



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS

APLICAÇÃO DE SILÍCIO NO SOLO E RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO A
LARVAS DE *Diabrotica speciosa* (COLEOPTERA: Chrysomelidae)

JEAN RAFAEL DA CRUZ MACIEL

Araras

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS

APLICAÇÃO DE SILÍCIO NO SOLO E RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO A
LARVAS DE *Diabrotica speciosa* (COLEOPTERA: Chrysomelidae)

JEAN RAFAEL DA CRUZ MACIEL

ORIENTADOR: PROF. DR. EDUARDO DAL'AVA MARIANO

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Produção
Vegetal e Bioprocessos Associados
como requisito parcial à obtenção do
título de MESTRE EM PRODUÇÃO
VEGETAL E BIOPROCESSOS
ASSOCIADOS

Araras

2018

Maciel, Jean Rafael da Cruz

APLICAÇÃO DE SILÍCIO NO SOLO E RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO A LARVAS DE *Diabrotica speciosa* (COLEOPTERA: Chrysomelidae) / Jean Rafael da Cruz Maciel. -- 2018.
44 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de São Carlos, campus Araras, Araras

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Dal'Ava Mariano

Banca examinadora: Dr. Mauro Sérgio de Oliveira Leite; Dr. Ricardo Toshio Fujihara

Bibliografia

1. Silício como indutor de resistência em milho. 2. Resistência natural em híbridos de milho contra *Diabrotica speciosa*. 3. Anatomia de sistema radicular de milho. I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Programa de Geração Automática da Secretaria Geral de Informática (SIn).

DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

Bibliotecário(a) Responsável: Maria Helena Sachi do Amaral – CRB/8 7083



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Jean Rafael da Cruz Maciel, realizada em 27/08/2018:

Prof. Dr. Eduardo Dal Ava Mariano
UFSCar

Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujihara
UFSCar

Prof. Dr. Maure Sérgio de Oliveira Leite
MONSANTO

AGRADECIMENTOS

Á todos os meus amigos e amigas que durante essa jornada contribuíram significativamente com meu crescimento pessoal e profissional;

Ao Departamento de Desenvolvimento Rural do Centro de Ciências Agrárias, pelos recursos e apoio no início do projeto;

Aos times de *Plant Biossay* e Insetário da Monsanto do Brasil, que me auxiliaram nos experimentos de casa de vegetação e laboratório tornando cada momento valioso e enriquecedor;

Á Liderança do time de *Entomology Development Platform* da Monsanto, pela oportunidade, pela confiança e acima de tudo por todo o suporte dado durante minha trajetória no Mestrado;

Ao meu orientador Eduardo Mariano, pelos conselhos, paciência, ajudas e principalmente pela confiança em aceitar esse desafio;

Á minha família que durante essa trajetória apoiou e incentivou em sempre buscar meu objetivo;

“As grandes descobertas podem estar nas pequenas diferenças” – (Mauro Leite, 2018)

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 OBJETIVOS.....	04
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	05
3.1 Importância econômica e produção de milho no Brasil	05
3.2 A espécie <i>Diabrotica speciosa</i> e sua importância como praga agrícola	06
3.3 Resistência de plantas a insetos-praga.....	07
3.4 Silício como promotor de resistência a estresses em plantas.....	08
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4.1 Aplicação de silício no solo, semeadura e condução das plantas.....	11
4.2 Criação de <i>D. speciosa</i> em laboratório.....	13
4.3 Avaliação da resistência natural de híbridos de milho a larvas de <i>D. speciosa</i>	13
4.3.1 Ensaio de antixenose.....	14
4.3.2 Ensaio de antibiose.....	15
4.3.2.1 Liofilização das raízes.....	16
4.3.2.2 Preparo de dieta artificial, montagem das placas e infestação com neonatas de <i>D. speciosa</i>	16
4.4 Avaliação da resistência de híbridos de milho cultivados em solo fertilizado com silício a larvas de <i>D. speciosa</i>	18
4.4.1 Infestação do solo com ovos de <i>D. speciosa</i>	18
4.4.2 Avaliação do grau de injúria na raiz causada por <i>D. speciosa</i>	20
4.4.3 Avaliação de crescimento da planta, produção de biomassa e teor de Si na parte aérea e na raiz.....	20
4.4.4 Características anatômicas da raiz.....	20
4.4.5 Análise estatística dos dados.....	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22

6	CONCLUSÕES.....	34
7	LITERATURA CITADA.....	34

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Atributos químicos do solo antes dos tratamentos para os ensaios.	11
Tabela 2. Atributos químicos do solo após a fertilização para os ensaios.....	22
Tabela 3. Teores de Si, Ca e pH do solo nos tratamentos com aplicação de CaSiO_3 e CaCO_3	23
Tabela 4. Contagem de larvas de <i>D. speciosa</i> próximas ou em cima de cada uma das raízes dos dois híbridos de milho no ensaio de arena, com chance de escolha.....	23
Tabela 5. Peso de larvas de <i>D. speciosa</i> alimentadas com dieta contendo material de raiz liofilizado de dois híbridos de milho.....	24
Tabela 6. Número de camadas de células do córtex dos híbridos e dos tratamentos com e sem aplicação de Si no solo.....	28
Tabela 7. Teor de Si na parte aérea das plantas de milho cultivadas em solo fertilizado com Si.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Variação da acidez ativa (pH) do Neossolo Quartzarênico órtico (RQo) como resultado da aplicação de carbonato de cálcio (CaCO ₃) ou silicato de cálcio (SiCO ₃) e incubação por 30 dias.....	12
Figura 2. Detalhe da disposição dos segmentos de raízes nas placas utilizadas como arena.....	14
Figura 3. Detalhe das larvas de <i>D. speciosa</i> próximas da raiz avaliada, visualizadas utilizando-se de lupa.....	15
Figura 4. Distribuição da dieta nas placas para bioensaio.....	17
Figura 5. Infestação com neonatas de <i>D. speciosa</i>	17
Figura 6. Ovos de <i>Diabrotica speciosa</i> suspensos em solução de ágar 0,25%.....	19
Figura 7. Infestação do solo com ovos de <i>Diabrotica speciosa</i>	19
Figura 8. Detalhe das raízes de plantas sem infestação e sem injúria e de raízes de plantas com infestação e com injúrias ocasionada por larvas de <i>D. speciosa</i>	25
Figura 9. Grau de injúria ocasionada pela larva de <i>D. speciosa</i> em raiz de híbridos de milho.....	26
Figura 10. Cortes transversais de raízes de híbridos de milho observados em microscópio óptico evidenciando características anatômicas.....	27
Figura 11. Cortes transversais de raiz de híbridos de milho observados em microscópio óptico evidenciando diferença na exoderme entre genótipos.....	29
Figura 12. Valores de acúmulo de Si total da planta comparando as diferenças encontradas entre híbridos (A), aplicação de Si (B) e infestação de <i>D. speciosa</i> (C).....	31
Figura 13. Altura das plantas dos dois híbridos de milho no estágio V10.....	32
Figura 14. Comparação da massa da parte aérea seca dos híbridos (A), e do efeito da infestação (B).....	33
Figura 15. Massa da raiz seca de híbridos de milho.....	34

APLICAÇÃO DE SILÍCIO NO SOLO E RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO A LARVAS DE *Diabrotica speciosa* (COLEOPTERA: Chrysomelidae)

Autor: JEAN RAFAEL DA CRUZ MACIEL

Orientador: Prof. Dr. EDUARDO DAL'AVA MARIANO

RESUMO

No Brasil, a cultura do milho ocupa a segunda colocação em área plantada, sendo o país o terceiro maior produtor de milho do mundo. A alta produtividade do milho está associada a uma boa condição de desenvolvimento da planta durante o ciclo da cultura, que pode ser garantida com boa disponibilidade hídrica no solo, tratos culturais adequados e controle efetivo de pragas e doenças. Dentre as pragas que atacam o milho, *Diabrotica speciosa* é uma espécie que tem se mostrado muito importante em diversas regiões do país. Os prejuízos com a praga têm sido relatados como expressivos para os estados do Sul e algumas áreas da região Sudeste e Centro-Oeste do país, com perdas na produção variando entre 10 e 13% na ocorrência de alta infestação. Alguns métodos de controle podem ser utilizados para diminuir a infestação da praga e conseqüentemente o grau de injúria, como o controle químico, a utilização de materiais transgênicos resistentes e o controle biológico. Um método alternativo com potencial pode ser a indução de resistência na planta com utilização de silício (Si) na sua nutrição, conforme observado em algumas espécies vegetais. Estudos têm evidenciado que o Si pode estimular o crescimento e a produção vegetal, além de conferir proteção a fatores abióticos desfavoráveis, como toxidez por alumínio e estresse hídrico, e contra estresses bióticos, como doenças e incidência de insetos-praga. A hipótese de trabalho do presente estudo é que o Si também promove modificações na anatomia e em características morfológicas do sistema radicular promovendo resistência contra *D. speciosa* em plantas de milho. O trabalho foi conduzido em casa de vegetação, em esquema fatorial 2x2x2, sendo os fatores dois híbridos de milho, duas doses de silício e dois graus de infestação por *D. speciosa* (com e sem infestação). As variáveis altura de planta, massa seca de raiz e de parte aérea, teor de Si na raiz e parte aérea, grau de injúria radicular causada pelo inseto e caracteres anatômicos do sistema radicular foram avaliadas e submetidas a análise de variância e ao teste de comparação de médias de Tukey a 5%. A maior disponibilidade de Si não evidenciou resposta quanto a produção de biomassa da parte aérea e/ou da raiz. Por outro lado, foram verificadas diferenças entre os híbridos avaliados em relação a resistência à *D. speciosa*. O híbrido HY01 naturalmente apresenta um grau maior de resistência ao ataque de larvas de *D. speciosa* do que o híbrido HY02, que pode ter sido causado pelo maior desenvolvimento radicular e pela suberização da exoderme, uma vez que a suberina participa como estimulante da atividade de enzimas de defesa das plantas contra a herbivoria. Também, o HY01 apresentou uma antibiose em relação às larvas da praga estudada. Baseado nesses resultados, podemos concluir que nessas condições testadas a aplicação do Si não promoveu resistência ao ataque da larva de *D. speciosa* no sistema radicular de plantas de milho. Além disso, foi verificado que diferenças genotípicas podem conferir maior resistência das plantas ao ataque de *D. speciosa*.

SILICON APPLICATION IN SOIL AND RESISTANCE OF CORN HYBRIDS TO *Diabrotica speciosa* (COLEOPTERA: Chrysomelidae)

Author: JEAN RAFAEL DA CRUZ MACIEL

Adviser: Prof. Dr. EDUARDO DAL'AVA MARIANO

ABSTRACT

Brazil is the third largest producer of corn in the world. The high yield obtained in maize is a result good plant development during the crop cycle, supported by good water availability in the soil and best management practices, resulting in effective plant nutrition and control of insect pests and diseases. *Diabrotica speciosa* stands out as an important insect species causing significant damage to the plant roots consequently reducing the absorption of water and nutrients. It is reported as key corn pest in Brazilian southern states and some areas of the Southeast and Center-West. Its impacts might cause yield losses ranging from 10 to 13% under high infestation. Some methods of control might be used to reduce pest infestation and consequently the damage caused by the insect such as chemical control, transgenic plants and biological control. An alternative potential method could be to induce plant resistance with silicon (Si) through plant nutrition. Studies have shown that Si can stimulate plant growth and yield, as well as confer protection against abiotic factors, such as aluminum toxicity and water scarcity, and against biotic stress such as diseases and insects. Therefore, the hypothesis of this work is that Si also promotes modifications in the anatomy and morphological characteristics of the root system leading to an increased resistance against *D. speciosa* in maize plants. The project was conducted under greenhouse conditions, in a 2x2x2 factorial scheme: two maize hybrids, two quantities of silicon and two degrees of infestation by *D. speciosa* (with and without infestation). The attributes plant height, dry mass (root and above ground), Si content (root and above ground), root injury caused by the insect and anatomical characters of the root system were measured and submitted to analysis of variance and to the comparison test of means of Tukey to 5%. The higher availability of Si did not impact the plant biomass production (root and above ground). Si can induce modifications in the anatomy of the root system. By the other hand differences were found between maize hybrids. The HY01 hybrid showed a natural higher degree of resistance to *D. speciosa* larvae, potentially conferred by better root development and higher deposition of suberin in the exoderm, since this compound stimulates defense enzymes against herbivory. Based on these results, we conclude that under these tested conditions the application of Si did not promote resistance to *D. speciosa* larvae

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a cultura do milho (*Zea mays* L) ocupa a segunda colocação em área plantada, com uma estimativa de mais de 16 milhões de hectares na safra 2018/19, sendo o país o terceiro maior produtor de milho do mundo, com mais de 82 milhões de toneladas (Conab, 2018). Na safra 2017/18 a produtividade média brasileira foi de 4,9 ton/ha, sendo 10,7% menor que a da safra 2016/17, segundo estimativa da Conab (2018).

A alta produtividade do milho está associada a uma boa condição de desenvolvimento da planta durante o ciclo da cultura, que pode ser garantida com boa disponibilidade hídrica no solo, tratos culturais adequados, nutrição adequada das plantas e controle efetivo de pragas e doenças (Cruz e Turpin, 1982; Bergamaschi et al., 2006).

A importância econômica dos danos causados por pragas de solo tem aumentado ao longo dos últimos anos devido a fatores como redução do uso de inseticidas com longo efeito residual, utilização do plantio direto, ou seja, plantio sem revolvimento do solo (aração e gradagem), e o alto investimento na implementação das culturas que tem demandado a manutenção do estande ideal até o momento da colheita. Algumas práticas como a rotação de culturas têm sido utilizadas visando o manejo das pragas de solo, porém com efeitos limitados devido à polifagia desses insetos e às poucas alternativas de cultivo em sistemas de produção intensiva de grãos (Gassen, 1994; Waquil, et al., 2010; Carvalho et al., 2016).

No Brasil, dentre as principais pragas de solo na cultura do milho destacam-se as espécies *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) e *Diabrotica viridula* (Fabricius, 1801). No Brasil, *D. speciosa* é a espécie predominante. Os adultos são considerados polívoros, uma vez que se alimentam da parte aérea de um grande número de espécies de planta (ex: milho, feijão, soja). As larvas, por sua vez, são consideradas mais especializadas, pois ocorrem num número mais restrito de plantas hospedeiras (ex: batata, milho). As plantas de milho hospedam a fase larval de *D. speciosa* e também podem ser eventualmente atacadas pelos adultos. No entanto, os maiores danos nas plantas de milho são provocados pelas larvas se alimentando do sistema radicular, consumindo as raízes laterais e, assim, causando tombamento da planta, redução da capacidade de absorção de água e nutrientes, e permitindo a entrada de fungos causadores da podridão (Gallo, 2001; Waquil et al., 2003).

As perdas de produtividade devido ao ataque da *D. speciosa* podem estar relacionadas com a diminuição da capacidade de absorção de água e nutrientes das raízes e também com o tombamento das plantas (Khaler et al., 1985). De acordo com Viana (2010), os prejuízos com a praga têm sido relatados como expressivos para os estados do Sul e algumas áreas da região Sudeste e Centro-Oeste do país, com perdas na produção variando entre 10 e 13% na ocorrência de alta infestação.

Existem métodos de controle que podem ser utilizados para diminuir a infestação da praga e conseqüentemente o grau de injúria pela herbivoria. Os métodos utilizados são o controle químico (Ávila e Gomez, 2001; Viana e Marochi, 2002; Ávila e Milanez, 2004), a utilização de materiais transgênicos resistentes (Gallo, 2012; Nava et al. 2016), e o controle biológico. Alternativamente, um método potencial seria a indução de resistência na planta com utilização de silício (Si) na nutrição (Nalesso et al. 2015). De acordo com Müller e Zanão Júnior (2014), o emprego do Si tem potencial para ser utilizado como ferramenta do Manejo Integrado de Pragas devido sua capacidade de promoção de resistência de plantas a insetos.

Estudos têm evidenciado que o Si pode estimular o crescimento e a produção vegetal, além de conferir proteção a fatores abióticos desfavoráveis, como toxidez por alumínio e estresse hídrico, e contra estresses bióticos, como doenças e incidência de insetos-praga (Korndörfer et al., 1995; Marschner, 1995; Epstein, 1999;

Goussain et al., 2002; Korndörfer, 2006; Gomes et al., 2009; Keeping et al., 2009; Zanão Júnior et al., 2009; Nascimento et al., 2014; Harley et al., 2015).

Nesse contexto, levando em consideração toda a informação sobre a capacidade do Si na indução de resistência a doenças e insetos-praga na parte aérea das plantas, a hipótese do presente trabalho é que o Si também promove modificações na anatomia do sistema radicular, o que, por sua vez, promove resistência contra *D. speciosa* em plantas de milho. Verificar se o Si induz resistência a *D. speciosa*, em sua fase larval, pode trazer mais conhecimento e informações sobre o tema e eventualmente aumentar a potencialidade de utilização do elemento Si como mais uma ferramenta no Manejo Integrado de Pragas.

2 OBJETIVOS

Verificar o efeito do fornecimento de Si no solo na promoção de resistência à *D. speciosa* e na alteração de características anatômicas do sistema radicular de híbridos de milho.

Objetivos específicos:

- Caracterizar dois híbridos de milho quanto à resistência à larva de *D. speciosa* em raiz;
- Avaliar o efeito do fornecimento de Si no solo sobre o grau de injúria causada por larvas de *D. speciosa* em raízes de plantas de milho;
- Avaliar a anatomia do sistema radicular de plantas de milho crescidas em solo com disponibilidades distintas de Si;
- Medir o acúmulo de Si no sistema radicular e na parte aérea de plantas de milho;
- Medir o acúmulo de massa da raiz e parte aérea de plantas de milho como variável dependente da infestação do solo com larvas de *D. speciosa* e da disponibilidade de Si no solo;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Importância econômica e produção de milho no Brasil

O milho é uma das culturas mais importantes do atual cenário agrícola mundial, por ser utilizado em atividades essenciais como alimentação humana e animal e fabricação de biocombustíveis. Estima-se que a maior parte da produção mundial ou nacional do cereal é destinada a alimentação animal, correspondendo a 70% de sua produção (Duarte, 2010).

No Brasil, o milho é a segunda espécie vegetal mais cultivada, atingindo na safra 2017/18 uma área plantada de aproximadamente 16 milhões de hectares, com uma produção por volta de 82 milhões de toneladas de grãos, sendo esse valor 15% menor do que o da safra anterior (Conab, 2018).

Existem duas épocas do ano destinadas ao plantio de milho no Brasil, sendo elas a safra de verão, que se inicia em outubro, na época de maior regime hídrico, e a “safrinha”, que tem seu início em janeiro, principalmente nos estados do Paraná, São Paulo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, com colheita prevista para abril. Dentre as épocas de produção de milho, a safrinha está a cada ano sendo mais importante para o setor do cereal no Brasil. Estima-se que na safra 2017/18 a produção de grãos na safrinha seja 108% superior à da safra de verão (Conab, 2018).

Embora a safrinha seja a época em que mais se produz grãos de milho no Brasil, está se tornando também um fator favorável ao aparecimento de doenças e pragas que antes eram consideradas secundárias para a cultura e passaram a ser pragas-chave. Devido a uma série de fatores, geralmente ocorre uma maior severidade de danos de insetos-praga na safrinha do que no cultivo de verão (Gassen, 1999; Cruz; Bianco, 2001).

3.2 A espécie *Diabrotica speciosa* e sua importância como praga agrícola

Diabrotica speciosa (Germar, 1824. Coleoptera: Chrysomelidae) é um inseto polífago que pode atacar distintas espécies de plantas cultivadas. O adulto, conhecido popularmente por “vaquinha” ou “patriota”, se alimenta de flores, frutos e, especialmente, folhas e brotações novas de diversas espécies vegetais. Os danos causados pelo ataque do inseto em uma cultura podem ser diretos, pela redução da quantidade de tecido vegetal, ou indiretos, pela transmissão de doenças (Boff e Gandin, 1992; Oliveira et al., 1994).

A larva de *D. speciosa*, conhecida popularmente por “larva-alfinete”, passa por três instares, e, durante esse período, se desenvolve no solo alimentando-se de raízes de plantas, por um período médio de 30 dias. Em milho, o consumo das raízes pela larva ocasiona diminuição da altura, atraso no desenvolvimento e aumento da suscetibilidade das plantas ao tombamento (Marques et al., 1999; Ávila, Milanez, 2004). Em densidades acima de 40 larvas por planta, o ataque da larva reduz significativamente o desenvolvimento do sistema radicular, afetando seu crescimento e conseqüentemente a produção de grãos (Marques et al., 1999).

De acordo com Nava et al., (2016) perdas econômicas do milho podem ser observadas na ocorrência de danos maiores que 3 na escala de avaliação de 1 a 6 utilizada por Hilss e Peters (1971). Tais graus de danos podem ser relacionados com notas acima de 1 na escala de avaliação de 1 a 3 descrita por Oleson et al. (2005), que corresponde a perda total de pelo menos 1 nó de raiz, dos 3 nós utilizados para avaliação da injúria.

Em estudo realizado por El Khishen et al. (2009), para avaliação de resistência natural de híbridos de milho a *D. virgifera virgifera* nos Estados Unidos da América utilizando a escala de Oleson et al. (2005), foram atribuídas notas médias

de 1,13 a 1,17 a materiais considerados resistentes e nota média de 1,58 a materiais susceptíveis à praga. No entanto, as características dos híbridos que conferem resistência contra a praga são desconhecidas.

De acordo com Viana (2010) a resistência está associada a um sistema radicular mais desenvolvido e/ou à capacidade de formação de novas raízes, suportando melhor o ataque das larvas.

3.3 Resistência de plantas a insetos-praga

Em um sistema agrícola de produção, as culturas estão constantemente sendo afetadas pela presença de insetos-praga, que variam de espécie, população e etc. de acordo com a espécie vegetal. Ao longo dos anos, plantas e insetos co-evoluíram desenvolvendo estratégias de defesas. No caso das plantas, as respostas ao ataque de herbívoros podem ocorrer através de vários aspectos morfológicos, bioquímicos e mecanismos moleculares (War et al., 2012). De forma geral, as plantas quando atacadas podem desencadear seus mecanismos de defesa de modo que possa inibir, bloquear ou modificar o metabolismo da praga (Santamaria et al., 2013).

De acordo com Painter (1968) as plantas podem apresentar três formas de suportar e resistir ao ataque de pragas no campo, sendo elas a) antixenose, b) tolerância e c) antibiose. A antixenose, também conhecida como não-preferência, ocorre quando uma planta é menos utilizada pelo inseto do que outra para alimentação, oviposição ou abrigo, quando ambas estão crescendo nas mesmas condições de ambiente. Tolerância é a capacidade da planta de suportar uma maior infestação de praga sem reduzir sua produção ou qualidade, e não afetando o comportamento ou a biologia da praga. E antibiose ocorre quando existe um efeito direto sobre a sobrevivência ou desenvolvimento da praga na planta e geralmente depende de um mecanismo químico.

A produção de substâncias químicas pelas plantas, para sua defesa, ocorre de duas maneiras diferentes: a) constitutiva: que repelem herbívoros através da toxicidade direta ou através da redução da digestibilidade dos tecidos; b) induzida: que ocorrem em resposta a injúria causada pelos herbívoros (Mello & Silva-Filho, 2002).

Existem barreiras físicas que podem ser consideradas como mecanismos de defesa de uma planta, sendo um exemplo o fortalecimento da parede celular. A presença de lignina e fenóis na parede da célula pode atuar como uma barreira que impede ou limita a oferta de alimentos para os insetos, tornando a planta menos atrativa (Santiago et al. 2013).

3.4 Silício como promotor de resistência a estresses em plantas

O silício (Si) é um dos elementos mais abundantes da superfície da Terra, sendo o quartzo, os feldspatos e a sílica amorfa os principais materiais constituintes da maioria dos solos (Orlov, 1985). A concentração de SiO_2 extraível do solo pode variar de menos de 1 até mais de 100 mg dm^{-3} (Raven, 1983). Essa variação está relacionada com o tipo de solo, com os teores de argila e de óxidos de ferro e de alumínio e com a acidez do solo. Nos solos tropicais, que no geral encontram-se altamente intemperizados, os minerais primários facilmente intemperizáveis que contêm Si são quase inexistentes. Esses solos apresentam, em alguns casos, teores menores do que 2 mg dm^{-3} no extrato saturado (Fox & Silva, 1978). Korndörfer et al. (1999) conduziram experimentos de campo com a cultura do arroz e sugeriram os níveis de Si no solo como baixo quando menor que 6 mg dm^{-3} , médio entre 6 e 24 mg dm^{-3} , e alto acima de 24 mg dm^{-3} , quando extraídos com ácido acético.

O Si tem papel secundário na maioria dos organismos vivos. Embora seja fisiologicamente requerido por muitas espécies dentro dos grupos dos protistas e vertebrados, o seu papel biológico em plantas superiores ainda não está claramente definido (Epstein, 1999).

Na agricultura o mesmo tem sido utilizado por entender que se trata de um elemento benéfico. Elementos benéficos são aqueles que têm efeito positivo somente em algumas espécies de plantas ou sob condições específicas de crescimento, enquanto que elementos essenciais são aqueles necessários para todas as plantas sob quaisquer condições de crescimento (Marschner, 1995). Epstein e Bloom (2005) pontuam que não se pode relatar com exatidão se o Si é ou não um elemento essencial.

O Si é um elemento que não faz parte de processos metabólicos das plantas, no entanto, de acordo com Cherifi et al. (1992), ele está relacionado com reações de defesa da planta. A maior parte do Si absorvido é translocado das raízes para as

folhas e, com a saída da água pela transpiração, acumula-se e polimeriza-se na parte externa da parede celular, transformando-se em uma estrutura amorfa de sílica (Lanning et al., 1958; Yoshida, 1965). O acúmulo do elemento induz a formação de uma dupla camada de sílica cuticular na folha (Korndörfer et al., 2004).

De acordo com Marschner (1995), as diferentes espécies vegetais variam em relação à sua capacidade de absorver e acumular Si nos tecidos, podendo, em função dos percentuais de SiO₂ na matéria seca da parte aérea, serem classificadas como: a) plantas acumuladoras, que incluem muitas gramíneas como o arroz, contendo de 100 a 150 mg/g; b) intermediárias, cereais, cana-de-açúcar e poucas dicotiledôneas com teores de SiO₂ variando de 10 a 50 mg/g; e c) plantas não-acumuladoras, incluindo a maioria das dicotiledôneas, apresentando teores menores do que 5 mg/g. Também, podem existir diferenças de absorção e acúmulo entre genótipos de uma mesma espécie, como foi observado em arroz por Deren et al. (1992) e em soja por Grothge-Lima (1998).

A distribuição do Si em uma planta pode diferenciar entre parte aérea e raiz, variando de acordo com a espécie e também com sua capacidade de acumulação do elemento. Em plantas não acumuladoras, essa distribuição é uniforme. Por outro lado, em plantas com maior capacidade de acumular Si, a concentração do elemento é maior nas folhas do que no sistema radicular (Wiese et al., 2007)

Estudos têm evidenciado que o Si pode estimular o crescimento e a produção vegetal, além de conferir proteção a fatores abióticos desfavoráveis, como toxidez por alumínio e estresse hídrico, e contra estresses bióticos, como doenças e incidência de insetos-praga (Korndörfer et al., 1995; Marschner, 1995; Epstein, 1999; Korndörfer, 2006).

Goussain et al. (2002), em um trabalho realizado com milho e a lagarta *Spodoptera frugiperda*, observaram uma mortalidade de cerca de 36% do total de indivíduos quando a lagarta estava no segundo ínstar e de 21% quando a lagarta estava no sexto ínstar, o que pode estar relacionado com a diminuição da sua alimentação, ocasionada pelo desgaste das mandíbulas, devido a maior rigidez das folhas das plantas que receberam aplicação de Si.

Gomes et al (2009) relataram que o Si tem efeitos deletérios sobre larvas de *Liriomyza* spp., reduzindo o número de minas foliares em plantas de batata inglesa cultivadas em sistema orgânico e adubadas com Si quando comparadas àquelas que não receberam Si na adubação.

Moraes et al. (2004), trabalhando com trigo, observaram que plantas que receberam Si, via foliar ou solo, tiveram uma menor infestação de pulgão-verde (*Schizaphis graminum*) quando comparadas às plantas que não receberam Si. Segundo Basagli et al. (2003), a aplicação de Si na forma de silicato de sódio no solo provoca baixa fecundidade e longevidade do pulgão verde em plantas de trigo. E no trabalho conduzido por Côrrea et al. (2005), o Si quando aplicado na forma de silicato de cálcio, no solo ou via foliar, em plantas de pepino (*Cucumis melo* L.), causou redução da oviposição, aumento do ciclo biológico e mortalidade na fase de ninfa de mosca-branca (*Bemisia tabaci* biótipo B).

Em estudo realizado por Keeping et al. (2009), utilizando-se de espectroscopia de raio-x por dispersão de energia (EDX), mostrou-se que o padrão de deposição de Si nos entrenós e na zona radicular do colmo é provavelmente a razão pelo aumento da resistência de plantas de cana-de-açúcar ao ataque de larvas de *Eldana saccharina*. E mais recentemente, Hartley et al. (2015), também utilizando EDX, comparando quatro diferentes espécies da família Poaceae (*Festuca arundinaceae*, *F. ovina*, *F. rubra* e *Deschampsia cespitosa*) entre si, concluiu que a morfologia de estruturas foliares (tricomas e células silicosas), modificadas ou aumentadas pelo depósito de Si, podem ser mais importantes do que a concentração foliar do elemento, em relação a resistência de plantas a herbivoria.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aplicação de silício no solo, semeadura e condução das plantas

O material de solo usado nos ensaios foi coletado de um Neossolo Quartzarênico órtico (RQo), a mais de 20cm de profundidade a partir da superfície, no município de Leme/SP. Nas análises de atributos químicos e físicos, o material apresentou 92% de areia, 1% de silte e 7% de argila, além de um baixo conteúdo de matéria orgânica, apenas 0,8%, e os seguintes valores dos atributos químicos (Tabela 1).

Tabela 1. Atributos químicos do solo antes dos tratamentos para os ensaios

Acidez	P	K+	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H + Al	SB	CTCe	CTC	V	m
pH-CaCl ₂	mg/dm ³	-----				mmol/dm ³	-----				----- % -----
4,7	6,0	0,6	5,0	3,0	0,8	13,0	8,6	9,4	21,6	40	9

Para uso nos ensaios, o solo foi seco ao ar, passado em peneira de 2mm de abertura de malha e homogeneizado. Para estabelecimento das concentrações de Si e dos valores de acidez para o cultivo das plantas, amostras do solo foram

tituladas com silicato de cálcio (CaSiO_3) ou com carbonato de cálcio (CaCO_3), umedecidas e incubadas no escuro por 30 dias. Após este período, foram medidas as concentrações de Si e Ca e o pH das amostras e duas curvas de titulação foram construídas, uma com cada corretivo de acidez do solo (Figura 1). Estas curvas foram então usadas para definir as quantidades de CaSiO_3 e de CaCO_3 que produziriam valores semelhantes de acidez e de concentração de Ca nas amostras dos diferentes tratamentos relativos à concentração de Si no solo.

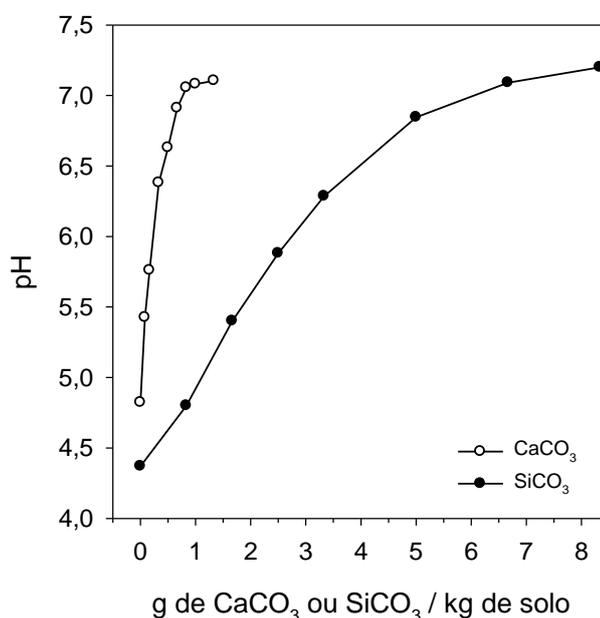


Figura 1. Variação da acidez ativa (pH) do Neossolo Quartzarênico órtico (RQo) como resultado da aplicação de carbonato de cálcio (CaCO_3) e silicato de cálcio (SiCO_3) e incubação por 30 dias.

Após aplicação de CaSiO_3 ou de CaCO_3 no solo de cada parcela, o mesmo foi fertilizado com macro e micronutrientes, seguindo sugestões de Van Raij et al. (1997) e Malavolta (1980) para que se chegasse às seguintes concentrações (em mg/kg): N = 120; P = 18 K = 200; Mg = 50; S = 50; B = 0,5; Cu = 1,5; Fe = 5,0 (como Fe-EDTA); Mn = 3,0; Mo = 0,1 e Zn = 5,0. Em seguida, 4 amostras de solo de cada tratamento (com CaSiO_3 e com CaCO_3) foram enviadas para análise em laboratório para determinação de Si, Ca e pH.

Nos ensaios foram utilizados vasos de 5 litros. A semeadura dos híbridos de milho no solo, especificados como HY01 e HY02 convencionais, foi realizada

colocando-se três sementes por vaso. Após germinação e emergência, as plântulas foram desbastadas mantendo-se apenas uma planta por vaso. As plantas foram crescidas em casa de vegetação com fotoperíodo de 12 horas, intensidade luminosa de aproximadamente $400 \mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 70% de umidade relativa do ar e sob sistema de irrigação automático, mantendo a umidade do solo próxima à capacidade de campo do mesmo.

4.2 Criação de *D. speciosa* em laboratório

Para obtenção dos ovos de *D. speciosa*, foram realizadas coletas de insetos adultos a campo, na estação experimental da Monsanto do Brasil LTDA, em Santa Cruz das Palmeiras, São Paulo, e os mesmos foram criados em laboratório até postura dos ovos (SISBIO: 41766-8).

A coleta foi realizada utilizando sugador manual adaptado, e ao todo foram coletados 800 insetos. No laboratório foi realizada uma triagem dos insetos adultos, para garantia de criação da espécie desejada, verificando as características morfológicas de acordo com Rosseto et al. (1989). Os exemplares obtidos foram colocados em gaiolas de criação, construídas em estrutura de alumínio, laterais constituídas de acrílico e tela de nylon com malha de 1 mm (Ávila; Tabai; Parra, 2000) e foram alimentados de acordo com a metodologia descrita por Ávila e Parra (2002).

Para obtenção das posturas seguiu-se a metodologia descrita por Milanez (1995), colocando dentro das gaiolas placas de Petri com tecido de coloração preta no fundo. Após a postura, os ovos foram retirados por meio de lavagem do tecido em água corrente dentro de um balde. Em seguida, foram agrupados realizando centrifugação manual da água e coletados com uma pipeta.

4.3 Avaliação da resistência natural de híbridos de milho a larvas de *D. speciosa*

A avaliação da resistência natural dos híbridos a larvas de *D. speciosa* foi realizada em dois ensaios distintos, sendo um com objetivo de verificar se existe efeito de antixenose e um segundo para verificar se existe efeito de antibiose.

Para execução do ensaio foi necessário realizar o preparo do solo, semeadura dos híbridos e a condução das plantas em casa de vegetação, com um total de 10 vasos para cada híbrido. Todo o procedimento foi realizado igualmente ao descrito no item 4.1, com exceção do acréscimo de silicato de cálcio, onde nesse caso, o mesmo não foi realizado.

As plantas foram conduzidas até o estágio vegetativo V4, por volta de 20 dias após semeadura. Em seguida, as raízes foram coletadas fazendo-se o corte e a remoção da parte aérea da planta, a retirada da raiz do solo e a lavagem das raízes em água corrente para limpeza do solo aderido. O material coletado foi imediatamente levado para o laboratório para uso nos ensaios.

Para a realização da infestação artificial das plantas, as larvas de *D. speciosa* foram obtidas utilizando o mesmo procedimento de criação descrito no item 4.2. Após coleta dos ovos, os mesmos foram dispostos em placas de Petri e colocados em temperatura ambiente para eclosão. Os ovos iniciaram a eclosão após 7 dias e logo em seguida, as neonatas foram utilizadas nos ensaios.

4.3.1 Ensaio de antixenose

O ensaio de antixenose foi realizado em laboratório, onde foi observada a preferência das larvas de *D. speciosa* pelas raízes de cada híbrido de milho em um ensaio de arena com chance de escolha. Raízes dos híbridos HY01 e HY02, previamente coletadas e lavadas, foram cortadas em segmentos de 10cm de comprimento e um segmento de raiz de cada híbrido, identificado por numeração para posterior avaliação, foi posicionado em uma placa de Petri de forma equidistante do centro da placa, forrada com papel de filtro umedecido com água destilada (Figura 2). No total foram montadas dez placas de Petri, representando dez repetições. O ensaio foi realizado duas vezes.

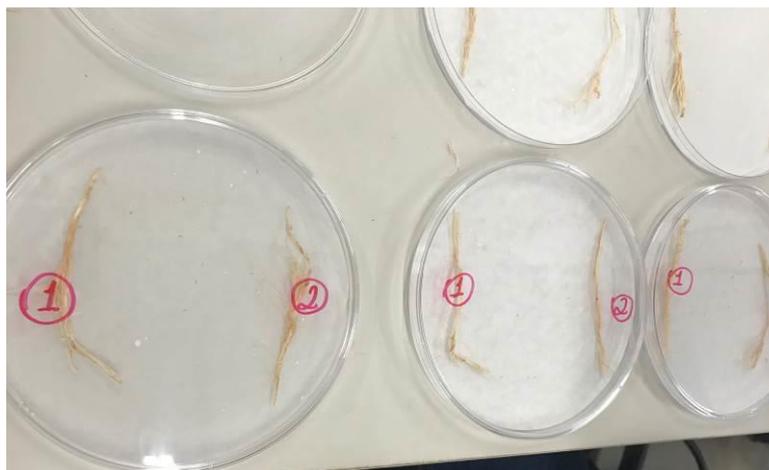


Figura 2. Detalhe da disposição dos segmentos de raízes nas placas utilizadas como arena.

No centro de cada placa foram liberadas 10 neonatas de larva de *D. speciosa*, e a placa foi devidamente vedada com papel filme e envolvida por papel alumínio para neutralizar a interferência da luz. As placas ficaram dispostas em prateleira, todas na mesma altura, em local com temperatura média de 26°C.

Ao final de 24 horas foi realizada a contagem do número de larvas se alimentando em cada uma das raízes (Figura 3), em cada repetição.



Figura 3. Detalhe das larvas de *D. speciosa* próximas da raiz avaliada, visualizadas utilizando-se de lupa.

4.3.2 Ensaio de antibiose

O ensaio de antibiose foi realizado em laboratório, onde foi avaliado o impacto da alimentação no desenvolvimento de neonatas de larvas de *D. speciosa*, utilizando tecido liofilizado das raízes dos híbridos HY01 e HY02, incorporados em dieta artificial. O experimento foi composto por três tratamentos (dieta artificial, dieta + HY01 e dieta + HY02) com quatro repetições. A unidade experimental foi composta pela média de 24 células por placa de bioensaio, sendo cada placa considerada uma repetição.

4.3.2.1 Liofilização das raízes

Amostras de raízes frescas dos dois híbridos foram adicionadas a tubos Falcon de 50mL e em seguida liofilizadas. Após a liofilização, os tubos foram armazenados em ultra freezer por 24 horas, para congelamento do material liofilizado, e em seguida o material congelado foi triturado em um pó fino.

O peso dos tubos, das amostras frescas e das amostras liofilizadas foram anotados para realização do cálculo de determinação da relação entre o peso seco e fresco das raízes.

4.3.2.2 Preparo de dieta artificial, montagem das placas e infestação com neonatas de *D. speciosa*

A dieta para alimentação das larvas foi preparada com ingredientes de acordo com o descrito pelo fabricante (Western CRW diet, Bio-Serve, Frenchtown, New Jersey), seguida da adição de tecido liofilizado das raízes dos híbridos HY01 e HY02.

Para o ensaio foram preparadas como tratamentos a dieta artificial (tratamento controle), dieta de CRW mais 0,66 mg de tecido liofilizado do híbrido HY01 e dieta de CRW mais 0,52 mg de tecido liofilizado do híbrido HY02. Essas quantidades de tecidos foram incorporadas em 30 ml de dieta, mantendo-se a mesma relação entre o peso seco e fresco das raízes.

Após o preparo, cada dieta foi distribuída em uma placa de bioensaio (24 células por repetição), com auxílio de um repipetador semi-automático (Figura 4), e aguardou-se por 30 minutos, sobre a bancada, para garantir o resfriamento da dieta.

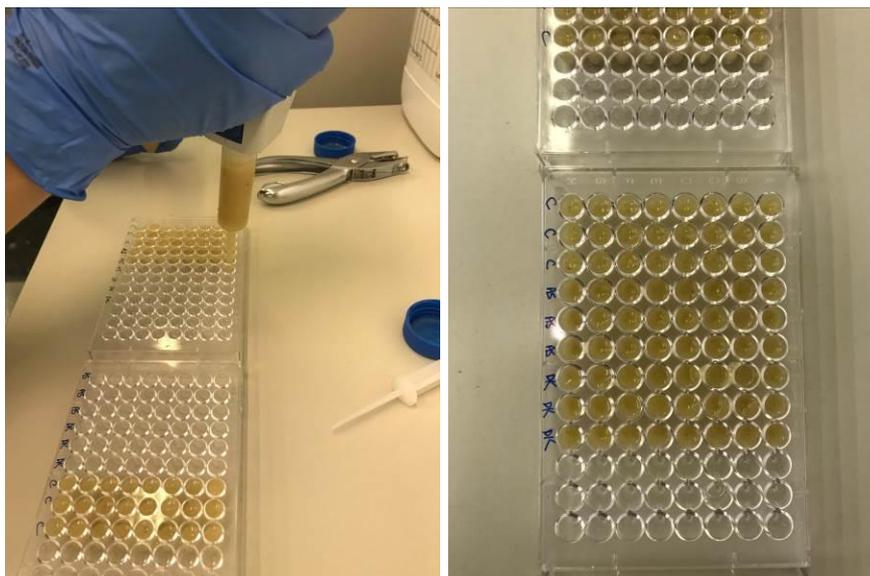


Figura 4. Distribuição da dieta nas placas de bioensaio.

A infestação das placas foi realizada após o resfriamento da dieta, sendo colocada uma larva recém eclodida por célula, com auxílio de pincel n1, totalizando 24 larvas por repetição (Figura 5).

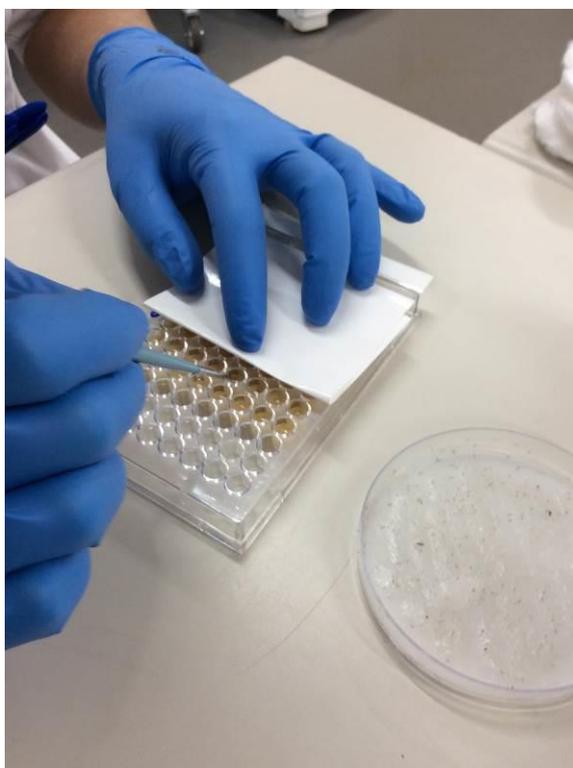


Figura 5. Infestação com neonatas de *D. speciosa*.

Após a infestação, as placas foram mantidas em BOD da marca Marconi, modelo MA-1402, com temperatura de 28°C, 70% de umidade relativa e conduzidas no escuro, por sete dias.

A avaliação do ensaio foi realizada sete dias após a infestação das placas. As informações de porcentagem de mortalidade, estágio de desenvolvimento larval e peso das larvas foram capturados.

4.4 Avaliação da resistência de híbridos de milho cultivados em solo fertilizado com silício a larvas de *D. speciosa*

Para avaliar o efeito do Si em promover resistência a larvas de *D. speciosa* em plantas de milho foi necessário conduzir um ensaio em casa de vegetação e realizar infestação artificial do solo com ovos de *D. speciosa*. Para execução do ensaio foi realizado o preparo do solo, semeadura dos híbridos e a condução das plantas igualmente ao descrito no item 4.1.

Os tratamentos experimentais resultaram da combinação de dois híbridos de milho (HY01 e HY02), dois valores de aplicação de silicato de cálcio no solo (0 e 3,33 g dm⁻³) e dois graus de infestação com larvas de *D. speciosa* (com e sem infestação). O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, em esquema fatorial. No total foram preparados 40 vasos para a execução do ensaio, todos preenchidos com 5 kg de solo.

4.4.1 Infestação do solo com ovos de *D. speciosa*

Para realizar a infestação do solo com ovos de *D. speciosa*, os mesmos foram colocados em suspensão em solução de ágar 0,25% (Figura 6). A solução de ágar foi preparada adicionando-se 2,5g de ágar por litro de água destilada. Em seguida, a solução foi aquecida em forno micro-ondas por 15 minutos, e para ser utilizada, aguardou-se até o seu completo resfriamento. Após o resfriamento, os ovos coletados foram adicionados à solução.

Para quantificação dos ovos, foram aplicadas paralelamente quatro alíquotas de 1ml cada sobre uma placa de Petri com diâmetro de 15cm, contendo um fundo

preto. Em cada alíquota foi realizada a contagem dos ovos e depois calculada a média de ovos/mL e estimado o número de ovos no volume total da solução.



Figura 6. Ovos de *Diabrotica speciosa* suspensos em solução de ágar 0,25%.

A infestação foi realizada no momento em que as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento vegetativo V4 (por volta de 15 dias após a semeadura), aplicando-se no interior do solo, a aproximadamente 5cm de profundidade, 6mL de solução de ovos em suspensão por vaso, totalizando 150 ovos por planta (Figura 7).



Figura 7. Infestação do solo com ovos de *Diabrotica speciosa*.

Para verificação da viabilidade dos ovos, foram aplicadas em uma placa de Petri quatro alíquotas de 5mL da solução de ovos em suspensão, e contabilizado o

número de ovos. A placa foi preservada em temperatura ambiente por 10 dias e após este período foi realizada a contagem de larvas eclodidas e o cálculo da porcentagem de viabilidade dos ovos.

4.4.2 Avaliação do grau de injúria na raiz causada por *D. speciosa*

A avaliação do grau de injúria nas raízes ocasionada pelas larvas de *D. speciosa* foi realizada 28 dias após a infestação, utilizando-se a metodologia descrita por Oleson et al. (2005), que consiste na contagem do número de raízes por coroa e do número total de raízes de comprimento menor do que 4cm por coroa, em três coroas consecutivas de cada planta. O número de raízes menores do que 4cm é então dividido pelo número total de raízes da coroa e os valores da divisão das três coroas avaliadas são somados. Assim, quanto maior for a injúria, maior será a soma e maior será a nota.

4.4.3 Avaliação de crescimento da planta, produção de biomassa e teor de Si na parte aérea e na raiz

A altura da planta foi medida 28 dias após a infestação com as larvas, sendo considerado o comprimento da base, rente ao solo, até a bainha da primeira folha totalmente expandida. Ao término do experimento, a parte aérea das plantas foi cortada rente ao solo e as raízes de todas as plantas foram lavadas em água para separação do solo aderido. Em seguida, foram colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 70°C para secagem e posterior determinação do peso seco.

Amostras de material seco e triturado da parte aérea e da raiz foram enviadas para o laboratório Laborsolo (Londrina, PR), para determinação do teor de Si.

4.4.4 Características anatômicas da raiz

Para realizar a caracterização anatômica radicular dos híbridos, duas raízes de cada repetição foram coletadas aleatoriamente e fixadas em FAA 70% (formaldeído, ácido acético glacial e etanol) e preservadas em álcool 50% (Johansen, 1940). Cada raiz foi seccionada transversalmente à mão livre com o

auxílio de lâminas em sua região mediana. Os cortes foram corados com Safra-Blau 0,05% (Bukatsh, 1972). Para a identificação de amido, foi utilizada a solução de Lugol (Bucherl, 1962); de lignina, floroglucina clorídrica (Jansen, 1962); dos lipídios, Sudan III (Johansen, 1940); e dos flavonóides, hidróxido de potássio (Costa, 1982). O objetivo dos testes histoquímicos foi verificar a presença de regiões esclerificadas, substâncias ergásticas ou diferenças na anatomia da raiz, podendo trazer indicativos de efeito do Si nos tecidos do sistema radicular.

4.5 Análise estatística dos dados

No ensaio de antixenose (item 4.3.1) os dados coletados foram transformados utilizando a fórmula $\sqrt{x + 0,5}$, submetidos ao teste de normalidade dos resíduos e análise de variância.

Para o ensaio descrito no item 4.4 as causas de variação consideradas foram os três fatores individuais (híbridos de milho, concentração de Si no solo e graus de infestação com larvas), as três interações duplas e a interação tripla entre eles. Os efeitos significativos de fatores individuais só serão apresentados e discutidos quando as interações não apresentarem efeitos significativos na análise de variância.

As médias obtidas nos tratamentos, em cada ensaio, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% utilizando o software R.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise química e concentração de Si no solo

O solo utilizado nos ensaios apresentou atributos conforme descrito na tabela 2, elevando o pH e aumentando os valores de macro nutrientes em relação ao solo original.

Tabela 2. Atributos químicos do solo após a fertilização para os ensaios

Acidez	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H + Al	SB	CTCe	CTC	V	m
pH-CaCl ₂	mg/dm ³	----- mmol/dm ³ -----				----- % -----					
6,1	31,0	1,5	11,5	3,6	0,8	10,0	16,6	17,4	26,6	60	5

A análise estatística revelou diferença significativa do teor de Si entre os tratamentos com e sem aplicação do elemento. No solo onde foi aplicado o elemento, foi verificado um valor médio de 12,25 mg dm⁻³ de Si, e no solo sem aplicação, o valor médio encontrado foi de 2,25 mg dm⁻³ (Tabela 3). Estes valores podem ser classificados como médio (6-24 mg dm⁻³) e baixo (< 6 mg dm⁻³), respectivamente, de acordo com a sugestão de Korndörfer et al. (1999). Valores semelhantes ao encontrado nesse trabalho no tratamento sem aplicação de Si

também foram relatados por Camargo et al. (2007) com o mesmo tipo de solo. Os valores de Ca e pH foram semelhantes entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Teores de Si, Ca e pH do solo nos tratamentos com aplicação de CaSiO_3 e CaCO_3

Tratamento	Si (mg/dm ³)	Ca ²⁺ (cmol _c /dm ³)	pH
CaSiO ₃	12,25 a	1,66 a	6,1 a
CaCO ₃	2,25 b	1,31 a	6,1 a

Números seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Médias de 4 repetições.

5.2 Resistência natural de híbridos de milho a larvas de *D. speciosa*

5.2.1 Avaliação de antixenose

O resultado em relação a preferência e não-preferência das larvas de *D. speciosa* às raízes dos híbridos avaliados mostrou que o HY01 foi o mais preferido no ensaio com chance de escolha. Nos dois ensaios conduzidos, foi observado um número médio significativamente maior de larvas se alimentando do híbrido HY01 do que no híbrido HY02 (Tabela 4).

Tabela 4. Contagem de larvas de *D. speciosa* próximas ou em cima de cada uma das raízes dos dois híbridos de milho no ensaio de arena, com chance de escolha

Híbrido	Número médio de larvas (ensaio 1)	Número médio de larvas (ensaio 2)
HY01	5,7 ± 0,39a	5,5 ± 0,30a
HY02	2,1 ± 0,45b	2,5 ± 0,48b

Números seguidos por letras iguais, na mesma coluna dentro de cada ensaio, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Médias de 10 repetições. (média ± erro padrão)

Esse é o primeiro trabalho evidenciando antixenose natural em híbrido de milho contra *D. speciosa* em laboratório. Um trabalho desenvolvido por Bernklau et. al. (2010) mostrou que existe genótipo de milho (SUM2162) que apresenta antixenose à *D. virgifera virgifera*, no entanto o mecanismo ainda é desconhecido.

5.2.2 Avaliação de antibiose

No ensaio de antibiose, não foi encontrada diferença estatística significativa para as variáveis porcentagem de mortalidade e estágio de desenvolvimento larval. Por outro lado, foi encontrada diferença de peso larval entre os tratamentos avaliados. As larvas que foram alimentadas com a dieta contendo material liofilizado de raiz do híbrido HY01 apresentaram peso médio (0,24 mg) significativamente menor que o encontrado para as larvas alimentadas com dieta-controle (0,34 mg) e com dieta contendo material de raiz do híbrido HY02 (0,30 mg). O resultado encontrado para o HY01 apresenta uma redução de peso de 29,4% em relação a dieta-controle, e de 20% em relação a dieta contendo material de raiz do híbrido HY02. (Tabela 5).

Tabela 5. Peso de larvas de *D. speciosa* alimentadas com dieta contendo material de raiz liofilizado de dois híbridos de milho

Tratamento	Peso médio (mg)
HY01	0,24 ± 0,015a
HY02	0,30 ± 0,019b
Controle	0,34 ± 0,036b

Números seguidos por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Médias de 4 repetições. (média ± desvio padrão)

A antibiose geralmente está relacionada com mecanismo químico de defesa da planta, sendo os compostos secundários, como os fenóis, o grupo mais comum de resposta da planta ao ataque de herbívoros (Lattanzio et. al., 2006). Nesse caso, sugere-se que o HY01 produza alguma substância em maior concentração, ou diferente, em relação ao HY02, que possa estar inibindo a digestão ou sendo menos nutritivo para o desenvolvimento das larvas de *D. speciosa*, no ensaio com tecido liofilizado.

5.3 Grau de injúria na raiz causada por *D. speciosa*

A análise de variância revelou efeito significativo da interação dupla entre graus de infestação e híbridos no grau de injúria causada pelas larvas no sistema radicular das plantas de milho. Somente as plantas das parcelas com infestação apresentaram injúrias em suas raízes (Figura 8). Sob infestação, o híbrido HY01 apresentou nota média de dano de 1,10, um grau de injúria significativamente menor do que o híbrido HY02, com média de 1,73 (Figura 9). Esse resultado sugere que o HY01 apresenta maior resistência a *D. speciosa* do que o HY02. El Khishen et al. (2009) atribuíram em seu estudo uma nota média de injúria de 1,17 ao híbrido SUM2068 e de 1,13 ao híbrido CRW3 (S1), ambos desenvolvidos para resistência a *Diabrotica virgifera virgifera*, sendo tais valores maiores do que o encontrado para o híbrido HY01 (1,10) no presente trabalho. Para o híbrido B37 x H84, suscetível à praga e usado no estudo como controle, os autores atribuíram nota média de 1,58, valor menor do que o encontrado para o HY02 neste trabalho, que apresentou nota média de 1,73.

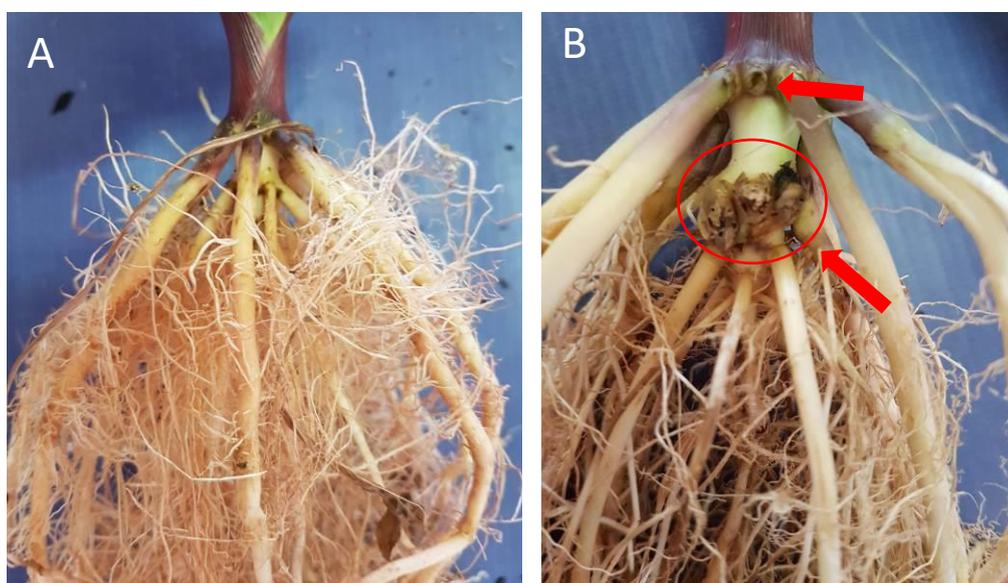


Figura 8. Detalhe das raízes de plantas sem infestação e sem injúria (A) e de raízes de plantas com infestação e com injúrias (B) ocasionada por larvas de *D. speciosa*.

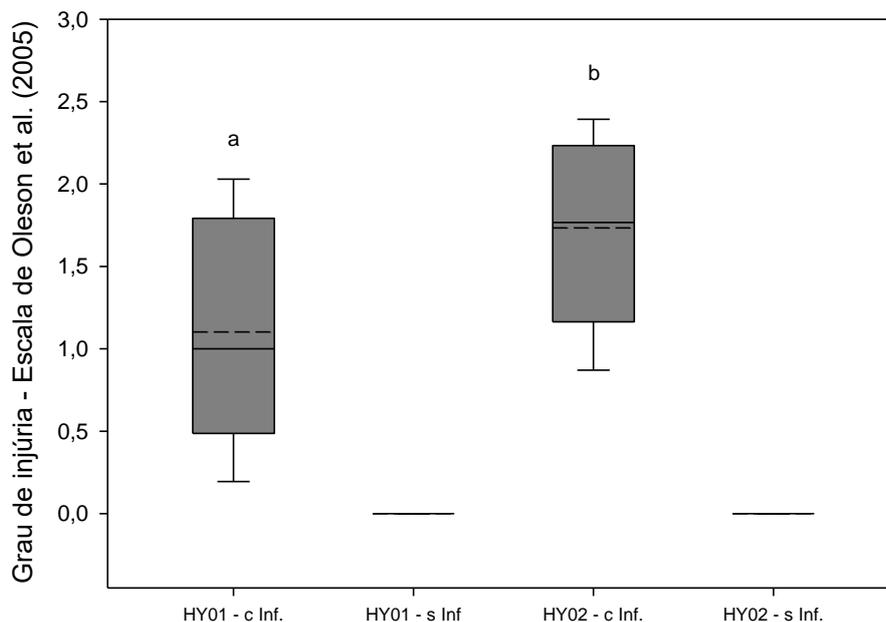


Figura 9. Grau de injúria ocasionada pelas larvas de *D. speciosa* em raiz de híbridos de milho. s Inf. = Sem infestação da praga; c Inf. = Com infestação da praga.

Apesar das diferenças de injúrias encontradas entre os dois híbridos testados, não foram encontradas diferenças significativas no grau de injúria causada por *D. speciosa* entre os tratamentos com e sem aplicação de Si. Era esperado que houvesse alguma redução da injúria na raiz quando houvesse variação na disponibilidade de Si no solo. Essa hipótese de que o elemento pudesse promover resistência da planta à praga havia sido levantada uma vez que já foi comprovado que o Si é capaz de induzir resistência à herbivoria em outras partes da planta de distintas espécies vegetais (Goussain et al., 2002; Gomes et al., 2009; Keeping et al., 2009; Zanão Júnior et al., 2009; Nascimento et al., 2014; Hartley et al., 2015).

5.4 Morfoanatomia do sistema radicular

As características anatômicas observadas nos tecidos epiderme, córtex e cilindro vascular da porção da raiz analisada foram semelhantes entre os híbridos. A epiderme apresentou-se uni-seriada em ambos os híbridos. O córtex estava dividido em três regiões: exoderme, córtex propriamente dito, com células parenquimáticas, e endoderme, envolvendo o cilindro vascular. No cilindro vascular observa-se o periciclo, os feixes vasculares, com protoxilema revestido com células esclerificadas,

e o parênquima medular mais internamente, composto por células globosas com pequenos espaços intercelulares (Figura 10). As características encontradas nesse trabalho também foram descritas por Ferrer et al. (2004), Pereira et al. (2008) e Bergamin et al. (2010).

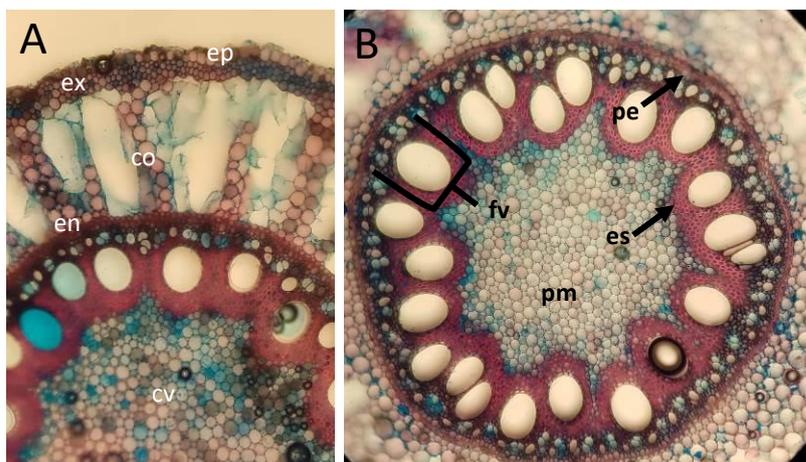


Figura 10. Cortes transversais de raízes de híbridos de milho observados em microscópio óptico evidenciando características anatômicas. en= endoderme; ep= epiderme; ex= exoderme; co= córtex; cv= cilindro vascular; fv= feixe vascular; pe= periciclo; pm= parênquima medular; es= esclerênquima.

A análise de variância revelou efeito simples de híbridos e de concentrações de Si no solo para a variável de número de camadas de células do córtex (Tabela 6). O híbrido HY01 apresentou número de camadas de células do córtex significativamente maior do que o HY02 (Tabela 6). Em condição de maior disponibilidade de Si no solo, a média de número de camadas de células do córtex é maior do que na condição de menor disponibilidade do elemento. O número de camadas de células pode ser uma característica genotípica, e ser esse o motivo da diferença entre os dois híbridos.

Em relação à diferença do número de camadas de células do córtex associada à disponibilidade de Si no solo, esse é o primeiro trabalho que analisa tal variável. Como não houve diferença significativa do grau de injúria na raiz entre os tratamentos com e sem aplicação de Si, é provável que esta característica não tenha relação com a herbivoria da praga.

Tabela 6. Número de camadas de células do córtex dos híbridos e dos tratamentos com e sem aplicação de Si no solo

Tratamento	Número médio de camadas de células do córtex
HY01	13,69 ± 0,48a
HY02	12,06 ± 0,50b
Com Si	13,69 ± 0,54a
Sem Si	12,06 ± 0,43b

Números seguidos por letras iguais, na mesma coluna dentro de cada fator, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Médias de 4 repetições. (média ± erro padrão)

Com o teste histoquímico utilizando Sudan III foi observada uma suberização na região da exoderme (Figura 11a), revelada pela coloração vermelha. Nesse caso, o híbrido HY01 submetido à infestação da praga e aplicação de Si apresentou células suberizadas, o que não foi encontrado no híbrido HY02, com os mesmos tratamentos (Figura 11b). A suberização dessa região pode ser um mecanismo de defesa para minimizar estresses abióticos (Rieger; Litvin, 1999; Enstone; Peterson, 2005; Cruz Maciel, 2015) e também pode ser uma forma de defesa da planta contra pragas, uma vez que a suberina promove uma dureza do tecido. Nesse caso, como só foi encontrada a substância nos tratamentos com a praga e com aplicação de Si, sugere-se que pode ter ocorrido uma indução da formação de suberina, pois o elemento participa como estimulante da atividade de enzimas de defesa das plantas contra a herbivoria (Dixon et al., 1994) como a peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amonialiase (Gomes et al., 2005), cujas funções estão relacionadas à síntese de substâncias que contribuem para aumentar a dureza dos tecidos (lignina e suberina) e à redução da qualidade nutricional do alimento para os herbívoros (Oliveira et al., 2012).

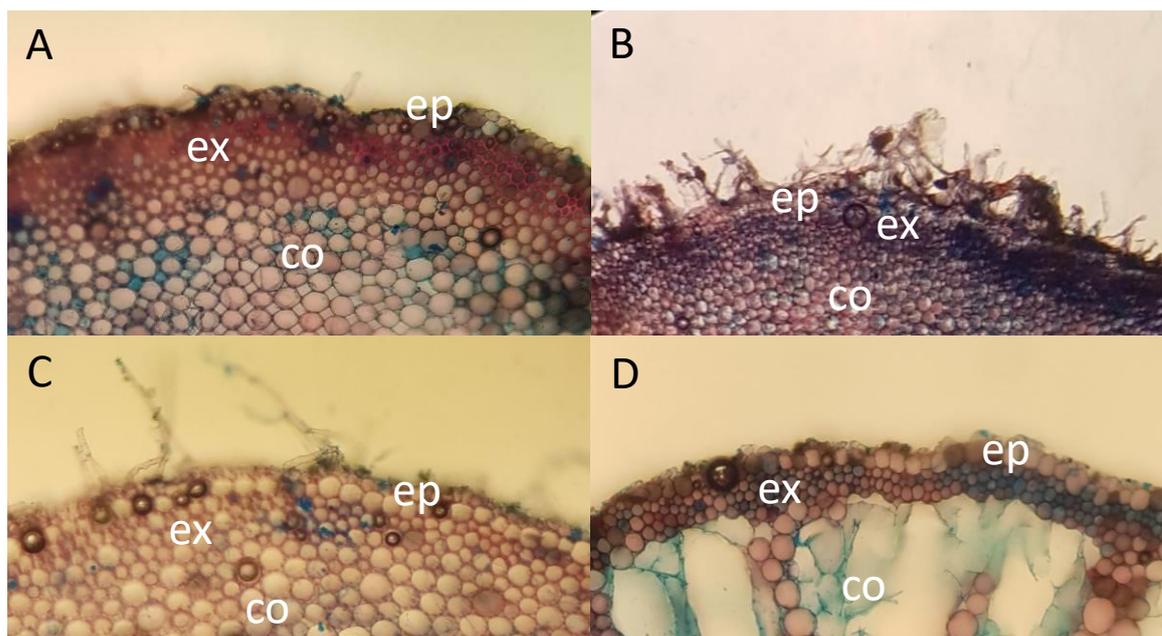


Figura 11. Cortes transversais de raiz de híbridos de milho observados em microscópio óptico evidenciando diferença na exoderme entre genótipos. A= HY01 Com Si, Com infestação; B= HY02 Com Si, Com infestação; C= HY01 Com Si, Sem infestação; C= HY02 Com Si, Sem infestação. Ep= epiderme, ex= exoderme, co= córtex.

5.5 Teor de Si na raiz e na parte aérea das plantas

A análise de variância não revelou diferenças significativas entre os tratamentos para o teor de Si no sistema radicular, nem mesmo entre os tratamentos com e sem aplicação de Si. O valor médio de concentração de Si encontrado na raiz foi de 3,3 mg/g de matéria seca (MS) para todos os tratamentos.

Já na parte aérea, observou-se um valor maior de teor de Si nos tratamentos com aplicação do elemento em relação aos tratamentos sem aplicação, independentemente de infestação com *D. speciosa* ou do híbrido analisado, evidenciando uma maior absorção e translocação para a parte aérea quando da ocorrência de maior disponibilidade de Si no solo (Tabela 7). Giongo e Bohnen (2011), trabalhando com diferentes genótipos de milho, também observaram um maior teor de Si na parte aérea quando compararam tratamentos com e sem adição do elemento no solo.

Foi encontrada interação dupla significativa entre híbridos e infestação com *D. speciosa* para teor de Si na parte aérea. Nesse caso, com a presença da praga, o teor de Si na parte aérea foi semelhante entre os híbridos. E quando não infestado, o híbrido HY01 apresentou teor de Si mais alto do que o híbrido HY02 (Tabela 7).

Esse resultado sugere que o híbrido HY01 apresentou uma maior sensibilidade ao estresse biótico, na absorção e translocação do Si para a parte aérea, ou, que o híbrido HY02 compensou a absorção do elemento na condição de estresse.

Tabela 7. Teor de Si na parte aérea das plantas de milho cultivadas em solo fertilizado com Si

Tratamento (aplicação de Si – Híbridos)	Com infestação (mg/g)	Sem infestação (mg/g)
Com Si	3,01 aA	3,17 aA
Sem Si	1,47 bB	1,80 bA
HY01	2,24 bB	2,60 aA
HY02	2,34 bB	2,32 bB

Números seguidos por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, e letras maiúsculas iguais, na mesma linha, dentro de cada tratamento (Si/Híbrido) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Médias de 4 repetições.

5.6 Acúmulo de Si na planta

Quando avaliado o acúmulo total de Si na planta (raiz + parte aérea), o híbrido HY01 acumulou significativamente mais Si do que o híbrido HY02, com valores médios de 56,97mg e 35,23mg de Si por planta, respectivamente (Figura 12a). As plantas cultivadas no solo onde foi aplicado silicato de cálcio acumularam mais Si (57,27mg) do que as plantas cultivadas sem aplicação do elemento (34,93mg) (Figura 12b). Também foi observada diferença significativa entre plantas sem infestação e plantas com infestação da praga, em que as plantas infestadas acumularam menos Si (35,20mg) do que as plantas sem infestação (57,00mg) (Figura 12c).

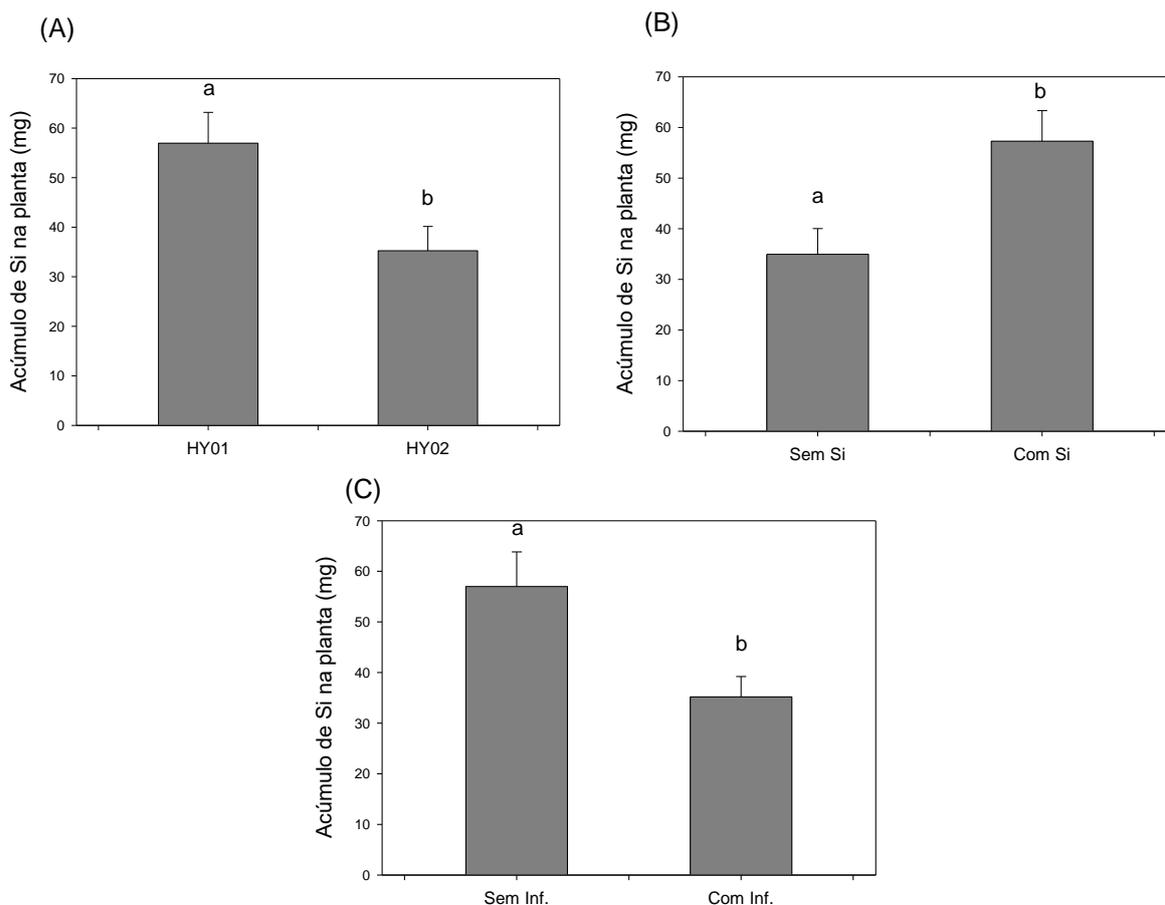


Figura 12. Valores de acúmulo de Si total da planta comparando as diferenças encontradas entre híbridos (A), aplicação de Si (B) e infestação de *D. speciosa* (C) (média \pm erro padrão). Médias com diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

Os valores de Si apresentados na análise química do solo mostram que para cada vaso foram disponibilizados em média 61,25mg de Si, no tratamento com aplicação de CaSiO_3 , e em média 11,25mg de Si, no tratamento sem aplicação do elemento. Como pode ser observado na figura 8, as plantas foram capazes de extrair uma quantidade significativa do elemento do solo. Prado e Korndorfer (2003) não obtiveram resposta de desenvolvimento da planta, quando aplicaram escória de siderurgia como fonte de Si na cultura do milho, mesmo apresentando alta disponibilidade do elemento, sugerindo que a cultura do milho pode não ter respondido ao silício, mesmo presente no interior da planta.

5.7 Produção de biomassa da parte aérea e do sistema radicular

Para a variável altura de planta, a análise de variância mostrou somente diferença entre híbridos, no qual o HY01 foi significativamente maior do que o HY02 (Figura 13).

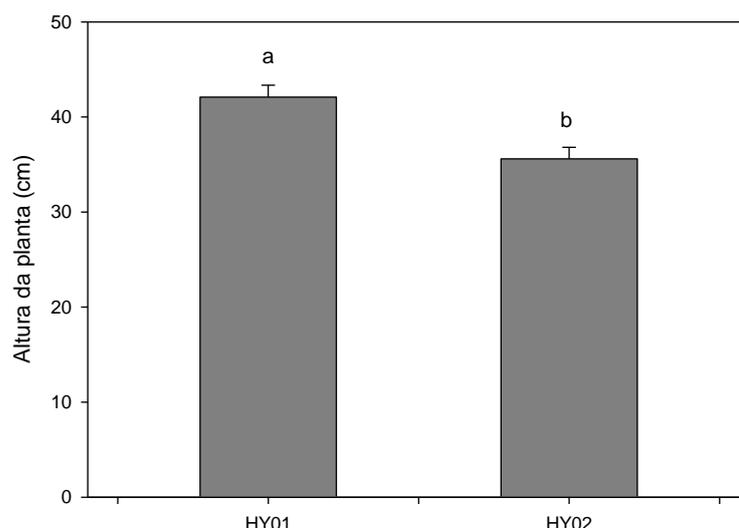


Figura 13. Altura das plantas dos dois híbridos de milho no estágio V10. (média \pm erro padrão). Barras com letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Em relação à produção de biomassa da parte aérea, não foi encontrado efeito significativo do Si, mas houve efeito simples de híbrido e de grau de infestação. O híbrido HY01 apresentou mais massa da parte aérea seca do que o híbrido HY02 (Figura 14a). Sob infestação, os valores de massa para ambos os híbridos foram menores. Comparando à massa das plantas sem infestação, a massa das plantas infestadas foi 21% menor (Figura 14b). Tal efeito pode ter sido ocasionado por uma possível redução de absorção de nutrientes do solo pela planta, uma vez que a injúria ocasionada pelas larvas diminui a quantidade de raízes e conseqüentemente prejudica a absorção de água e minerais no solo. Marques et al. (1999) também encontraram redução significativa de biomassa da parte aérea de plantas de milho infestadas com a praga, e atribuíram esse efeito à redução do sistema radicular ocasionado pela alimentação de larvas de *D. speciosa*.

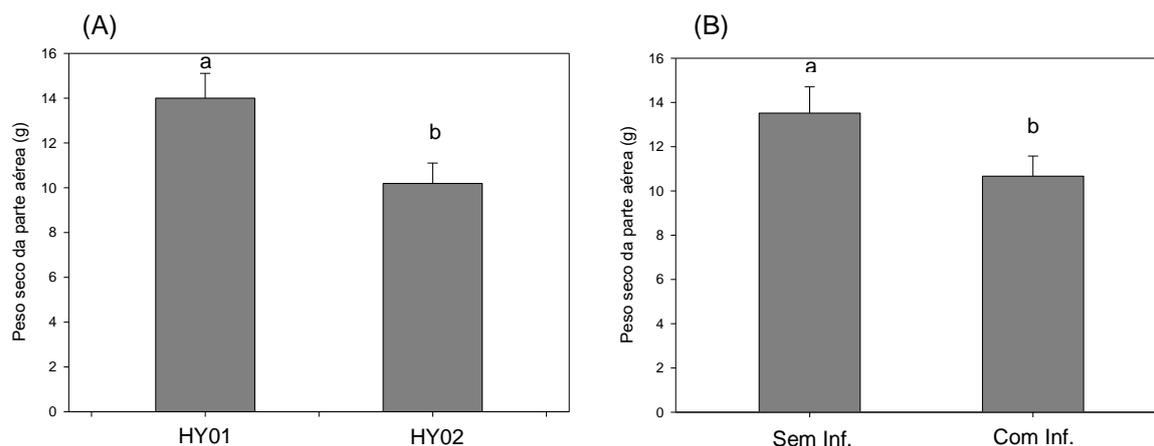


Figura 14. Comparação da massa da parte aérea seca dos híbridos (A), e do efeito da infestação (B) (média \pm erro padrão). Barras com letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Para a variável produção de massa de raiz, observou-se interação tripla significativa dos fatores estudados. Ao comparar os genótipos, o híbrido HY01 produziu mais biomassa do que o híbrido HY02, na ausência da praga e sem aplicação de Si (Figura 15). Tal resultado pode indicar que naturalmente o híbrido HY01 produza mais biomassa do sistema radicular em comparação ao híbrido HY02, podendo ser um dos fatores para a menor injúria encontrada na raiz do HY01. Como sugerido por Viana (2010), uma das características de uma planta resistente ao ataque da larva é a presença de um sistema radicular mais desenvolvido e/ou com maior capacidade de emissão de novas raízes ao longo do período de ataque.

A infestação da praga diminuiu significativamente a biomassa da raiz quando comparados os tratamentos com e sem infestação, evidenciando a capacidade da praga em prejudicar o desenvolvimento da planta ao se alimentar do sistema radicular.

Quando comparados os tratamentos com e sem Si, na ausência da praga, o híbrido HY01 produziu menos biomassa na condição de maior disponibilidade do elemento, sendo o oposto do encontrado para o híbrido HY02. Restrição no desenvolvimento radicular também foi observado por Ribeiro et al. (2011) em plantas de cafeeiro cv. Catuaí Vermelho, conduzidos em solo suplementado com silicato de cálcio. Embora tenha ocorrido uma diminuição da massa seca da raiz, o autor mostra que não houve interferência no desenvolvimento da parte aérea das plantas.

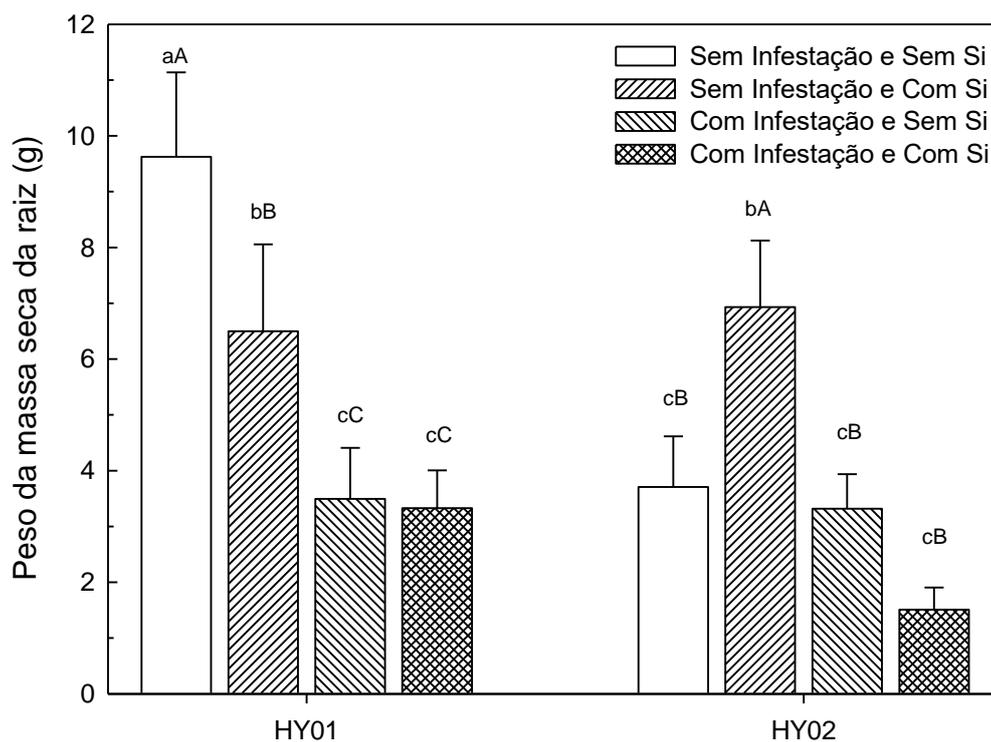


Figura 15. Massa da raiz seca de híbridos de milho. (média \pm erro padrão). Diferenças encontradas no desdobramento das interações. Letras minúsculas iguais (entre os híbridos) e maiúsculas iguais (dentro do híbrido), não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Os maiores valores de crescimento e biomassa encontrados para o híbrido HY01, tanto na parte aérea quanto na raiz, e, principalmente, a menor injúria sob infestação reforçam a hipótese de que tal híbrido apresenta um grau de resistência a praga maior que o HY02. Ficou evidenciado, de forma geral, redução significativa de valores das variáveis avaliadas, ocasionado pelo ataque da praga, e mesmo sob efeito desse estresse, o HY01 apresentou uma melhor resposta de crescimento e produção de biomassa em relação ao HY02.

6 CONCLUSÕES

O híbrido HY01 apresenta um grau maior de resistência ao ataque de larvas de *D. speciosa* em relação ao híbrido HY02, que pode ser considerado uma resistência nativa.

A aplicação do Si, na metodologia utilizada nesse estudo, não foi capaz de promover resistência ao ataque da larva de *D. speciosa* no sistema radicular dos híbridos de milho testados.

O Si induziu modificações na anatomia do sistema radicular do híbrido HY01, sob estresse biótico.

7 LITERATURA CITADA

ARAÚJO, J. C. T., NASCIMENTO, C. W. A., CUNHA FILHO, F. F. Disponibilidade de silício e biomassa de milho em solo contaminado por chumbo tratado com silicato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 5, p. 878-883, 2011.

ÁVILA, C. J.; GOMEZ, S. A. Controle químico de larvas de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) na cultura do milho. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA DE PRAGAS DO SOLO, 8., 2001, Londrina. **Ata e resumos...Londrina: Embrapa Soja**, 2001. p. 254-257.

ÁVILA, C. J.; MILANEZ, J. M. Larva-alfinete. In: SALVADORI, J. R.; ÁVILA, C. J.; SILVA, M. T. B. da (Ed.). **Pragas de solo no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa Trigo; Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz Alta: Fundacep Fecotrigo, 2004. p. 345-378.

ÁVILA, C.J.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em diferentes hospedeiros. **Revista Ciência Rural**, v.32, p.739-743, 2002.

ÁVILA, C.J.; TABAI, A.C.P.; PARRA, J.R.P. Comparação de técnicas para criação de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em dietas natural e artificial. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, p.257-267, 2000.

BASAGLI, M. A. B. et al. Effect of sodium silicate application on the resistance of wheat plants to the green-aphids *Schizaphis graminum* (Rond.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 659-663, 2003.

BARBOSA FILHO, M. P. et al. Silicato de cálcio como fonte de silício para o arroz de sequeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 325-330, 2001.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G.A.; COMIRAN, F.; BERGONCI, J.I.; MÜLLER, A.G.; FRANÇA, S.; SANTOS, A.O.; RADIN, B.; BIANCHI, C.A.M.; PEREIRA, P.G. Deficit hídrico e produtividade na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.243-249, 2006.

BERGAMIN, A.C.; VITORINO, A.C.T.; LEMPP, B.; SOUZA, C.M.A. & SOUZA, F.R. Anatomia radicular de milho em solo compactado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 299-305, 2010.

BERNKLAU, E. J., L. B. BJOSTAD, e B. E. HIBBARD. Antixenosis in maize reduces feeding by western corn rootworm larvae (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 103, p. 2052-2060, 2010.

BÜCHERL, W. **Técnica Microscópica**. São Paulo: Polígono, 1962. 123p.

BUKATSH, F. Benerkemgem zeir doppelfarbeing astrablau-safranina. **Microkosmos**, v. 61, p. 255-256, 1972.

BOFF, M.I.C.; GANDIN, C.L. Principais pragas da cultura da melancia e seu controle. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 5, p. 39-41, 1992.

CAMARGO, M. S., KORNDÖRFER, G. H., PEREIRA, H. S. Solubilidade do silício em solos: Influência do calcário e ácido silícico aplicados. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 637-647, 2007.

CARVALHO, R.A., DOURADO, P.M., OLIVEIRA JR., J.A., MARTINELLI, S.M. Plantas transgênicas no controle de *Diabrotica* spp. In: NAVA, D. E.; ÁVILA, C. J.; PINTO, A. S. (Ed.). **Diabrotica speciosa**. Piracicaba: Occasio, 2016. p. 85-103.

CHERIFI, M., N. BENHAMOU, N., MENZIES, J.G., BELANGER, R.R. Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. Amsterdam, V.41, p.411-425, 1992.

CONAB-**Companhia Nacional de Abastecimento**. Safra 2017/2018. Acesso em 24 jul. 2018. Online. Disponível em: www.conab.gov.br.

CORREA, R. S. B. et al. Silício e Acibenzolar-S-Methyl Como Indutores de Resistência em Pepino, à Mosca-Branca Bemisia tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) Biótipo B. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 429-433, 2005.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982. 1104 p.

CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da Spodoptera frugiperda em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n.3, p. 355-60, 1982.

CRUZ, I.; BIANCO, R. Manejo de pragas na cultura de milho safrinha. In: **SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA**, 6., 2001, Londrina. Anais. Londrina: Iapar, 2001. p.79-112.

CRUZ MACIEL, J.R., OLIVEIRA, D., FADIN, D.A. et al. Morpho-anatomical characteristics conferring drought tolerance in roots of sugar cane genotypes (*Saccharum* L., Poaceae). **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v.38, p.951–960, 2015

DEREN, L.W.; DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H. Variable silicon content of rice cultivars grown on Everglades Histosols. **Journal of Plant Nutrition**, v. 15, p. 2.363-2.368, 1992.

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

DUARTE, S. L. **Comportamento das variáveis dos custos de produção das culturas de café, cana-de-açúcar, milho e soja em relação ao preço de venda**. Dissertação (Mestrado em Administração) – Programa de Pós Graduação em Administração, Universidade Federal de Uberlândia. 2010.

EL KHISHEN, A. A.; BOHN M. O.; PRISCHMAN-VOLDSETH D. A.; DASHIELL K. E.; FRENCH B. W.; HIBBARD B. E. Native resistance to western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larval feeding: characterization and mechanisms. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 6, p. 2350-2359, 2009

ENSTONE, D. E.; PETERSON, C. A. Suberin lamella development in maize seedling roots grown in aerated and stagnant conditions. **Plant, Cell and Environmental**, v. 28, n. 4, p. 444-455. 2005.

EPSTEIN E. & BLOOM A. J. **Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives** (Sinauer, Sunderland, MA), 2nd Ed. 2005. 400p.

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

FARIA JÚNIOR, L. A., CARVALHO, J. G., PINHO, P. J., BASTOS, A. R. R., FERREIRA, E. V. O. Produção de matéria seca, teor e acúmulo de silício em cultivares de arroz sob doses de silício. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1034-1040, 2009.

FERRER, J.L.R.; CASTRO, E.M. de; ALVES, J.D.; ALEANCAR, M.A.; SILVA, S. da; VIEIRA, C.V.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do cálcio sobre as características anatômicas de raízes de milho (*Zea mays* L.) "Saracura" BRS-4154 submetido ao alagamento em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.3, p.172-181, 2004.

FOX, R.L. & SILVA, J.A. **Symptoms of plant malnutrition silicon an ergonomically essential nutrient for sugarcane**. Hawaii, University of Hawaii, 1978. p.85.

GALLO, P. *Diabrotica speciosa* na cultura do milho. Informativo da Fundação ABC, n.12, 2001, 14p.

GALLO, P. **Efeito do evento MON 88017 (Cry3Bb1), de inseticida e da época de semeadura na redução do dano de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) na raiz do milho**. 2012. 75f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

GASSEN, D.N. **Insetos associados à cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1994. 92p.

GASSEN, D.N. **Manejo de pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. 132p.

GASSEN, D.N. Novos problemas com pragas na cultura do milho safrinha. In: SEMINÁRIO SOBRE ACULTURA DO MILHO SAFRINHA, 5., 1999, Barretos. **Anais. Campinas: IAC**, p.51-76, 1999.

GIONGO, V.; BOHNEN, H. Relação entre alumínio e silício em genótipos de milho resistente e sensível a toxidez de alumínio. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 3, p. 348-356, 2011.

GOMES, F. B.; MORAES, J. C.; NERIS, D. K. P. Adubação com silício como fator de resistência a insetos-praga e promotor de produtividade em cultura de bata inglesa em sistema orgânico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 18-23, 2009.

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. 2005.

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 de lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v.31, n.2, p.305-310, 2002.

GROTHGE-LIMA, M.T. **Interrelação cancro da haste (*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*), nodulação (*Bradyrhizobium japonicum*) e silício em soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**. Piracicaba, 1998. 58p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.

HARTLEY, S. E., FITT, R. N., McLARNON, E. L., WADE, R. N. Defending the leaf surface: intra- and inter-specific differences in silicon deposition in grasses in response to damage and silicon supply. **Frontiers in Plant Science**. v.6, p. 35, 2015.

HILLS, T. M.; PETERS, D. C. A method of evaluating postplanting insecticide treatments for control of western corn rootworm larvae. **Journal of Economic Entomology**, v. 64, p. 764-765, 1971.

JANSEN, W.A. **Botanical histochemistry**. San Francisco: H.H. Freeman & Co., 1962. 480 p.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw Hill, 1940. 523p.

KEEPING, M. G., KVEDARAS, O. L., BRUTON, A. G. Epidermal silicon in sugarcane: cultivar differences and role in resistance to sugarcane borer *Eldana saccharina*. **Environmental and Experimental Botany**. Lancaster. v. 66, p. 54–60, 2009.

KHALER, A.L.; OLNESS, A.E.; SUTTER, G.R.; DYBING, C.D.; DEVINE, O.J. Root damage by corn rootworm and nutrient content in maize. **Agronomy Journal**, v.77, n.5, p.769-774, 1985.

KORNDÖRFER, G. H. et al. Avaliação de métodos de extração de silício em solos cultivados com arroz de sequeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 23, v. 1, p. 101-106, 1999.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H.; CAMARGO, M. S. **Silicatos de cálcio e magnésio na agricultura**. 2. ed. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Agrárias, 2003. 15 p. (Boletim técnico, 1)

KORNDÖRFER, G. H. et al. Calibration of soil and plant silicon analysis for rice production. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, p. 1071-1084, 2001.

KORNDÖRFER, G. H.; DATNOFF, L. E. Adubação com silício: uma alternativa no controle de doenças da cana-de-açúcar e do arroz. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, v. 70, p. 1-5, 1995.

KORNDÖRFER, G. H. Elementos benéficos. In: **Nutrição mineral de plantas**. FERNANDES, M. S. (Ed.). Viçosa: SBCS, 2006. 432p.

LANNING, F.C.; PONNAIYA, B.W.X. & CRUMPTON, C.F. The chemical nature of silica in plants. **Plant Physiology**, v. 33, p. 339- 343, 1958.

LATTANZIO, V.; LATTANZIO, V.M.T; CARDINALI, A. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. **Phytochemistry: Advances in Research**. Kerala: Research Signpost, 2006. cap. 2, p. 23-67.

MARQUES, G. B. C.; ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P. Danos causados por larvas e adultos de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 11, p. 1983-1986, 1999.

MELLO, M.O.; SILVA-FILHO, M.C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, PR, V. 14, n. 2, p 71-81, 2002.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic, 1995. 889 p.

MILANEZ, J.M. **Técnicas de criação e bioecologia de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae)**. 1995. 102f. Tese (Doutorado em entomologia) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, Piracicaba.

MORAES, J. C. et al. Influência do Silício na Interação Tritrófica: Plantas de Trigo, Pulgão-Verde *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) e seus Inimigos Naturais *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) e *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 619-624. 2004.

MOREIRA, A. S. F. P.; ISAIAS, R. M. S. Comparative anatomy of the absorption roots of terrestrial and epiphytic orchids. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n.1, p. 83-93. 2008.

MÜLLER, L. e ZANÃO JÚNIOR, L. A. Potencial da aplicação de silício como ferramenta no manejo integrado de pragas. **Acta Iguazu**, Cascavel, v.3, n.4, p. 104-112, 2014.

NALESSO, S. M., MONTES, R. M., RAGA, A. O uso do silício no manejo de pragas. (Documento Técnico) **Instituto Biológico-APTA**, v. 17, p. 1-13, 2015.

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. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 2, p. 215-218, 2014.

NAVA, D. E.; ÁVILA, J. C., PINTO, A. S. ***Diabrotica speciosa***. Piracicaba: Ocasio, 2016. 200p.

OLESON, J.D., PARK, Y., NOWATZKI, T. M., TOLLEFSON, J. J. Node-injury scale to evaluate root injury by corn Rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economy Entomology**. v. 98, n.1, p.1-8, 2005.

OLIVEIRA, R. S. de; SOUZA, M. F. de; MAGELA, M. L. M.; ALVES FILHO, A.; PAULA, C. O. de. 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, 2012.

ORLOV, D. S. **Soil Chemistry**. Moscow: Moscow State University, 1985. 376 p.

PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M. de; SOUZA, T.C. de; MAGALHÃES, P.C. Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1649-1656, 2008.

PRADO, M. R.; KORNDÖRFER, G. Efeitos da escória de siderurgia sobre a cultura do milho (*Zea Mays* L.) cultivado em um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico. **Científica**, Jaboticabal, v.31, n.1, p. 9-7, 2003.

RAVEN, J.A. The transport and function of silicon in plant. **Biological Reviews**, Cambridge, v.58, n.2, p.179-207,1983.

RIBEIRO, R. V. et al. O alto teor de silício no solo inibe o crescimento radicular de cafeeiros sem afetar as trocas gasosas foliares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 939-948, 2011.

RIEGER, M.; LITVIN, P. Root system hydraulic conductivity in species with contrasting root anatomy, **Journal of Experimental Botany**, v.50, Issue 331, p. 201–209, 1999.

RITCHIE, W. W., HAN WAY, J. J., BENSON, G. O. 1992. **How a corn plant develops**. Iowa State University of Science and Technology Cooperative Extension Service, Special Report 48.

ROSSETTO, C.J. et al. Larvas de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) e *Diabrotica viridula* (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Chrysomelidae) danificando o milho. In: CONGRESSO

BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 12.; ENCONTRO SOBRE MOSCAS-DAS-FRUTAS, 2., Belo Horizonte, 1989. **Resumos...** Belo Horizonte: SEB, 1989. p.129.

SANTAMARIA, M.E.; MARTÍNEZ, M.; CAMBRA, I.; GRBIC, V.; DIAZ, I. Understanding plant defence responses against herbivore attacks: an essential first step towards the development of sustainable resistance against pests. **Transgenic Research**, v. 22, p. 697–708, 2013.

SANTIAGO, R.; BARROS-RIOS, J.; MALVAR, R.A. Impact of cell wall composition on maize resistance to pests and diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 14, n. 4, p. 6960-6980, 2013.

SÁVIO, L. F., SILVA, G. C., TEIXEIRA, I. R., BORÉM, A. Produção de biomassa e conteúdo de silício em gramíneas forrageiras sob diferentes fontes de silicato. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 103-110, 2011.

WAQUIL, J.M., OLIVEIRA, E., VIANA, P.A., CRUZ, I., SANTOS, J.P., VALICENTE, F.H., FERNANDES, F.T., PINTO, N.F.J.A., CASELA, C.R., FERREIRA, A.S., OLIVEIRA, A.C. 2003. **Bioecologia e controle de insetos vetores de patógenos no milho**. Documentos, no. 28. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. 38 p.

WAQUIL, J.M.; MENDES, S.M., MARUCCI, R.C. 2010. Ocorrência de espécies de Diabrotica em milho no Brasil: qual a predominante, *Diabrotica speciosa* ou *Diabrotica viridula*? Sete Lagoas: Embrapa. (Comunicado Técnico, 178).

VAN RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: IAC, 1997. p.56-59. (IAC. Boletim Técnico, 100).

VIANA, P. A. 2010. **Manejo de Diabrotica speciosa na Cultura do Milho**. Disponível em: http://www.cn.pms.embrapa.br/publicacoes/publica/2010/.../Circ_141.pdf

VIANA, P. A.; MAROCHI, A. I. Controle químico da larva de Diabrotica spp. na cultura do milho em sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 1-11, 2002.

WAR, A.R.; PAULRAJ, M.G.; AHMAD, T.; BUHROO, A.A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA, H.C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306-1320, 2012.

WIESE, H., NIKOLIC, M., RÖMHELD, V. Silicon in Plant Nutrition. In: SATTELMACHER B., HORST W.J. (ed.) **The Apoplast of Higher Plants: Compartment of Storage, Transport and Reactions**. Springer, Dordrecht, p.33-47. 2007.

YOSHIDA, S. Chemical aspects of the role of silicon in physiology of the rice plant. **Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences Series B**. v.15, p.1-58, 1965.

ZANÃO JÚNIOR, L. A., FONTES, L. F. F., ÁVILA, V. T. Aplicação do silício para aumentar a resistência do arroz à mancha-parda. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.2, p.203-206, 2009.