⁻¹ de Si): foi pipetado 0; 2; 4; 6 e 8 mL da solução padrão de 50 ppm de Si e colocado em balões de 50 mL, onde foi completado o volume dos balões com água destilada. Posteriormente, foi pipetado uma alíquota de 20 mL de cada padrão (0, 2, 4, 6 e 8 mg L⁻¹ de Si) e foi colocado em copo plástico de 50 mL, onde foram adicionados aos copos plásticos dos padrões e das amostras (extratos digeridos) 1 mL de HCl (1:1 ou 500 g L⁻¹) + 2 mL de molibdato de amônio e foram agitados levemente. Sendo que, quanto mais amarelo, maior a concentração de Si na solução. Decorridos 5 a 10 minutos, foi adicionado 2 mL de ácido oxálico, agitando levemente a solução. Depois de 2 minutos foi realizada a leitura em Espectrofotômetro UV-Visível no comprimento de onda de 410 nm %T. A curva padrão para o cálculo de concentração de silício (ppm) foi de $y = -6,9775x + 96,724$ ($R^2 = 0,9802$).

5.2.4 Bioensaio 2: Indução de enzimas de defesa

As folhas coletadas foram armazenadas em tubo do tipo Falcon de 50 mL, onde foram mantidas em caixa de isopor com gelo, até serem congeladas à -20°C. Posteriormente, este material passou pelo processo de liofilização, onde foi submetido

à -50°C por 30 horas. Para o preparo dos extratos, foi utilizada 1,0 g de folhas liofilizadas de cada tratamento.

O material liofilizado foi macerado em cadinho contendo 0,04 g de polivinilpirrolidona (PVP) e 4 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 molar pH 6,8. Posteriormente, foi acondicionado em tubos de eppendorf (2 mL) e levados para centrífuga durante vinte minutos (14.500 rpm) a 4°C . Após esse procedimento, o sobrenadante foi acondicionado em outro eppendorf e congelado imediatamente as amostras até as posteriores análises. Foram determinados os teores de peroxidases e fenilalanina amônia-liase (FAL).

5.2.4.1 Peroxidase

A atividade de peroxidases foi determinada espectrofotometricamente pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol a 470 nm (LUSSO; PASCHOLATI, 1999). A mistura de reação foi realizada em cubeta de 3mL e consistiu de 0,2 mL de extrato protéico e 2,8 mL do substrato paraenzima (306 μL de peróxido de hidrogênio P.A., 12,5 mL de guaiacol a 2% e 87,5 mL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0)). A reação foi conduzida a 30°C por um minuto. A atividade foi determinada pela variação ocorrida entre os valores extremos situados na faixa de incremento linear. Os resultados foram expressos em unidades de absorvância a 470 nm min^{-1}mg proteína $^{-1}$.

5.2.4.2 Fenilalanina amônia-liase (FAL)

A atividade de fenilalanina amônia-liase foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Umesha (2006), onde 100 μL do extrato enzimático foram acrescidos de 400 μL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8) e 500 μL de solução de L-fenilalanina 0,05 M (825,9 mg diluído em 100 mL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8)). Incubou-se essa mistura a 40°C durante 2 h. Ao final desse período adicionaram-se 60 μL de HCl 5 M para cessar a reação, seguindo-se a leitura em espectrofotômetro a 290 nm. A atividade de fenilalanina amônia-liase consistiu da diferença entre a absorvância da mistura contendo amostra e do controle (100 μL de extrato enzimático e 900 μL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8)), a qual foi plotada em curva padrão para ácido transcinâmico e expressa em mg de ácido transcinâmico h^{-1} mg proteína $^{-1}$.

5.2.5 Análise Estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar versão 5.6 (FERREIRA, 2014).

5.3 RESULTADOS

Quantitativo de silício na folha através da utilização do método amarelo

Não foram verificadas diferenças entre os tratamentos no quantitativo de silício nas folhas através do método amarelo, tanto em folhas novas quanto velhas, quando receberam uma aplicação de Si (Tabela 1). Porém, houve diferença entre as médias de folhas novas e folhas velhas no tratamento contendo Si foliar, onde folhas velhas apresentaram maior média (Tabela 1).

Tabela 1. Média \pm EP do quantitativo de silício nas folhas novas (folhas do cartucho) e folhas velhas (folhas expandidas) através do método amarelo com aplicação aos 16 DAP (dias após o plantio)

Tratamentos	Folha nova (%) ¹	Folha velha (%)
Testemunha	0,61 \pm 0,51 aA	0,88 \pm 0,47 aA
<i>A. brasilense</i>	0,82 \pm 0,30 aA	1,17 \pm 0,66 aA
<i>A. brasilense</i> + Si solo	0,83 \pm 0,60 aA	1,19 \pm 0,44 aA
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	0,77 \pm 0,64 aA	1,23 \pm 0,68 aA
Si solo	1,02 \pm 0,63 aA	1,28 \pm 0,44 aA
Si foliar	0,59 \pm 0,47 aB	1,32 \pm 0,51 aA
CV (%)	20,20	27,27

Médias \pm EP com diferenças significativas expressas por letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna pelo teste Tukey à 5% de significância.

¹Dados transformado em "Raiz quadrada - SQRT (Y)".

Quando realizou-se duas aplicações de Si, não verificou-se diferença entre os tratamentos no quantitativo de silício utilizando o método amarelo em folhas novas e folhas velhas (Tabela 2). No entanto, as folhas velhas dos tratamentos *A. brasilense* + Si foliar e Si solo apresentaram maior quantidade de Si em relação às folhas novas (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem \pm EP do quantitativo de silício folhas novas (folhas do cartucho) e folhas velhas (folhas expandidas) através do método amarelo com aplicações aos 16 e 26 DAP (dias após plantio)

Tratamentos	Folha nova (%) ¹	Folha velha (%) ²
Testemunha	0,32 \pm 0,44 aA	0,69 \pm 0,58 aA
<i>A. brasilense</i>	0,26 \pm 0,32 aA	0,52 \pm 0,51 aA
<i>A. brasilense</i> + Si solo	0,75 \pm 0,70 aA	1,14 \pm 0,59 aA
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	0,66 \pm 0,41 aB	0,99 \pm 0,17 aA
Si solo	0,50 \pm 0,39 aB	1,26 \pm 0,58 aA
Si foliar	0,53 \pm 0,61 aA	1,37 \pm 0,61 aA
CV (%)	13,34	15,20

Médias \pm EP com diferenças significativas expressas por letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo.

¹Dados transformados em "Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$ ".

²Dados transformados em "Raiz quadrada - $\text{SQRT}(Y)$ ".

Peroxidase

Não observou-se diferenças entre os tratamentos para a atividade enzimática de peroxidase em folhas novas e folhas velhas quando utilizou-se uma aplicação aos 16 DAP (Tabela 3). Também não houve diferenças entre folhas novas e folhas velhas nos tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Atividade enzimática de Peroxidase ($\text{Abs min}^{-1} \cdot \text{mg.proteína}^{-1}$) em folhas novas (folhas do cartucho) e folhas velhas (folhas expandidas) com aplicação de silício aos 16 DAP (dias após o plantio)

Tratamentos	Folha nova	Folha velha
Testemunha	0,04 \pm 0,24 ^{ns}	1,06 \pm 0,99 ^{ns}
<i>A. brasilense</i>	0,24 \pm 0,68	0,20 \pm 0,39
<i>A. brasilense</i> + Si solo	0,05 \pm 0,14	0,28 \pm 0,57
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	0,14 \pm 0,44	1,10 \pm 0,98
Si solo	0,02 \pm 0,07	0,36 \pm 0,62
Si foliar	0,25 \pm 0,67	0,37 \pm 0,52
CV (%)	18,39	28,28

Médias \pm EP sem diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo. Dados transformados em "Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$ ".

Para duas aplicações de Si, também não foi verificada diferença entre os tratamentos e tampouco entre folhas novas e velhas (Tabela 4).

Tabela 4. Atividade enzimática de Peroxidase ($\text{Abs min}^{-1} \cdot \text{mg.proteína}^{-1}$) em folhas novas (folhas do cartucho) e folhas velhas (folhas expandidas) com aplicações de silício aos 16 e 26 DAP (dias após o plantio)

Tratamentos	Folha nova	Folha velha
Testemunha	0,03±0,12 ^{ns}	0,38±0,64 ^{ns}
<i>A. brasilense</i>	0,15±0,41	0,51±0,68
<i>A. brasilense</i> + Si solo	0,12±0,44	0,46±0,61
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	0,12±0,19	0,33±0,42
Si solo	0,13±0,29	0,31±0,41
Si foliar	0,12±0,31	0,36±0,51
CV (%)	9,63	18,66

Médias±EP sem diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo
Dados transformados em "Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$."

Fenilalanina amônia-liase (FAL)

Não constatou-se diferença na atividade de fenilalanina amônia-liase (FAL) em nenhum dos tratamentos, tanto em folhas novas, quanto em folhas velhas com uma aplicação de Si (Tabela 5).

Tabela 5. Atividade enzimática de fenilalanina amônia-liase (FAL) ($\text{Abs min}^{-1} \cdot \text{mg.proteína}^{-1}$) folhas novas (folhas do cartucho) e folhas velhas (folhas expandidas) com aplicação de silício aos 16 DAP (dias após o plantio)

Tratamentos	Folha nova ¹	Folha velha ²
Testemunha	1,46±1,14 ^{ns}	0,27±0,50 ^{ns}
<i>A. brasilense</i>	2,36±1,41	0,26±0,61
<i>A. brasilense</i> + Si solo	2,04±1,27	0,44±0,51
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	1,60±1,30	0,23±0,37
Si solo	1,49±0,91	0,20±0,35
Si foliar	1,30±0,95	0,28±0,56
CV (%)	25,31	17,64

*Médias±EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo

¹Dados transformados em: "Raiz quadrada de $Y + 1.0 - \text{SQRT}(Y + 1.0)$ "

²Dados transformados em: "Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$ "

Para duas aplicações de silício também, não houve diferença entre os tratamentos tanto para folhas novas quanto em folhas velhas na atividade de fenilalanina amônia-liase (FAL) (Tabela 6).

Tabela 6. Atividade enzimática de fenilalanina amônia-liase (FAL) ($\text{Abs min}^{-1} \cdot \text{mg.proteína}^{-1}$) folhas novas (folhas do cartucho) e folhas velhas (folhas expandidas) com aplicações de silício 16 e 26 DAP (dias após o plantio)

Tratamentos	Folha nova	Folha velha
Testemunha	0,48±0,40 ^{ns}	0,27±0,48 ^{ns}
<i>A. brasilense</i>	0,59±0,63	0,68±0,63
<i>A. brasilense</i> + Si solo	0,90±0,64	0,87±0,65
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	0,78±0,94	0,20±0,39
Si solo	0,72±0,92	0,20±0,41
Si foliar	0,70±0,47	0,42±0,56
CV (%)	23,01	15,60

*Médias±EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo

Dados transformados em: "Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$ ".

5.4 DISCUSSÃO

O maior percentual de silício observado em folhas velhas em relação às folhas novas, pode estar relacionado com a mobilidade do silício na planta, sugerindo assim que houve maior acúmulo em folhas velhas, não sendo redistribuído para as folhas novas. Os resultados obtidos são semelhantes aos relatados por Oliveira (2009), quando aplicou silício em plantas de arroz e feijão, onde considerou as folhas produzidas durante o período de aplicação da solução com silício como folhas velhas e, as folhas produzidas após a retirada da solução de silício como folhas novas, observando que o silício depositado nos tecidos das folhas velhas das plantas de arroz e feijão foi imobilizado e não redistribuído para as folhas novas. Ainda, Oliveira (2009) relata que isso ocorre pela forma que o silício é depositado nas plantas (sílica amorfa $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), caracterizando o silício como pouco móvel ou imóvel nas mesmas. Pois, o silício combina com compostos orgânicos celulares, como celulose e hemicelulose, o que faz com que o mesmo seja dificilmente mobilizado. Em tese, os depósitos de silício nas partes velhas da planta, provavelmente, não podem ser redistribuídos para as partes novas. Neste contexto, Wise, Nikolic e Römheld (2007), relatam que a concentração de sílica é maior na parte aérea do que na raiz, com maior concentração nas folhas velhas do que nas folhas novas e maiores na parte basal (mais velha) do que na apical (mais nova) em folhas de gramíneas.

Apesar de ter poucos trabalhos que relatem a influência do uso de inoculante *A. brasilense* juntamente com o silício, esse também expressou maior percentual no quantitativo de silício em folhas velhas, possivelmente pelo fato de melhorar o crescimento radicular e aumentar a absorção de água e nutrientes (HUNGRIA, 2011). Diante disso, sugere-se que o uso de *A. brasilense* pode ter aumentado a absorção de silício levando à este efeito.

O silício quando acumulado na epiderme das folhas pode ativar genes envolvidos na produção de compostos secundários do metabolismo e também em enzimas relacionadas ao mecanismo de defesa das plantas (GRATÃO et al., 2005), como peroxidase e fenilalanina amônia-liase (FAL) (GOMES et al., 2005). Ainda Gomes et al. (2005), relatam que tanto a peroxidase quanto a fenilalanina amônia-liase (FAL) são enzimas envolvidas na rota de síntese da lignina a partir de compostos fenólicos, na via dos fenilpropanóides.

O aumento da atividade de peroxidase e fenilalanina amônia-liase (FAL) estão diretamente ligadas ao aumento na resistência das plantas contra adversidades, as quais possam causar déficits no desenvolvimento da mesma, como ataque de pragas e doenças (SCHALLENBERGER, 1994; JANAS et al., 2000).

No entanto, esta ação não foi verificada neste trabalho, podendo ter relação com a temperatura no momento da coleta, já que as temperaturas no período do experimento (janeiro à fevereiro) na região norte do Paraná foram elevadas, com médias entre 25,1°C e 24°C, respectivamente (LABORATÓRIO AGROMETEREOLOGIA – EMBRAPA SOJA, 2019). Essa inferência é corroborada por Gobbo-Neto e Lopes (2007), temperaturas elevadas levam à perda excessiva de metabólitos secundários das plantas. Essa perda acontece pela degradação dos tecido foliar (DUARTE FILHO, 2010).

Em contramão com este trabalho, Gomes et al. (2005), constataram aumento na atividade de peroxidase em plantas de trigo com adubação silicatada. Também divergindo deste trabalho, Gomes et al. (2008), verificaram aumento na atividade de peroxidase em plantas de batatas quando receberam aplicação de silício via solo e via foliar em relação às plantas que não receberam aplicações de silício.

A enzima peroxidase se destaca no cenário biotecnológico, pelo fato de serem encontradas em várias fontes na natureza e por não dependerem de cofatores e atuarem sobre um amplo número de substratos (MOHAMED et al., 2011). Essa enzima é do grupo das oxido redutoras e participa de vários processos fisiológicos, como a lignificação, ressaltando assim a importância da mesma (GOMES et al., 2005).

Em relação a fenilalanina amônia-liase (FAL), corroborando com este trabalho, Gomes et al. (2005) não verificaram aumento da atividade de FAL em folhas de trigo quando utilizaram silício. Gomes et al. (2008), também observaram que a adubação silicatada não exerceu efeito na atividade de FAL em plantas de batatas. Já Guerra et al. (2013), constataram que a adubação silicatada em algodoeiro aumentou a atividade de fenilalanina amônia-liase (FAL), divergindo deste trabalho.

A fenilalanina amônia-liase (FAL) é uma enzima que desperta bastante interesse entre os estudiosos devido à sua importância no metabolismo secundário das plantas. A FAL destaca-se como enzima chave e regulatória da rota de biossíntese de fenilpropanóides e seus derivados (CHENG et al., 2001). Ainda de acordo com os referidos autores, essa enzima é responsável pela desaminação do aminoácido L-fenilalanina, alterando-o em ácido trans-cinâmico e amônia, podendo

ser incorporado em vários compostos fenólicos, os quais estão presentes na formação de ésteres, cumarinas, flavonóides e ligninas. Importante ressaltar que a FAL é estimulada e regulada por fatores ambientais, tais como nível nutricional das plantas, luminosidade, entre outros fatores (BARROS et al., 2010).

De acordo com os resultados obtidos, sugere-se que o silício tende a não se redistribuir das partes velhas para as partes novas da planta, devido à baixa mobilidade do mesmo (OLIVEIRA, 2009). Deve salientar-se que, embora alguns trabalhos tenham relacionado o uso de silício com o aumento de atividades enzimáticas como peroxidase e FAL, os produtos utilizados neste trabalho não conferiram tal efeito. Então, presume-se que o silício neste trabalho possa ter conferido apenas barreira física. No entanto, há necessidade de outros estudos para tal afirmação. Também é importante considerar que não há trabalhos que correlacionam a utilização de inoculante *A. brasilense* com as atividades enzimáticas, e aqui neste trabalho também não houve esta correlação, sugerindo que o inoculante atua em outras áreas fisiológicas como maior crescimento radicular, maior altura de plantas e maior teor de clorofila e, não diretamente na atividade enzimática de indução de resistência das plantas.

5.5 CONCLUSÃO

O silício não é redistribuído de folhas velhas para folhas novas e, também neste trabalho não teve efeito na indução de resistência tanto em folhas velhas quanto em folhas, por meio de atividade de peroxidase e fenilalanina amônia-liase (FAL). Entretanto, é necessário outros estudos para conferir o efeito de silício na indução de resistência da planta. O uso do inoculante *A. brasilense* também não exerceu efeito direto nos parâmetros avaliados, necessitando outros estudos para comprovar seu efeito nos parâmetros fisiológicos da planta.

5.6 REFERÊNCIAS

BARROS, F. C; SAGATA, E; FERREIRA, L, C, C., JULIATTI, F, C. Indução De Resistência em Plantas Contra Fitopatógenos. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 231-239, 2010.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology**, v. 39, n.6, p. 996-1001, 2010.

BAYSAL, O.; SOYLU, E.M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. **Plant Pathology**, v.52, p.747-753, 2003.

CHENG, S. H., SHEEN, J., GERRISH, C.; BOLWELL, G. P. Molecular identification of phenylalanine ammonia-lyase as a substrate of a specific constitutively active *Arabidopsis* CDPK expressed in maize protoplasts. **FEBS Letters**, v.503, n.2/3, p.185-8, 2001.

COSTA, R. R.; MORAES, J. C.; ANTUNES, C. S. Resistência induzida em trigo ao pulgão *Schizaphis graminum* (hemiptera: aphididae) por silício e acibenzolar-s-methyl. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 393-397, mar./abr. 2007.

CRUZ, I. Pragas emergentes em lavouras de milho transgênico Bt. In: SEMINÁRIO NACIONAL MILHO SAFRINHA XII, 2013. **Anais...** Dourados – MS. 21p.

DANNON, E. A; WYDRA, K. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 64, n. 5, p. 233-243, May 2004.

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

DUARTE FILHO, P. **Cinética Enzimática**. Universidade Federal do Pampa. Bagé - RS. 2010.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings National of Academy Science of the United State of América**, Washington, v. 91, n. 1, p. 11-17, jan. 1994.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v.38, n.2, p. 109-112, 2014.

GERASIMOVA, N.G.; PRIDVOROVA, S.M.; OZERETSKOVSKAYA, O.L. Role of L-phenylalanine ammonia-lyase in the induced resistance and susceptibility of potato plants. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.41, p.103-105, 2005.

GOBBO NETO, L., LOPES, N.P. Plantas Medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-81, 2007.

GOMES, F. B.; MORAES, J. C.; SANTOS, C. D.; GOUSSAIN, M. M. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 6, p. 547-551, nov./dez. 2005.

GOMES, F. B.; MORAIS, J. C.; SANTOS, C. D.; ANTUNES, C. S. Uso de Silício como Indutor de Resistência em Batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Lavras –MG, v. 37, n. 2, p. 185-190, mar./abr. 2008.

GOUSSAIN, M. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G. NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 305-310, 2002.

GRATÃO, P. L.; POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v.32, p.481-494, 2005.

GUERRA, A. M. N. M.; RODRIGUES, F. A.; BERGER, P. G.; BARROS, A. F.; SILVA, Y. C. R.; LIMA, T. C. Aspectos bioquímicos da resistência do algodoeiro à ramulose potencializada pelo silício. 2 **Bragantia**, Campinas - SP, v. 72, n. 3, p.292-303, 2013.

HALLMARK, C.T.; WILDING, L.P.; & SMECK, N.E. Silicon. Methods of Soil Analysis, Chemical and Microbiological Properties v.2.: Madison, **Agronomy Monograph** n. 9. p. 263-273. 1982.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Documentos 325. **Embrapa Soja**, Londrina – PR, 2011. 36 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29560/1/DOC325.2011.pdf>>. Acesso em: 27 jun. 2019.

JANAS, K.; CVIKROVÁ, M.; PALAGIEWICZ, A.; EDER, J. Alterations in phenylpropanoid content in soybean roots during low temperature acclimation. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.38, n.7/ 8, p.587-93, 2000.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; NOLLA, A. Análise de silício: solo, planta e fertilizante. **Boletim técnico**, 2 ed. Uberlândia, n.1, p.34, 2004.

LOCATELLI, B. T. **Indução de resistência por agentes abióticos em soja à mosca-branca**. Dissertação de mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Dois Vizinhos – PR. 2017. 68 p.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.25, p.244-249, 1999.

MACAGNAN, D.; ROMEIRO, R. S.; BARACAT-PEREIRA, M. C.; LANNA-FILHO, R.; BATISTA, G.S.; POMELLA, A.W.V. Atividade de enzimas associadas ao estado de indução em mudas de cacauzeiro expostas a dois actinomicetos residentes de filoplano. **Summa Phytopathologica**, v.34, p.34-37, 2008.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. New York: **Academic Press**, 1995. 889p.

MOHAMED, S. A.; ABULNAJA, K. O.; ADS, A. S.; KHAN, J. A.; KUMOSANI, T. A. Characterisation of an anionic peroxidase from horseradish cv. **Food Chemistry**, v. 128, 725-730, 2011.

NASCIMENTO, A. M. **Indução de Resistência em arroz a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) pela aplicação de Silício**. 2013. 45 p. Dissertação. Universidade Federal de Lavras. Lavras – MG.

OLIVEIRA, L. A. **Silício em plantas de feijão e arroz: absorção, transporte, redistribuição e tolerância ao cádmio**. 2009. 158 p. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. Piracicaba – SP.

SOARES, W. L. **Uso dos agrotóxicos e seus impactos à saúde e ao ambiente: uma avaliação integrada entre a economia, a saúde pública, a ecologia e a agricultura**. Tese (doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente). Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, 2010.

STADINIK, M. J. Indução de resistência a oídios. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 26, p.175-177, 2000.

SCHALLENBERGER, E. **Fatores que predisõem as plantas cítricas ao ataque de coleobrocas**. Botucatu. 110p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura), Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista. 1994.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, v.34, n.1, p.68-71, 2006.

VALICENTE, F. H. **Manejo integrado de pragas na cultura do milho**. Circular Técnica 208, Embrapa Milho e Sorgo, p. 01-03. Jun. 2015.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p.453-483, 1998.

WIESE, H.; NIKOLIC, M.; RÖMHELD, V. Silicon in plant nutrition - Effects on zinc, manganese and boron leaf concentrations and compartmentation. In: SATTELMACHER, B.; HORST, W.J. (Ed.). **The apoplast of higher plants: compartment of storage, transport and reactions**. London: Springer, 2007. p. 33-47.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of Rice Crop Science**. Philippines: International Rice Research Institute. 1981.

CAPÍTULO 3: CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) COM UTILIZAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* E SILÍCIO EM PLANTAS DE MILHO SOB CONDIÇÕES DE CAMPO

RESUMO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* ataca o cartucho da planta de milho, podendo acarretar em morte da mesma. Diante das conhecidas consequências em função do uso de produto químico e variedades geneticamente modificadas para o controle desta espécie, cresce a busca de alternativas que induzem a resistência da planta, dentre elas a utilização de substâncias como o silício e inoculantes biológicos. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da utilização de inoculante biológico *Azospirillum brasilense* e da aplicação de silício no solo e na planta, com objetivo de reduzir ou controlar populações de lagarta-do-cartucho. Para avaliar essa hipótese foi conduzido um ensaio na área experimental da EMBRAPA-CNPSo, em Londrina/PR, na safra 2018/2019. O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso, realizado a partir de 4 repetições por tratamento, contendo área de 100 m², com bordadura de 1 m e espaçamento 0,80 m entre plantas, contendo 6 plantas por metro. Os tratamentos foram: T₁: testemunha; T₂: Inoculante *A. brasilense*; T₃: Inoculante *A. brasilense* + Silício no solo; T₄: Inoculante *A. brasilense* + Silício foliar; T₅: Silício no solo e T₆: Silício foliar. A inoculação foi realizada 30 minutos antes do plantio, deixando a semente em contato com o inoculante. As aplicações de silício ocorreram 16 e 26 dias após o plantio. As avaliações se iniciaram em estágio fenológico V3 e seguiram até o pendoamento da cultura, sendo: 1) Injúrias foliares, onde semanalmente foram avaliadas 80 plantas por tratamento, utilizando-se escala de notas de injúria (0 a 5); 2) Parasitismo de *S. frugiperda*, semanalmente partir da coleta semanal de 20 “cartuchos” por tratamento, os quais foram acondicionados em sacos plásticos identificados sendo que as lagartas coletadas nas plantas foram dispostas, individualmente, em dieta artificial onde ficaram até emergência do adulto ou parasitoide e 3) Ocorrência de inimigos naturais, que foram quantificados a partir das mesmas plantas coletadas para avaliação de parasitismo. Os resultados mostraram maiores injurias de milho na testemunha a partir do estágio fenológico V7 e V8 até o pendoamento e menores injurias em todos os tratamentos contendo silício no período vegetativo total. No entanto, não houve diferença entre os tratamentos em

relação ao total de número de lagartas, número de lagartas parasitadas e número de predadores. Conclui-se que o silício pode ser considerado como método complementar na redução de injúrias causadas por *S. frugiperda*. Quanto ao uso do *A. brasilense* de modo geral não verificou-se ação direta do mesmo, porém o uso dele tende auxiliar na fixação biológica de nitrogênio, o que considera-se de grande importância na nutrição de plantas.

Palavras-chaves: lagarta-do-cartucho, injúria, controle alternativo; controle biológico.

CHAPTER 3: CONTROL OF *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) WITH USING *Azospirillum brasilense* AND SILICON IN CORN PLANTS UNDER FIELD CONDITIONS

ABSTRACT

The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, attacks the corn plant cartridge and can lead to its death. Given the known consequences due to the use of chemical and genetically modified varieties for the control of this species, the search for alternatives that induce plant resistance, including the use of substances such as silicon and biological inoculants, is growing. In this context, the objective of this work was to evaluate the effects of the use of biological inoculant *Azospirillum brasilense* and the application of silicon in the soil and plant, with the objective of reducing or controlling the larvae populations. To evaluate this hypothesis, a trial was conducted in the experimental area of EMBRAPA-CNPSo, in Londrina/PR, in the 2018/2019 crop. The experimental design was randomized blocks, made from 4 repetitions per treatment, with an area of 100 m², with a border of 1 m and spacing 0.80 m between plants, containing 6 plants per meter. The treatments were: T1: control; T2: Inoculant *A. brasilense*; T3: Inoculant *A. brasilense* + Silicon in soil; T4: Inoculant *A. brasilense* + Leaf Silicon; T5: Silicon in soil and T6: Leaf silicon. Inoculation was performed 30 minutes before planting, leaving the seed in contact with the inoculant. Silicon applications occurred 16 and 26 days after planting. The evaluations began at the V3 phenological stage and continued until the crop was harvested, as follows: 1) Leaf Injuries, where 80 plants per treatment were evaluated weekly, using injury score scale (0 to 5); 2) *S. frugiperda* parasitism, weekly from the weekly collection of 20 "cartridges" per treatment, which were placed in identified plastic bags and the larvae collected in the plants were individually placed on artificial diet where they remained until adult emergence. or parasitoid and 3) Occurrence of natural enemies, which were quantified from the same plants collected for parasitism evaluation. All results were subjected to analysis of variance and the means that met the parametric assumptions were compared by Tukey test with 5% probability of error. The results showed higher corn injuries in the control from the phenological stage V7 and V8 until the tearing and lower injuries in all treatments containing silicon in the total vegetative period. However, there was no difference between treatments regarding total number of caterpillars, number of parasitized

caterpillars and number of predators. It can be concluded that silicon can be considered as a complementary method to reduce injuries caused by *S. frugiperda*. Regarding the use of *A. brasilense* in general there was no direct action of it, but its use tends to assist in the biological fixation of nitrogen, which is considered of great importance in plant nutrition.

Key-words: fall armyworm, injury, alternative control, biological control.

6.1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie muito cultivada, por sua grande importância econômica e utilização. Porém, diversos fatores levam a perda de produção e qualidade, como, o ataque de pragas. Alguns insetos trazem grandes prejuízos, como é o caso de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797), considerada praga-chave da cultura (PREZOTO; MACHADO, 1998).

A lagarta deste inseto pode atacar todos os estádios de desenvolvimento da planta, assumindo grande importância no México, América Central e América do Sul. Esta praga pode atacar várias famílias botânicas (RUBIN, 2009), sendo o controle químico e a utilização de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs), os métodos mais utilizados para seu controle.

O ataque deste inseto praga pode ser favorecido por fatores que desequilibram o metabolismo da planta, pois uma planta quando se submete a estresse, fica suscetível ao ataque de pragas e doenças (DOURADO NETO; SEVERINO, 2001). Considerando, os agravamentos a saúde humana e ecossistemas, é necessária a priorização da utilização de produtos alternativos, os quais podem induzir as plantas à resistência (LOCATELLI, 2017). A indução de resistência apresenta-se como alternativa promissora, pois, possui vantagens na efetividade contra insetos, e outros agentes, como, vírus, bactéria, fungos e nematoides (PASCHOLATI, 2002).

O aumento da resistência de plantas através da aplicação de silício tem sido muito utilizado no controle desta praga, pois esse elemento se acumula e polimeriza nas paredes das células foliares, formando uma barreira física, dificultando o ataque de pragas (YOSHIDA, 1981). Essas mudanças anatômicas nos tecidos, ocorre devido à deposição de sílica nas mesmas, favorecendo também, melhor arquitetura das plantas (BÉLANGER; MENZIES, 2003).

Além disso, o silício tem sido utilizado contra diminuição de injúrias foliares (desfolha) causadas por *S. frugiperda* (PERDOMO, 2017). Ainda sobre o efeito do silício, Kvedaras et al. (2010), conduziram um trabalho aplicando silicato de potássio em plantas de pepino, onde verificaram a existência de interação entre Si e jasmonatos (JA), agindo dessa forma, na defesa contra insetos e na atratividade de inimigos naturais, tendo elevado efeito no controle biológico. Nesse sentido, considera-se a utilização de silício como alternativa no controle de pragas, bem como seu uso considerado ecologicamente correto e viável ao produtor de base ecológica.

Considerando a importância da promoção deste tipo de agricultura, apresenta-se como alternativa para a redução de uso de fertilizantes químicos nitrogenados, a fixação biológica de nitrogênio (FBN), através da utilização de inoculante biológico com bactérias diazotróficas. Nesse sentido, é importante ressaltar que o nitrogênio (N) é o nutriente mais importante da cultura do milho, pois exerce importantes funções no metabolismo vegetal (DARTORA et al., 2013). *Azospirillum brasilense* também tem efeito na promoção do crescimento radicular das plantas e produção de substâncias promotoras de crescimento, proporcionando uma planta vigorosa (OKON; LABANDERA GONZALEZ, 1994). Diante disso, em hipótese, a utilização de *A. brasilense*, além de auxiliar no melhor desenvolvimento da planta também pode aumentar a absorção de silício (Si) e conferir maior efetividade no controle de *S. frugiperda*.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da utilização de *A. brasilense* e silício, na redução de injúrias causadas pelo ataque da lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda*, bem como verificar se há incremento no parasitismo natural e na ocorrência de predadores.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Local de realização do experimento

O experimento foi realizado durante a safra 2018/2019, na fazenda experimental da Embrapa Soja (latitude 23°11'44" S; longitude: 51°10'35" W; altitude: 598 m), no município de Londrina/PR. O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distroférico e clima subtropical úmido de verão quente, Cfa, conforme a classificação de Köppen.

6.2.2 Cultivar, delineamento experimental, tratamentos adubação e formas de aplicação

Utilizou-se a cultivar AL Bandeirante, sendo essa uma cultivar convencional. O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso com seis tratamentos, sendo: T₁ testemunha; T₂ Inoculante *Azospirillum brasilense*; T₃ Inoculante *Azospirillum brasilense* + Silício no solo (Diaflow ®); T₄ Inoculante *Azospirillum brasilense* + Silício foliar (Sifol ®); T₅ Silício no solo (Diaflow ®) e T₆ Silício foliar (Sifol ®). Foi realizado o

plantio de 4 parcelas por tratamento de 10 m x 10 m, com bordadura de 1m. O plantio foi conduzido com espaçamento de 0,80 m, contendo 6 plantas por metro. No momento de semeadura, utilizou-se 250 kg/ha de adubo formulado 08-28-16 (N-P-K) para padronização das parcelas.

O inoculante biológico, *Azospirillum brasilense*, foi utilizado no momento do plantio, mantendo as instruções e dose recomendada pelo fabricante, sendo 100 mL para 25 kg de sementes. As aplicações de silício tanto foliar como via solo, ocorreram 16 e 26 dias após o plantio, sendo que a primeira aplicação foi realizada em estágio fenológico V3. Quanto à segunda aplicação, essa foi realizada em estágio fenológico V4. Utilizou-se 2,5 L/ha de Sifol® e 2,5 kg/ha de Diaflow® para volume de calda de 250 L/ha para ambos os produtos. Para aplicação de Si foliar (Sifol®) foi utilizado bomba costal medindo 3 m de comprimento, contendo 6 bicos do tipo leque com 50 PSI. A aplicação de Si solo (Diaflow®), foi realizada na forma “esguicho” diretamente na linha de plantio, com barra individual, utilizando 10 PSI, com objetivo de simular aplicação via “*drench*”.

6.2.3 Avaliações

As avaliações iniciaram 4 dias após a primeira aplicação de silício e ocorreram até o pendoamento da cultura. Realizou-se as seguintes avaliações: desfolha; parasitismo natural de lagartas de *S. frugiperda* e ocorrência de inimigos naturais.

Injúrias foliares

Semanalmente, de forma aleatória, foram realizadas avaliações de injúria foliar em 80 plantas por tratamento. Para a avaliação da desfolha causada por *S. frugiperda*, foi utilizada a escala visual de injúrias proposta por Cruz e Turpin (1982), atribuindo notas de 0-5 (Tabela 1).

Tabela 1. Escala de desfolha causada por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797), proposta por Cruz e Turpin (1982).

Nota	Descrição do dano
0	Folha sem dano
1	Folha raspada
2	Folha furada
3	Folha rasgada
4	Cartucho destruído
5	Planta derrubada

Parasitismo

Semanalmente, realizou-se a coleta da região central (“cartucho”) de 20 plantas/tratamento, sendo coletadas aleatoriamente na parcela. Os “cartuchos” foram acondicionados em sacos plásticos identificados e levados ao laboratório de entomologia. As lagartas coletadas foram individualizadas em placas de Petri (5 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura), contendo dieta artificial para *S. frugiperda* (KASTEN JR. et al., 1978). Essas lagartas foram acondicionadas em câmara climatizada (temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; umidade relativa de $80\pm 20\%$ e fotofase de 12 h) onde permaneceram até a emergência do adulto ou do parasitoide para quantificação.

Ocorrência de inimigos naturais

Semanalmente, a partir das mesmas plantas coletadas para verificação do parasitismo, também ocorreu a quantificação dos predadores.

6.2.4 Média de precipitação pluviométrica (mm) e temperatura (°C) no período das avaliações

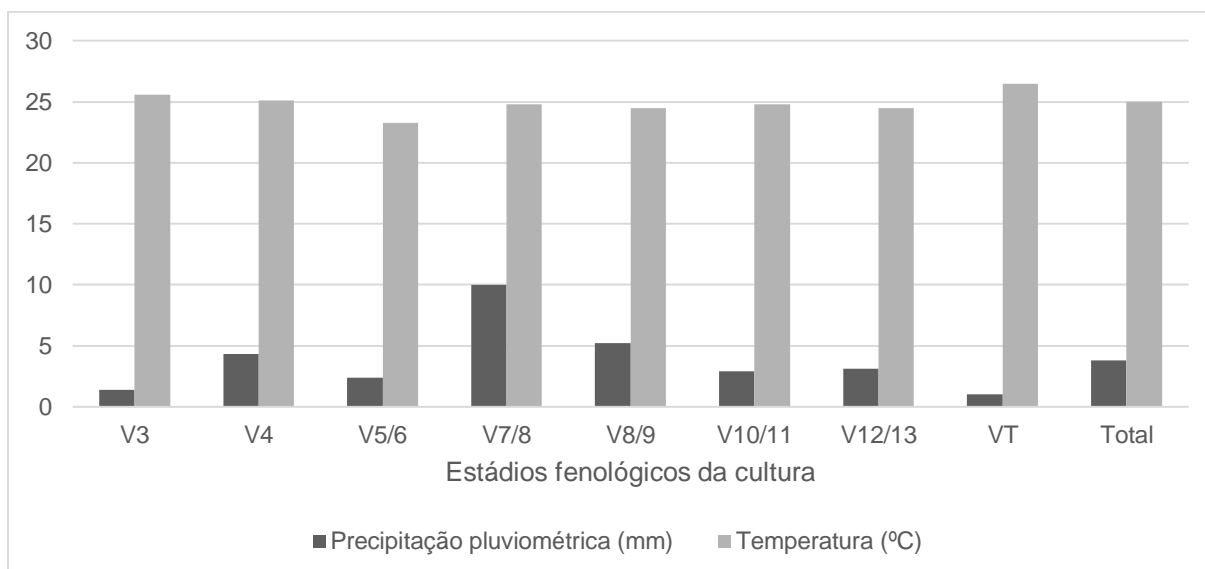


Figura 1. Média de precipitação pluviométrica e temperatura nos estádios fenológicos da cultura correspondente ao período de avaliação do experimento. Dados obtidos no laboratório de Agrometeorologia da Embrapa Soja, Londrina/PR.

6.2.5 Análise estatística

Todos os resultados foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos (SHAPIRO; WILK, 1965), a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo (BURR; FOSTER, 1972), para permitir a aplicação da ANOVA. As médias que atenderam aos pressupostos paramétricos foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro.

6.3 RESULTADOS

Injúrias foliares

Nos estádios V3, V4 e V5/6 não houve diferença na desfolha para os tratamentos avaliados (Tabela 1). A partir de V7 até VT (pendoamento), a testemunha apresentou maior injúria em relação à todos os tratamentos (Tabela 1 e 2). Verificou-se que em V7/8 o tratamento *A. brasilense* + Si solo apresentou menor injúria em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Em V8/9 constatou-se menor injúrias no tratamento que utilizou o Si solo isoladamente (Tabela 2). Já em V10/11, identificou-se menores injúrias em todos os tratamentos quando comparados com a testemunha

(Tabela 2). Em V12/13 menor injúria foliar foi constatada quando utilizou Si foliar de forma isolada (Tabela 2). E na última avaliação (VT), constatou-se que todos os tratamentos utilizando silício apresentaram menores injúrias foliares (Tabela 2).

Tabela 1. Número médio \pm (EP) de notas de injúrias verificadas na cultura do milho com seis tratamentos no controle de *Spodoptera frugiperda* (n=80 plantas observadas por estágio fenológico). Londrina, PR. Safra 2018/19.

Tratamentos	Estádio fenológico do milho			
	V3 ¹	V4 ²	V5/6 ³	V7/8
Testemunha	1,75 \pm 0,59 ^{ns}	2,34 \pm 0,87 ^{ns}	2,39 \pm 0,69 ^{ns}	2,61 \pm 0,52 a
<i>A. brasilense</i>	1,70 \pm 0,61	1,93 \pm 0,58	2,04 \pm 0,52	2,35 \pm 0,48 ab
<i>A. brasilense</i> + Si solo	1,33 \pm 0,35	1,91 \pm 0,52	1,91 \pm 0,50	1,63 \pm 0,51 c
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	1,49 \pm 0,68	2,04 \pm 0,36	1,93 \pm 0,46	1,73 \pm 0,54 bc
Si solo	1,00 \pm 0,66	1,60 \pm 0,62	1,75 \pm 0,61	1,95 \pm 0,59 abc
Si foliar	1,19 \pm 0,31	1,66 \pm 0,54	1,89 \pm 0,41	1,89 \pm 0,62 bc
CV (%)	14,19	28,9	8,53	14,91

Médias \pm EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo.

¹Dados transformados em " $(x+k)^{1/2}$ " com $k = 0,01$.

²Dados transformados em "Log x" na base 10.

³Dados transformados em " $1/(x^{1/2})$ "

Tabela 2. Número médio \pm (EP) de notas de injúrias verificadas na cultura do milho com seis tratamentos no controle de *Spodoptera frugiperda* (n=80 plantas observadas por estágio fenológico). Londrina, PR. Safra 2018/19.

Tratamentos	Estádio fenológico do milho			
	V8/9	V10/11	V12/13	VT ¹
Testemunha	2,44 \pm 0,44 a	2,43 \pm 0,61 a	2,35 \pm 0,48 a	2,45 \pm 0,54 a
<i>A. brasilense</i>	1,25 \pm 0,63 b	1,11 \pm 0,64 b	1,24 \pm 0,68 b	1,66 \pm 0,64 a
<i>A. brasilense</i> + Si solo	1,94 \pm 0,59 ab	0,51 \pm 0,49 b	0,73 \pm 0,72 bc	0,60 \pm 0,29 b
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	1,70 \pm 0,73 ab	0,59 \pm 0,65 b	0,54 \pm 0,47 bc	0,60 \pm 0,27 b
Si solo	1,28 \pm 0,48 b	0,50 \pm 0,45 b	0,68 \pm 0,68 bc	0,71 \pm 0,16 b
Si foliar	1,69 \pm 0,60 ab	0,68 \pm 0,53 b	0,38 \pm 0,56 c	0,60 \pm 0,52 b
CV (%)	21,44	28,14	31,13	24,08

Médias \pm EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo.

¹Dados transformados em "Log x" na base 10.

Em relação à desfolha no período vegetativo total, identificou-se que maior injúria foliar ocorreu na testemunha, seguido do tratamento *A. brasilense*. Porém, todos os tratamentos utilizando silício apresentaram menores médias de desfolha (Tabela 3), semelhantemente ao verificado no estágio de pendramento da cultura.

Tabela 3. Número médio \pm (EP) de notas de injúrias verificadas na cultura do milho com seis tratamentos no controle de *Spodoptera frugiperda* (n=80 plantas observadas por estágio fenológico). Londrina, PR. Safra 2018/19.

Tratamentos	Estágio vegetativo
Testemunha	2,35 \pm 0,70 a
<i>A. brasilense</i>	1,66 \pm 0,59 b
<i>A. brasilense</i> + Si solo	1,32 \pm 0,52 c
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	1,33 \pm 0,52 c
Si solo	1,18 \pm 0,47 c
Si foliar	1,25 \pm 0,54 c
CV (%)	4,17

Médias \pm EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo. Dados transformados em " $1/(x^{1/2})$ ".

Total de lagartas, parasitismo e predadores

No número total de lagartas encontradas nos cartuchos de milho, não foi constatada diferença entre os tratamentos (Tabela 4). Também, não verificou-se diferenças em relação ao número de lagartas parasitadas e número total de predadores (Tabela 4).

Tabela 4. Média \pm EP de número total de lagartas; número total de lagartas parasitadas e número total de predadores. Londrina, PR. Safra 2018/19.

Tratamentos	Lagartas ¹	Lagartas	
		parasitadas	Predadores ¹
Testemunha	34,75 \pm 2,07 ^{ns}	5,25 \pm 1,22 ^{ns}	11,50 \pm 1,92 ^{ns}
<i>A. brasilense</i>	30,75 \pm 2,14	4,25 \pm 1,22	7,25 \pm 1,22
<i>A. brasilense</i> + Si solo	29,25 \pm 2,58	2,50 \pm 1,44	11,00 \pm 1,19
<i>A. brasilense</i> + Si foliar	34,50 \pm 2,65	6,25 \pm 1,79	11,50 \pm 1,63
Si solo	33,00 \pm 2,66	3,50 \pm 1,38	11,25 \pm 1,66
Si foliar	41,50 \pm 3,02	3,75 \pm 1,12	10,25 \pm 1,82
CV (%)	5,8	51,25	11,32

Médias \pm EP com diferenças significativas pelo teste Tukey à 5% de significância. ns = Não significativo.

¹Dados transformados em "Log x" na base 10.

6.4 DISCUSSÃO

De forma geral, observou-se que mesmo no período crítico de ataque de *S. frugiperda* (40 dias após o plantio) e mesmo com interferência de condições climáticas não favoráveis no período de realização do experimento (precipitação pluviométrica 3,8 mm e temperatura 25°C), o silício independentemente de estar ou não aliado ao inoculante e/ou da forma de aplicação, permitiu que as plantas apresentassem menores injúrias até o pendoamento da cultura, possibilitando ainda que as plantas se reestabelecem mais rápido que as demais.

Possivelmente, isso tenha ocorrido pelo fato do silício aumentar a resistência natural das plantas através de barreira física nas mesmas, diminuindo a palatabilidade de insetos pragas como *S. frugiperda* e, conseqüentemente reduzindo as injúrias foliares (FAWE et al., 2001; KORNDÖRFER; PEREIRA; CAMARGO, 2004). Além disso, o silício melhora a arquitetura das plantas, deixando as folhas mais eretas e também reduz o acamamento (devido ao aumento da rigidez dos tecidos), permitindo melhor reestabelecimento da planta quando submetidos à fatores que possam desestabilizar a mesma, como ataque de pragas (EPSTEIN, 1994; MARSCHNER, 1995). Nesse contexto, a redução de injúria do milho com utilização de silício corrobora com Perdomo (2017), o qual verificou diminuição de injúrias de milho

causadas por *S. frugiperda* quando aplicou diferentes doses de silício. Dessa forma, comprovando a eficácia do silício na redução dos danos causados por esta praga.

Quanto ao uso de inoculante biológico *A. brasilense*, há poucos trabalhos que o relacionem com o controle de pragas (ALBUQUERQUE et al., 2015). No entanto, neste trabalho os resultados podem ter ocorrido devido à este inoculante auxiliar na nutrição da planta devido a promoção de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e também ao aumento de crescimento radicular, aumentando assim a absorção de água e demais nutrientes (HUNGRIA, 2011).

Entretanto, o silício independente da forma de utilização não influenciou o número de lagartas encontradas durante o período vegetativo. Porém, quando avaliada a injúria, os dados possibilitam presumir que houve fatores limitantes na alimentação das lagartas, pois independente do número de lagartas houve redução na injúria do milho quando utilizou-se silício. Dessa forma, os resultados mais uma vez podem ter ocorrido pela formação de barreira física proporcionada pelo silício, prejudicando a penetração e a mastigação desses tecidos pelos insetos (FAWE et al., 2001), podendo ainda causar desgaste na mandíbula de *S. frugiperda* (GOUSSAIN et al., 2002).

Outros agentes importantes são os parasitoides e predadores de lagartas, pois podem contribuir na regulação populacional da praga (POMARI, 2013). Entretanto, não observou-se efeito dos tratamentos em relação ao total de lagartas parasitadas e total de predadores, sugerindo que o silício não influencia nestes parâmetros. No entanto, Kvedaras et al. (2010) verificaram efeito do silício na atratividade de inimigos naturais e elevado efeito no controle biológico no campo devido à forte interação entre o silício e jasmonatos (JA). Também neste aspecto, Reynolds, Keeping e Meyer (2009), relatam que é possível que o silício esteja envolvido no incremento de liberação de voláteis responsáveis pela atração de inimigos naturais. Por outro lado, surge a hipótese de que o silício pode prejudicar a emissão de voláteis emitidos pelas plantas, dificultando assim que os predadores e inimigos naturais encontrem seus hospedeiros. Porém, essas informações ainda permanecem pouco exploradas, necessitando de outros estudos para verificar se há ou não interferência do silício na predação e parasitismo de *S. frugiperda*. Oliveira et al. (2012) ainda relatam que é quase inexistente o conhecimento sobre a influência do silício em relação à atração de inimigos naturais.

Apesar dos resultados não identificarem diferenças na ocorrência de parasitoides e predadores, pode-se considerar o silício como método alternativo na redução de injúrias causadas por *S. frugiperda*, demonstrando importância não somente para o produtor de base ecológica, mas sim para todos os produtores que buscam reduzir a aplicação de produtos químicos.

6.5 CONCLUSÃO

A aplicação de Si se apresenta como potencial incremento nas medidas de controle para diminuição de danos causados por *S. frugiperda*, contribuindo para a proteção das culturas. Quanto ao uso do inoculante *A. brasilense*, não verificou-se ação de forma isolada do mesmo, tendo necessidade de outros estudos. No entanto, esse inoculante tende à promover a fixação biológica de nitrogênio, contribuindo para a nutrição da planta.

6.6 REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, F. A.; LIMA, J. M.; CAVALCANTI, R. W. G.; BORIN, A. L. D. C.; SARAIVA, J. P. *Azospirillum* spp. como potencial indutor de resistência a *Alabama argillacea* (Hub) em plantas de algodoeiro. Resumo. Embrapa. 2015.
- BÉLANGER, R. R.; MENZIES, J. G. Use of silicon to control diseases in vegetable crops. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36, Uberlândia, Fitopatologia Brasileira 28:S42-S45. 2003. **Resumo**.
- BURR, I. W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. Mimeo Series No. 282. West Lafayette: University of Purdue, 26p. 1972.
- CRUZ, I.; TURPIN, F.T. Efeito da Spodoptera frugiperda em diferentes estágios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n.3, p.355-359, 1982.
- DARTORA, J; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.
- DOURADO NETO, D.; SEVERINO, F. J. **A teoria da Trofobiose**. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Departamento de Produção Vegetal. Seminários em Fitotecnia. Piracicaba-SP. 2001

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

FAWE, A.; MENZIES, J.G.; CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R.R. Silicon and disease resistance in dicotyledons, in: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (eds.). Silicon in agriculture. The Netherlands: **Elsevier Science**, 2001. 403 p.

GOUSSAIN, N. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagartado-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 305-310, 2002.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Documentos 325. **Embrapa Soja**, Londrina – PR, 2011. 36 p. Disponível em:

<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29560/1/DOC325.2011.pdf>>.

Acesso em: 12 de agosto 2019.

KASTEN JR., P.; PRECETTI, A.A.C.M.; PARRA, J.R.P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 53, p. 68-78, 1978.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; CAMARGO, M. S. DE. Silicatos de cálcio e magnésio na agricultura. **Boletim técnico**, 2 ed. Uberlândia, n.1, p.23, 2004.

KVEDARAS, O. L.; AN, M.; CHOI, Y. S.; GURR, G. M. Silicon enhances natural enemy attraction and biological control through induced plant defences. **Bulletin of Entomological Research**, Londres, v. 100, n. 3, p. 367–371, set. 2010. DOI: 10.1017/S0007485309990265.

LOCATELLI, B. T. **Indução de resistência por agentes abióticos em soja à mosca-branca**. Dissertação de mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Dois Vizinhos – PR. 2017. 68 p.

MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of higher plants. New York: **Academic Press**, 887p. 1995.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. Agronomic application of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years worldwide field incubation. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.1591- 1601, 1994.

OLIVEIRA, R. S.; SOUZA, M. F.; MAGELA, M. L. M.; ALVES FILHO, A.; PAULA, C. O. Silício na proteção de plantas contra herbívoros: Uma abordagem sobre as interações tritróficas no sistema Trigo, pulgões e parasitoides. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, n.14; p. 876. 2012.

PASCHOLATI, S. F. Resultados com resistência induzida no Brasil. In: Simpósio de biologia molecular da resistência de plantas a patógenos: aplicações no manejo integrado de fitodoeças, Lavras, 2002. **Resumos**. Lavras: UFLA, p.120, 2002.

PERMODO, D. N. **Doses de silício na produtividade e na indução de resistência de plantas de milho a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia – MG. 2013. 51 p.

POMARI, A. F. **Características biológicas de *Telenomus remus* Nixon em ovos de *Corcyra cephalonica* (Satainton) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith): bases para o desenvolvimento de programas de controle biológico aplicado para as culturas da soja e milho.** Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto- SP. 2013. 148 p.

PREZOTO, F.; MACHADO, V. L. L. Incidência de insetos na cultura de milho (*Zea mays* L.) no município de Piracicaba – SP. **Revista Bioikos**, PUC – Campinas, v. 12, n. 2, p. 31-35, 1998.

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, p.171–186, 2009.

RUBIN, L. A. **Manejo Lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidade), na cultura do milho.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – RS. Dezembro. 2009.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, London, v. 52, p. 591-611, 1965.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of Rice Crop Science.** Philippines: International Rice Research Institute. 1981.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o silício não seja considerado elemento essencial para as plantas, este trabalho mostra que ele pode ser utilizado como incremento no manejo de *Spodoptera frugiperda*, pois exerceu efeito na biologia e comportamento desta praga tão importante e de difícil manejo. Porém, é necessário outros estudos para verificar o consumo foliar nas fases imaturas desta praga, para afirmar se o silício suprime ou não a alimentação das mesmas, visto que a maior mortalidade tenha ocorrido na fase de pré-pupa.

No entanto, o silício não exerceu efeito na indução de resistência por meio da atividade de peroxidase e fenilalanina amônia-liase (FAL) e também não verificou-se maior percentual de silício através do método amarelo em relação aos demais tratamentos, podendo ter conferido apenas barreira física nas plantas. Outro fator importante verificado neste trabalho foi que o silício tende a não se redistribuir das folhas velhas para as folhas novas, tendo maior concentração em folhas velhas.

Por fim quando realizou-se trabalho no campo, o silício novamente mostrou-se eficiente, pois diminuiu as injúrias no período vegetativo e permitiu que as plantas se reestabelecem mais rápido que as demais, melhorando também a arquitetura da mesma. Também, verificou-se que não houve influência do silício quanto ao número de lagartas encontradas, presumindo que houve fatores limitantes na alimentação das mesmas, já que houve redução de injúria. Ainda nas avaliações de campo, também não houve interação do silício quanto à predação e o parasitismo de *S. frugiperda*, porém não se sabe dizer ao certo o porquê que isso ocorreu, pois há poucos trabalhos na literatura que correlacionem o silício com tais parâmetros, necessitando assim, mais estudos nesta área.

Ainda, é importante salientar que, a aplicação foliar apresenta vantagens em relação a aplicação via solo “*drench*”, pela facilidade na aplicação, maior precisão e também pela facilidade de manuseio do equipamento na aplicação foliar, pois para a aplicação via “*drench*” o equipamento necessita adaptação, já que é aplicado na linha de plantio com forma de esguicho. Além disso, a aplicação leva mais tempo em relação à aplicação foliar.

Quanto ao inoculante *Azospirillum brasilense*, apesar de haver poucos trabalhos que correlacionem o seu uso com o controle de pragas, neste trabalho em alguns parâmetros o mesmo exerceu efeito quando utilizado junto ao silício, podendo

estar correlacionado ao fato do mesmo melhorar a absorção de água e nutrientes e também aumentar o crescimento radicular. Porém, ainda é necessário outros estudos para comprovar tal efeito.