UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

APLICAÇÃO DE SILÍCIO EM CANA-DE-AÇÚCAR: EFEITOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO DE CANA-DE-AÇÚCAR E SOBRE O HERBÍVORO *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

Amanda Cristina Guimarães Sousa

Engenheira Agrônoma

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

APLICAÇÃO DE SILÍCIO EM CANA-DE-AÇÚCAR: EFEITOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO DE CANA-DE-AÇÚCAR E SOBRE O HERBÍVORO *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

Discente: Amanda Cristina Guimarães Sousa
Orientador: Prof. Dr. Guilherme Duarte Rossi
Coorientadora: Dra. Mônica Sartori de Camargo

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola).

2024

S725a

Sousa, Amanda Cristina Guimarães

Aplicação de silício em cana-de-açúcar: efeitos sobre o desenvolvimento vegetativo de cana-de-açúcar e sobre o herbivoro Diatraea saccharalis (Lepidoptera: Crambidae) / Amanda Cristina Guimarães Sousa. -- Jaboticabal, 2024

82 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Guilherme Duarte Rossi

Coorientadora: Mônica Sartori de Camargo

1. Broca-da-cana-de-açúcar. 2. Silício. 3. Sistema digestivo. 4. Sistema imunológico. 5. Resistência aos insetos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: APLICAÇÃO DE SILÍCIO EM CANA-DE-AÇÚCAR: EFEITOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO DE CANA-DE-AÇÚCAR E SOBRE O HERBÍVORO *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

AUTORA: AMANDA CRISTINA GUIMARÃES SOUSA
ORIENTADOR: GUILHERME DUARTE ROSSI
COORIENTADORA: MÔNICA SARTORI DE CAMARGO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. GUILHERME DUARTE ROSSI (Participaçao Virtual)
Departamento de Fitossanidade / FCAV UNESP Jaboticabal

gov.br Documento assinado digitalmente
GUILHERME DUARTE ROSSI
Data: 10/09/2024 14:46:19-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. MARIA FERNANDA GOMES VILLALBA PEÑAFLOR (Participaçao V
Departamento de Entomologia / Univiersidade Federal de Lavras (UFLA) - Lavra

gov.br Documento assinado digitalmente
MARIA FERNANDA GOMES VILLALBA PENAFLOR
Data: 10/09/2024 15:06:36-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES (Participaçao Virtual)
Departamento de Fitossanidade / FCAV UNESP Jaboticabal

gov.br Documento assinado digitalmente
ODAIR APARECIDO FERNANDES
Data: 18/09/2024 14:21:50-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. BRUNO HENRIQUE SARDINHA DE SOUZA (Participaçao Virtual)
Departamento de Entomologia / Universidade Federal de Lavras (UFLA) - Lavras

gov.br Documento assinado digitalmente
BRUNO HENRIQUE SARDINHA DE SOUZA
Data: 11/09/2024 08:21:17-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. ALESSANDRA MARIELI VACARI (Participaçao Virtual)
Departamento de Ciência Animal / Universidade de Franca (UNIFRAN) - Franca/S

gov.br Documento assinado digitalmente
ALESSANDRA MARIELI VACARI
Data: 13/09/2024 12:54:33-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Jaboticabal, 29 de agosto de 2024

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Amanda Cristina Guimarães Sousa - Natural de Bom Despacho - MG, nascida no dia 06 de junho de 1994, filha de Antônio Anísio de Sousa e de Mônica Maria Guimarães Sousa. No ano de 2017, graduou-se em Bacharel em Biossistemas pela na Universidade Federal de São João del-Rei campus Sete Lagoas (UFSJ-CSL). No ano de 2018, concluiu sua graduação em Engenharia Agronômica na mesma Universidade. Durante a graduação, desenvolveu projeto de iniciação científica voluntária na área de anatomia vegetal, foi bolsista de monitora das disciplinas de anatomia vegetal e genética geral. Foi bolsista do grupo PET Agronomia por 3 anos, desenvolvendo projetos de pesquisa, ensino e extensão. Desenvolveu o seu TCC na área de Entomologia Agrícola trabalhando com preferência do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* por plantas de soja infestadas pela lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis*, sob a orientação do Prof. Dr. Marcos Antônio Matiello Fadini. Em março de 2018, iniciou o curso de Mestrado em Entomologia na Universidade Federal de Lavras (UFLA) sob a orientação do Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza, foi bolsista do CNPq e desenvolveu sua pesquisa na linha de Manejo Integrado de Pragas e Resistência de plantas. Durante o mestrado, recebeu menção honrosa como um dos melhores resumos da área de Entomologia apresentado em formato de poster durante o XXVIII Congresso da Pós-graduação da UFLA. Recebeu o prêmio de segundo lugar na categoria de pôster apresentado no VI Simpósio Internacional de Entomologia. Em março de 2020, iniciou o curso de Doutorado em Agronomia (Entomologia Agrícola) na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Jaboticabal-SP, sob a orientação do Prof. Dr. Guilherme Duarte Rossi, foi bolsista CAPES e desenvolveu sua pesquisa na linha de Manejo Integrado de Pragas e Bioquímica de Insetos. Durante o doutorado, fez intercâmbio na Technische Universität Dresden – Alemanha, onde realizou parte das análises do seu projeto de tese sob a supervisão da professora Dr. Jutta Ludwig-Müller, e no Instituto Max Planck em Jena – Alemanha, sob a supervisão do professor Dr. Axel Mithöfer.

“Precisamos entender que a vida passa e não vai dar tempo de ficarmos prontos antes de viver. Tem que ir se arrumando pelo caminho”

Iandê Albuquerque

Dedico

Aos meus queridos pais, Mônica e Anísio, minhas irmãs Bruna e Luana, ao meu sobrinho/afilhado Henrique, pelo amor incondicional e por sempre me incentivarem a ser uma pessoa melhor. Ao meu marido Leonardo, por todo o seu incentivo e amor, por não medir esforços para que eu possa realizar os meus sonhos. Ao meu filho Gabriel, que veio esse ano para trazer mais amor e alegria para as nossas vidas e por me ensinar a ser uma pessoa resiliente.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom sabedoria, por me iluminar, me fortalecer diante das dificuldades e por guiar sempre as minhas escolhas.

Aos meus pais Mônica e Anísio, e minhas irmãs Bruna e Luana, por serem meu porto-seguro, por todo apoio, compreensão e pelas palavras de conforto nos momentos difíceis.

Ao meu sobrinho e afilhado Henrique pelo seu amor incondicional e por trazer mais alegria e amor à minha vida.

Ao meu marido Leonardo Mesquita por ser meu grande apoiador e incentivador, por acreditar sempre na minha capacidade, por sua prontidão em ir comigo para à Alemanha para que eu pudesse realizar análises dessa tese. Obrigada por nunca medir esforços em me ajudar.

Ao meu filho Gabriel que ainda nem nasceu, mas já fez nascer em mim um amor gigantesco e por me ensinar a ser uma pessoa resiliente.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, por permitirem a realização deste trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Guilherme Duarte Rossi, pela oportunidade a mim concedida, por todos os conhecimentos adquiridos, por todas as orientações e conselhos dados ao longo desse doutorado.

À minha coorientadora Dra. Mônica Sartori de Camargo por se colocar sempre disposta a ajudar na realização desse trabalho, por toda sua colaboração, orientações e conhecimentos compartilhados.

Aos amigos do Laboratório de Bioquímica de Insetos (UNESP/FCAV), em especial Ana Letícia, Sandy Fonseca e Ciro Pedro pela paciência, amizade, pelas risadas, por compartilhar com vocês vários momentos dessa jornada. Vocês foram cruciais na realização desse trabalho.

Aos demais amigos que fiz durante o doutorado Ramom Vasconcelos, Adrieli Casado, Joacir Nascimento, Juliana Queiroz, Érica Souza, Thalia Siqueira, Júlia Mercês. Obrigada pelas conversas, risadas, momentos de alegria e tristezas, por estarem sempre presentes e tonar essa caminhada mais leve.

À Profa. Dra. Jutta Ludwig-Müller e toda a equipe do laboratório de Fisiologia de plantas da Technische Universität Dresden- Alemanha, em especial ao Dr. Yamen

Mahfoud por me receberem e permitir a realização das análises de fitormônios e outras moléculas do estresse oxidativo das plantas.

Ao Prof. Dr. Axel Mitöfer e toda a equipe do seu laboratório no Instituto Max Planck de ecologia química em Jena-Alemanha, por se colocarem à disposição e permitirem a realização das análises de fitormônios.

Ao Prof. Dr. Hamilton e a toda equipe do Laboratório de Fertilizantes da UFU, pela realização das análises de silício.

Aos demais professores, e funcionários do Departamento de Fitossanidade, obrigada por todas as experiências compartilhadas.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Brasil - Código de Financiamento 001.

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

SUMÁRIO

RESUMO - iii

ABSTRACT - v

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais 1

CAPÍTULO 2 - Silicon application enhances sugarcane growth by impairing the development of larval sugarcane borer 15

2.1 Introduction 16

2.2 Material and Methods 17

2.2.1. Plants 17

2.2.2. Soil characteristics and experimental procedure 18

2.2.3. Plant evaluation before herbivory 19

2.2.4. Herbivory and evaluation of plant and larvae development 19

2.2.5. Collection of hemolymph plasma from *Diatraea saccharalis* larvae 20

2.2.6. Phenol oxidase and lysozyme activities in hemolymph plasma of *D. saccharalis* larvae 20

2.2.7. Cellular immune measurements in the hemolymph of *D. saccharalis* larvae 21

2.2.8. Statistical analysis 22

2.3 Results 22

2.3.1. Development of sugarcane before herbivory 22

2.3.2. Development of sugarcane after herbivory 24

2.3.3. Development of *D. saccharalis* larvae 26

2.3.4. Immune responses of *D. saccharalis* larvae 27

2.4 Discussion 28

2.5 Conclusion 30

References 31

CAPÍTULO 3- Efeitos do silício nas vias metabólicas dos fitormônios e no desenvolvimento larval de *Diatraea saccharalis* (lepidoptera: crambidae) em variedades de cana-de-açúcar 42

3.1. Introdução 43

3.2. Material e Métodos 45

3.2.1. Delineamento experimental 45

3.2.2. Criação de *Diatraea saccharalis* 46

3.2.3. Condução do experimento 46

3.2.4. Análise massa seca e concentração de Si 47
3.2.5. Avaliação do estresse oxidativo 47
3.2.6. Quantificação de fitormônios 48
3.2.7. Avaliação do desempenho larval de *Diatraea saccharalis* 49
3.2.8. Coleta de intestino para análise da atividade enzimática 49
3.2.9. Análise enzimática da fosfatase alcalina 50
3.2.10. Análise enzimática da tripsina 50
3.2.11. Análises estatísticas 51
3.3. Resultados 51
3.3.1. Concentração de Si e massa seca da folha e colmo 51
3.3.2. Avaliação do estresse oxidativo 54
3.3.3. Quantificação de fitormônios na folha 56
3.3.4. Quantificação de fitormônios no colmo 61
3.3.5. Avaliação do desempenho larval de *Diatraea saccharalis* 66
3.3.6. Análise enzimática do intestino 66
3.4. Discussão 67
REFERÊNCIAS 73
CAPÍTULO 4 - Considerações finais 82

Aplicação de silício em cana-de-açúcar: efeitos sobre o desenvolvimento vegetativo de cana-de-açúcar e sobre o herbívoro *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

RESUMO - A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), é a principal praga que afeta a cana-de-açúcar, causando tanto danos diretos quanto indiretos à plantação. O manejo dessa praga tem sido realizado por meio de controle químico, controle biológico e o uso de plantas transgênicas. Como uma estratégia adicional às táticas de manejo de *D. saccharalis* já existentes, a aplicação de silício (Si) tem sido considerada uma alternativa viável para auxiliar o manejo integrado de pragas. O presente trabalho foi dividido em duas etapas, separadas em diferentes capítulos. No capítulo 2, o objetivo foi avaliar o desenvolvimento larval de *D. saccharalis* e o desenvolvimento vegetativo de duas variedades de cana-de-açúcar fertilizadas com Si. Os principais resultados encontrados foram que o silício aumentou o diâmetro do colmo, altura de plantas em ambas as variedades de cana-de-açúcar antes da herbivoria. As lagartas de *D. saccharalis* apresentaram redução no peso e maior índice de abrasão mandibular após alimentação de plantas tratadas som Si, independente da variedade. A atividade enzimática da fenoloxidase, foi maior em lagartas alimentadas com plantas da variedade IAC91-1099 independente da aplicação de Si. No capítulo 3, o objetivo do trabalho foi avaliar alterações na concentração de fitormônios relacionados com a defesa de plantas e o desenvolvimento larval de *D. saccharalis* em plantas de cana-de-açúcar fertilizadas com Si. Os principais resultados encontrados foram: A fertilização de plantas com Si contribui para aumentar a biomassa acima do solo e o colmo das plantas de cana-de-açúcar. Além disso, o Si aumenta a concentração de ácido jasmônico (JA) na folha e no colmo. Maiores concentrações de malondialdeído (MDA) também foram observadas em plantas fertilizadas com Si em ambas as variedades de cana-de-açúcar que sofreram ou não herbivoria por *D. saccharalis*. O silício afetou negativamente o desenvolvimento larval de *D. saccharalis* através da redução no peso e redução na atividade enzimática da fosfatase alcalina e tripsina. De maneira geral observou-se que o silício afeta negativamente o desenvolvimento larval de *D. saccharalis* e contribui para o maior crescimento e desenvolvimento de variedades de cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Broca-da-cana, fitormônios, enzimas digestivas, biomassa vegetal

Application of silicon in sugarcane: effects on the vegetative development of sugarcane and on the herbivore *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

ABSTRACT - The sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), is the main pest that affects sugarcane, causing both direct and indirect damage to the plantation. The management of this pest involves the use of chemical control, biological control and the use of transgenic plants. As an additional strategy to existing *D. saccharalis* management tactics, the application of silicon (Si) has been considered a viable alternative to aid integrated pest management. This work was divided into two stages, separated into different chapters. In chapter 2, the objective was to evaluate the larval development of *D. saccharalis* and the vegetative development of two varieties of sugarcane fertilized with Si. The main results found were silicon that increased stalk diameter, plant height in both sugarcane varieties before herbivory. *D. saccharalis* caterpillars showed reduced weight and a higher rate of mandibular abrasion after feeding on plants treated with Si, regardless of the variety. The enzymatic activity of phenol oxidase was greater in caterpillars fed with plants of the IAC91-1099 variety, regardless of the application of Si. In chapter 3, the objective of the work was to evaluate changes in the concentration of phytohormones related to plant defense and the larval development of *D. saccharalis* in sugarcane plants fertilized with Si. The main results found were: The fertilization of plants with Si contributes to increase the above soil biomass and stalk of sugarcane plants. Furthermore, Si increases the concentration of jasmonic acid (JA) in the leaf and stem. Higher concentrations of malondialdehyde (MDA) were also observed in plants fertilized with Si in both sugarcane varieties that suffered or did not suffer herbivory by *D. saccharalis*. Silicon negatively affected the larval development of *D. saccharalis* through weight reduction and reduction in the enzymatic activity of alkaline phosphatase and trypsin. In general, it was observed that silicon negatively affects the larval development of *D. saccharalis* and contributes to the greater growth and development of sugarcane varieties.

Keywords: Sugarcane borer, phytohormones, digestive enzymes, plant biomass

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma planta da família Poaceae originária do sul da Ásia e amplamente cultivada em regiões tropicais (Cheavegatti-Gianotto et al., 2011). O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar cuja matéria-prima é majoritariamente destinada para produção de açúcar e etanol. A produção média brasileira para a safra de 2023/24 foi estimada em 713,2 milhões de toneladas produzidas em uma área de 8.333,9 mil hectares e a produtividade média foi estimada em 85,580 kg/ha (Conab, 2024). O estado de São Paulo destaca-se como maior produtor nacional de cana-de-açúcar, possui as maiores áreas de plantio e produtividade superior à média nacional sendo estimada em 93,715 kg/ha (Conab, 2024).

A produção da cana-de-açúcar é dividida em dois ciclos: cana-planta e cana-soca. O ciclo da cana-planta inicia-se com o plantio e termina com a primeira colheita. Já o ciclo da cana-soca começa após a colheita da cana-planta com sucessivas safras até a renovação do campo. O ciclo completo de um canavial dura em torno de quatro a cinco anos (Cheavegatti-Gianotto et al., 2011). Dessa forma, as épocas de plantio da cana-de-açúcar são definidas como cana de ano, na qual a colheita é realizada após 12 meses de plantio, e cana de ano e meio, na qual a colheita é realizada 18 meses após o plantio (Miranda e Johnston, 2008; Sugawara e Rudorff, 2011).

As espécies *Saccharum officinarum* e *Saccharum spontaneum* são os ancestrais da cana-de-açúcar que mais contribuíram com os programas de melhoramento genético para o desenvolvimento de híbridos de cana-de-açúcar cultivados atualmente (Cheavegatti-Gianotto et al., 2011). Com o intuito de solucionar o problema de susceptibilidade a doenças e maior adaptabilidade das plantas em condições de estresse abiótico, melhoristas realizaram o cruzamento entre essas duas espécies de cana-de-açúcar, resultando em um híbrido resistente a doenças e com alto teor de açúcar. Dessa forma, *S. officinarum* manteve a característica de alto teor de sacarose e *S. spontaneum* acrescentou a característica de rusticidade aos híbridos originados desse cruzamento (Ming et al., 2006). Assim, todas as variedades existentes são derivadas do cruzamento entre os primeiros híbridos obtidos.

Diversos fatores bióticos e abióticos podem interferir na qualidade e produtividade da cana-de-açúcar (Gilbert et al., 2006). Dentre eles, o ataque de

insetos pragas pode comprometer a produção da cultura (Carvalho et al., 2011; Dinardo-Miranda et al., 2012). A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricus,1794) (Lepidoptera: Crambidae), é considerada a principal praga da cultura da cana-de-açúcar por causar prejuízos diretos e indiretos à cultura (Dinardo-Miranda et al., 2011; Salgado et al., 2022; Cruz-Tobón et al., 2023; Peréz et al., 2023). Os prejuízos diretos são aqueles provocados através da formação de galerias no colmo que reduzem a produção e podem resultar na morte das plantas. Os prejuízos indiretos são aqueles causados por microrganismos que ganham acesso ao interior do colmo em função da abertura das galerias pelas lagartas de *D. saccharalis* e ocasionam a podridão vermelha (Dinardo-Miranda et al., 2011). Conjuntamente, infestações da broca e a incidência da podridão vermelha diminuem de 50% a 70% o teor de sacarose no caldo e afetam a produção e a qualidade tecnológica da cana (Dinardo-Miranda et al., 2012).

Quando o ataque da broca-da-cana ocorre na fase inicial da cultura, ocasiona a morte das gemas apicais e o secamento das folhas mais jovens, sintoma conhecido como “coração morto”. Sob altas infestações, as perdas são maiores decorrente da morte de perfilhos e consequente redução do estande. Quando o canavial já se encontra desenvolvido, as perdas na produtividade são devido à redução no peso dos colmos e que se tornam mais quebradiços. Se o ataque ocorrer próximo as regiões de crescimento, há a morte das gemas apicais, brotações laterais e enraizamento aéreo (Terán et al., 1985; Mendonça, 1996; Botelho e Macedo, 2002; Dinardo-Miranda, 2010). Os prejuízos causados pela broca-da-cana são estimados em até R$ 5 bilhões por ano no Brasil (CIB, 2019).

Dentre os métodos disponíveis para o manejo da broca-da-cana, destacam-se o controle químico, o controle biológico e, mais recentemente, a adoção de plantas transgênicas. Entretanto, o hábito críptico das lagartas de se manterem abrigadas no interior do colmo, dificultam o controle químico pela aplicação de inseticidas químicos ou o controle biológico com o uso de formulações de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Salles e Baldani, 1998; Antigo et al., 2013; Silva et al., 2018). O controle biológico da broca-da-cana com a produção e liberação do parasitoide *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae) tem sido realizado em aproximadamente 3,5 milhões de ha de cana-de-açúcar (Parra, 2019; Parra e Coelho Jr, 2022) e as taxas de parasitismo são baixas em regiões com condições climáticas (altas temperaturas

e alta pluviosidade) não são favoráveis ao desenvolvimento do parasitoide (Parra e Zucchi, 2004; Parra e Coelho Jr, 2022). O uso de plantas de cana transgênicas com resistência à broca ocupa cerca de 70 mil ha plantados (CTC, 2022). Porém, sabe-se que o uso de plantas transgênicas para o manejo de insetos pragas não devem ser considerado como solução definitiva devido à evolução da resistência nas populações dos insetos pragas (Bernardi et al., 2014; Omoto et al., 2016).

As plantas possuem diversos mecanismos de defesa contra insetos, os quais se manifestam como resistência e tolerância. A resistência é subdividida em antibiose e antixenose (Stenberg e Muola, 2017). A antibiose afeta diretamente a biologia do inseto, influenciando sua sobrevivência, taxa de fertilidade e tempo de desenvolvimento. Já a antixenose é caracterizada pela ausência de preferência do herbívoro por uma planta hospedeira específica para alimentação, oviposição ou abrigo. Em contrapartida, a tolerância é uma estratégia de defesa em que a planta consegue suportar os danos causados pela praga sem sofrer uma redução significativa no crescimento e na produção, além de não ter efeitos negativos sobre o inseto (Peterson et al., 2017).

A indução de resistência (antixenose e antibiose) envolve a ativação de mecanismos de defesa que já existem na planta, mas que estão inativos. Portanto, essa resistência não é controlada por um gene específico (Walters e Heil, 2007; Carvalho, 2012). Assim, logo após serem atacadas por insetos, as plantas suscetíveis podem aumentar sua resistência para se defenderem de forma mais eficaz (Walters e Heil, 2007). Compostos metabólicos secundários como alcaloides, benzoxazinoides, glucosinolatos e terpenoides são produzidos pelas plantas de forma constitutiva ou induzidos pela herbivoria e são tóxicos para os insetos (Mitchell et al., 2016).

Os mecanismos de defesa das plantas podem atuar de forma constitutiva ou induzida (Borges et al., 2017). Os constitutivos são aqueles que a planta produz continuamente, sem a necessidade de um agente estressor para sua ativação. Em contraste, os mecanismos induzidos surgem como resposta a algum tipo de estresse, seja de origem biótica ou abiótica, resultando no aumento da produção de compostos químicos voláteis e não voláteis que atuam nas defesas da planta (Borges et al., 2017). A herbivoria é um dos estímulos primários que desencadeiam alterações no mecanismo de defesa das plantas. A presença desses organismos ou de moléculas

geradas por microrganismos associados, como por exemplo enzimas presentes na saliva dos insetos, podem servir como estímulos iniciais (Balmer et al., 2015; Martinez-Medina et al., 2016; Mauch-Mani et al., 2017).

A indução de defesa das plantas é ativada após a herbivoria e pode ter ação direta sobre o herbívoro através dos metabólitos secundários existentes, o que desencadeia rotas bioquímicas que levam ao acúmulo de fitormônios que atuam como moléculas sinalizadoras do mecanismo de defesa das plantas, como o ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno (Kaplan et al., 2008; Thomma et al., 2001; Dong, 1998). A cascata de sinalização envolve diversas moléculas, como o ácido salicílico (AS), o ácido abscísico (ABA), o ácido jasmônico (AJ) e seu éster metílico, o metil jasmonato (MeJa), além do etileno (ET). Esses compostos são capazes de induzir a expressão de muitos genes de defesa através de diferentes rotas (Pervieux et al., 2004; Cao et al., 2011).

O estudo e a definição de métodos de controle complementares aos atualmente disponíveis são desejáveis para inclusão em Programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Fernandes et al., 2011; Brewer et al., 2013; Ramsden et al., 2017). A aplicação de Si pode ser considerada uma alternativa viável, principalmente quando realizada em gramíneas (Poaceae), decorrente da alta capacidade que estas possuem em acumular o mineral (Mitani e Ma, 2005; Keeping e Meyer, 2006; Keeping et al., 2009).

O silício (Si) é um elemento amplamente presente no solo, predominantemente em formas que não podem ser assimiladas pelas plantas. Os solos brasileiros, que são altamente intemperizados, apresentam baixas concentrações de ácido silícico (H_4SiO_4) que é facilmente absorvido pelas plantas, na solução do solo. Portanto, é necessário repor esse mineral através de adubações para obter os benefícios desejados (Epstein, 1994; Lima Filho et al., 1999). É o segundo elemento mais abundante no solo, está presente em minerais primários e secundários, sendo bastante resistente ao intemperismo. Sua adição ao solo eleva a disponibilidade de P para as culturas (Faquin, 2005). As principais fontes de silício comerciais são os silicatos, dentre eles o silicato de Ca, Mg e K que apresentam ações benéficas à solução do solo através do aumento do pH (Dematt̂e et al., 2011). O silicato de cálcio é 6,78 vezes mais solúvel que o carbonato de cálcio o tornando mais favorável que o

calcário na correção do pH do solo (Alcarde, 1992). Em cana-de-açúcar, os silicatos já têm sido utilizados com o intuito de promover aumento na produtividade (Jones e Handreck, 1967; Keeping et al., 2013; Camargo et al., 2017; Camargo et al., 2020; Teixeira et al., 2020).

Embora não seja considerado um nutriente essencial para as plantas, a aplicação de Si pode favorecer o crescimento e desenvolvimento de plantas, resultando em plantas com maiores teores de clorofila, além de tornar as folhas mais endurecidas e eretas, favorecendo maior penetração de luz, e consequentemente maior taxa fotossintética da planta (Marschner, 1995; Nascimento et al., 2017). Benefícios como aumento na produtividade e diminuição dos efeitos causados por estresses bióticos e abióticos foram relatados em plantas de cana-de-açúcar fertilizadas com Si (Keeping et al., 2013; Camargo et al., 2017; Camargo et al., 2020; Teixeira et al., 2020). Além disso, o silício aumenta o conteúdo de Ca e Mg disponível no solo, e consequentemente a tolerância à toxidez por Al, Mn, Fe (Tisdale et al., 1993; Camargo et al., 2007; Haynes, 2019).

Em termos de resistência de plantas de cana-de-açúcar a herbívoros induzida pela aplicação de silício, foram observados aumento da resistência da cana-de-açúcar à broca do colmo *Eldana saccharina* (Keeping e Meyer, 1999), aumentos da mortalidade e duração da fase ninfal de cigarrinha-das-raízes (Korndorfer et al., 2011) e menor incidência de *D. saccharalis* em variedade de cana-de-açúcar que absorveram maior quantidade desse mineral (Camargo et al., 2014; Santos-Cividanes et al., 2022).

De uma maneira geral, o aumento da resistência de plantas fertilizadas com Si contra insetos mastigadores tem sido atribuído à silificação da parede celular vegetal que a torna endurecida e dificulta a alimentação dos insetos (Datnoff, Snyder e Korndorfer, 2001; Goussain et al., 2002; Kvedaras et al., 2009; Nascimento et al., 2017). O Si também tem sido associado aos processos de resistência química induzida de plantas por meio do aumento da atividade de enzimas associadas com a defesa de plantas e de metabólitos secundários como flavonoides e outras fitoalexinas que atuam na defesa das plantas (Dixon et al., 1994; Fawe et al., 1998; Fawe et al., 2001; Gomes et al., 2005).

A ocorrência de interação do Si absorvido por plantas com as vias de produção de fitormônios relacionados com a defesa da planta ao ataque de herbívoros como o ácido jasmônico (JA) foi relatada na literatura por Ye et al. (2013),. No entanto, ainda não há estudos na literatura que demonstram a indução de resistência em variedades comerciais de cana-de-açúcar à *D. saccharalis* após aplicação de silício ou informações sobre a produção de fitormônios por plantas de cana-de-açúcar em tais condições de adubação e herbivoria. Sendo assim, o objetivo da presente tese foi avaliar os efeitos da aplicação de silício no crescimento e desenvolvimento vegetativo de duas variedades comerciais de cana-de-açúcar e avaliar o desenvolvimento larval de *D. saccharalis* alimentadas em plantas de cana-de-açúcar fertilizadas com Si. A variedade comercial de cana-de-açúcar SP80-3280 se caracteriza por ser susceptível à broca-da-cana, *D. saccharallis* (Fabricius, 1754) (Lepidoptera: Crambidae), proporcionando maior peso larval em lagartas que se alimentaram de uma dieta artificial em que foi incorporado o colmo dessa variedade (Boiça Júnior et al., 2011). Já a variedade IAC91-1099 apresenta baixa taxa de infestação por *D. saccharalis* em canaviais com 5 meses de idade, podendo caracterizá-la como uma variedade resistente (Dinardo-Miranda et al., 2013). Os objetivos específicos foram: 1) Avaliar o crescimento e desenvolvimento de duas variedades de cana-de-açúcar fertilizadas com Si, na presença de herbivoria por *D. saccharalis;* 2) Avaliar o ganho de peso larval, sistema imunológico e desgaste da mandíbula de lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com duas variedades comerciais de cana-de-açúcar fertilizados ou não com Si; 3) Analisar e quantificar os fitormônios produzidos em duas variedades comerciais de cana-de-açúcar fertilizadas ou não com Si, na presença e ausência de herbivoria por *D. saccharalis*; 4) Avaliar a concentração de Si (folha e colmo), e a biomassa seca de duas variedades comerciais de cana-de-açúcar fertilizadas ou não com Si, na presença e ausência de herbivoria por *D. saccharalis;* 5) Avaliar o ganho de peso larval e atividade enzimática do intestino de lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com duas variedades comerciais de cana-de-açúcar fertilizadas ou não com Si. As seguintes hipóteses foram testadas: 1) A variedade suscetível SP-80-3280 apresenta maior crescimento e desenvolvimento em plantas fertilizadas com Si na ausência de herbivoria; 2) Lagartas que se alimentaram de plantas de cana-de-açúcar fertilizadas com Si independente da variedade apresentam menor peso larval, sistema

imunológico modificado e maior desgaste da mandíbula; 3) A concentração de fitormônios é maior em plantas fertilizadas com Si independente da variedade de cana-de-açúcar, na presença de herbivoria; 4) Plantas de cana-de-açúcar fertilizadas com Si e na ausência de herbivoria apresentam maior teor de Si no colmo e na folha, e plantas de cana-de-açúcar da variedade SP-80-3280 fertilizadas com Si sob herbivoria apresentam maior biomassa seca da folha e colmo; 5) Lagartas que se alimentaram de plantas de cana-de-açúcar fertilizadas com Si apresentam menor peso larval e redução na atividade enzimática do intestino.

REFERÊNCIAS

Alcarde JC (1992). **Corretivos da Acidez dos Solos: Características e Interpretações Técnicas**. São Paulo: ANDA.

Antigo MR, Oliveira HN, Carvalho GA, Pereira FF (2013). Repelência de produtos fitossanitários usados na cana-de-açúcar e seus efeitos na emergência de *Trichogramma galloi*. **Revista Ciência Agronômica** 44:910- 916.

Balmer A, Pastor V, Gamir J, Flors V, Mauch-Mani B (2015). The 'prime-ome': towards a holistic approach to priming. **Trends in Plant Science**, 20:443-452.

Bernardi O, Sorgatto RJ, Barbosa AD, Domingues FA, Dourado PM, Carvalho RA, Omoto C (2014). Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides, Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection** 58:33-40.

Boiça Júnior AL, Leonelo AF, de Jesus FG (2011) Dietas artificiais incorporadas ou não a colmos triturados de variedades de cana-de-açúcar na biologia de *Diatraea saccharalis* (F.)(Lepidoptera: Crambidae). **Semina: Ciências Agrárias** 39-48.

Borges M, Michereff MFF, Moraes MCB, Hassemer MJ, Laumann RA, Birkett M A (2018). Metodologias para o estudo da defesa de memória (Priming) em plantas frente a estresse biótico. **Embrapa Circular Técnica**, 91.

Botelho PSM, Macedo N (2002). *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: Parra JRP, Botelho PSM, Correia-Ferreira BS, Bento JMS. **Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e predadores** 409-425.

Brewer MJ, Anderson DJ, Armstrong JS (2013). Plant growth stage-specific injury and economic injury level for verde plant bug, *Creontiades signatus* (Hemiptera: Miridae), on cotton: effect of bloom period of infestation. **Journal of Economic Entomology** 106:2077-2083.

Camargo MS, Korndörfer GH, Pereira HS (2007). Solubility of silicon in soils: effect of lime and silicic acid applied. **Bragantia** 66:637-647.

Camargo MS, Korndörfer GH, Foltran DE (2014). Absorção de silício e incidência de broca-do-colmo em duas soqueiras de variedades de cana-de-açúcar. **Bioscience Journal** 30:1304-1313.

Camargo MS, Bezerra BKL, Vitti AC, Silva MA, Oliveira AL (2017). Silicon fertilization reduces the deleterious effects of water deficit in sugarcane. **Journal Soil Science and Plant Nutrition** 17:99–111.

Camargo MS, Coutinho ID, Lourenço SA, Soares MKM, Colnago LA, Appezzato-Da-Glória B, Cavalheiro JA, Amorim L (2020). Potential prophylactic role of silicon against brown rust (*Puccinia melanocephala*) in sugarcane. **European Journal Plant Pathology** 157:77-88.

Cao FY, Yoshioka K, Desveaux D (2011). The roles of ABA in plant–pathogen interactions. **Journal of Plant Research**, 124:489-499.

Carvalho FT, De Queiroz J.R.G, TOLEDO, REB (2011). Eficácia do herbicida amicarbazone no controle de cordas-de-viola na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Revista Brasileira de Herbicidas** 10:183-189.

Carvalho NL (2012). Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, 1379-1390.

CIB- Conselho De Informações Sobre Biotecnologia. **O Brasil transgênico**, 2019. Disponível em:

<http://bibliotecadigital.fgv.br/ojs/index.php/agroanalysis/article/viewFile/80794/77126 > Acesso em: 30 Jul. 2020.

Cheavegatti-Gianotto A, De Abreu HMC, Arruda P, Bespalhok Filho JC, Burnquist WL, Creste S, Di Ciero L, Ferro JA, Figueira AVO, Filgueiras TS, Grossi-de-Sá MF, Guzzo EC, Hoffmann HP, Landell MGA, Macedo N, Matsuoka S, Reinach FC, Romano E, Da Silva WJ, Filho MCS, Ulian EC (2011) Sugarcane (Saccharum X officinarum): a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biology** 4: 62-89.

Conab- Companhia Nacional de Abastecimento. Boletim da safra de cana-de-açúcar, 2024. Disponível em: < https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana> Acesso em: 10 de Jun. 2024.

Cruz-Tobón M, Hernández-Rosas F, Silva-Rojas HV, Serna-Lagunes R, Rodríguez-Lagunes DA, Larena-Hernández RC (2023). Daño por *Diatraea* spp.(Lepidoptera: Crambidae) en la región cañera Córdoba-Golfo, Veracruz. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, 14.

CTC- Centro de Tecnologia Canavieira. Plantio de cana transgênica quase dobra na nova safra do Brasil, diz CTC. Disponível em: < https://www.udop.com.br/noticia/2022/04/07/plantio-de-cana-transgenica-quase-dobra-na-nova-safra-do-brasil-diz-ctc.html> Acesso em 25 de Jun. 2024

Datnoff LE, Snyder GH, Korndörfer GH (2001). Silicon on agriculture. **Elsevier Science**.

Demattê JL, Paggiaro CM, Beltrame JA, Ribeiro SS (2011). Uso de silicatos em cana-de-açúcar. **Informações Agronômicas** 133:7-12.

Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Costa VPD, Anjos I AD, Lopes DOP (2013). Reaction of sugarcane cultivars to sugarcane borer. **Bragantia** 72:29-34.

Dinardo-Miranda LL, Dos Anjos IA, Da Costa VP, Fracasso JV (2012). Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 47: 1-7.

Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Perecin D (2011). Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de métodos de amostragem. **Bragantia** 70:577-585

Dinardo-Miranda LL (2010). Pragas. In: Dinardo-Miranda LL, Vasconcelos ACM, Landell MGA (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico. 882 p.

Dixon RA, Harrison MJ, Lamb CJ (1994). Early events in the activation of plant defense responses. **Annual Review of Phytopathology** 32:479-501.

Dong X (1998). SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants. **Current Opinion in Plant Biology** 1:316-323.

Epstein E (1994). The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 91:11-17.

Faquin V (2005). **Nutrição Mineral de Plantas**. Lavras: UFLA/FAEPE.

Fawe A, Abou-Zaid M, Menzies JG, Belanger RR (1998). Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology** 88:396-401.

Fawe A, Menzies JG, Cherif M, Belanger RR (2001). Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: Studies in Plant Science. **Elsevier** 8:159-169.

Fernandes FL, Picanço MC, Campos SO, Bastos CS, Chediak M, Guedes RNC, Silva R (2011). Economic injury level for the coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) using attractive traps in Brazilian coffee fields. **Journal of Economic Entomology** 104:1909-1917.

Gilbert RA, Shine Junior JM, Miller JD, Rice RW, Rainbolt CR (2006). The effect of genotype, environment and time of harvest on sugarcane yields in Florida, USA. **Field Crops Research** 95:156-170.

Gomes FB, Moraes JC, Santos CD, Goussain MM (2005). Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola** 62:547-551.

Goussain MM, Moraes JC, Carvalho JG, Nogueira NL, Ross ML (2002). Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-

cartucho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology** 31:305-310.

Haynes RJ (2019). What effect does liming have on silicon availability in agricultural soils? **Geoderma** 337:375-383.

Jones LHP, Handreck KA (1967). Silica in soils, plants, and animals. **Advances in Agronomy** 19:107-149.

Kaplan I, Halitschke R, Kessler A, Sardanelli S, Denno RF (2008). Constitutive and induced defenses to herbivory in above-and belowground plant tissues. **Ecology** 89:392-406.

Keeping MG, Meyer JH (1999). Application of silicon enhances resistance of sugarcane to stal borer *Eldana saccharina* Walker. In: **Proc. 12th Congress Entomological soc**.

Keeping MG, Meyer JH (2006). Silicon-mediated resistance of sugarcane to *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae): effects of silicon source and cultivar. **Journal of Applied Entomology** 130:410-420.

Keeping MG, Kvedaras OL, Bruton AG (2009). Epidermal silicon in sugarcane: cultivar differences and role in resistance to sugarcane borer *Eldana saccharina*. **Environmental and Experimental Botany** 66:54-60.

Keeping MG, Meyer JH, Sewpersad C (2013). Soil silicon amendments increase resistance of sugarcane to stalk borer *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) under field conditions. **Plant Soil** 363:297-318.

Korndörfer AP, Grisoto E, Vendramim JD (2011). Induction of insect plant resistance to the spittlebug *Mahanarva fimbriolata* Stål (Hemiptera: Cercopidae) in sugarcane by silicon application. **Neotropical entomology**, 40:387-392.

Kvedaras OL, Byrne MJ, Coombes NE, Keeping MG (2009). Influence of plant silicon and sugarcane cultivar on mandibular wear in the stalk borer *Eldana saccharina*. **Agricultural and Forest Entomology** 11:301-306.

Marschner H (1995). **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2ed. 889 p.

Martinez-Medina A, Flors V, Heil M, Mauch-Mani B, Pieterse CM, Pozo MJ, Ton J, Van Dam NM, Conrath U (2016). Recognizing plant defense priming. **Trends in Plant Science** 21:818-822.

Mauch-Mani B, Baccelli I, Luna E, Flors V. (2017). Defense priming: an adaptive part of induced resistance. **Annual Review of Plant Biology**, 68:485-512.

Ming R, Moore PH, Wu K, D´Hont A, Glazmann JC, Tew TL, Mirkov TE, da Silva J, Jifon J, Rai M, Schnell RJ, Brumbley SM, Lakshmanan P, Comstock JC, Paterson AH (2006) Sugarcane improvement through breeding and biotechnology. **Plant Breeding Reviews** 27: 15-118.

Miranda JR, Johnston GC (2008) **História da Cana-de-açúcar**. Komedi. 167 p.

Mitchell C, Brennan RM, Graham J, Karley AJ (2016). Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. **Frontiers in Plant Science**, 7:191972.

Mendonça AF (1996). Pragas da cana-de-açúcar. Maceió: **Insetos e Cia** 239.

Omoto C, Bernardi O, Salmeron E, Sorgatto RJ, Dourado PM, Crivellari A, Carvalho R A, Willse A, Martinelli S, Head GP (2016). Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science** 72:1727-1736.

Mitani N, Ma JF (2005). Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany** 56:1255-1261.

Nascimento AM, Assis FA, Moraes JC, Souza BHS (2017). Silicon application promotes rice growth and negatively affects development of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). **Journal of Applied Entomology** 142:241-249.

Parra JRP (2019). Controle Biológico na Agricultura Brasileira. **Entomological Communications** 1:ec01002-ec01002.

Parra JRP, Zucchi AR (2004). *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology** 33:271-281.

Pérez MLDP, Easdale C, Iovane RJ, Scandaliaris P, Isa RB, Rodríguez D, Bardin F, Gastaminza G, Romero E, Goebel FR (2023). Damage distribution and yield losses

caused by the stem borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) in Northwestern Argentina. **Sugar Tech**, 25:610-618.

Pervieux I, Bourassa M, Laurans F, Hamelin R, Séguin A. (2004). A spruce defensin showing strong antifungal activity and increased transcript accumulation after wounding and jasmonate treatments. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 64:331-341.

Peterson RK, Varella AC, Higley LG (2017). Tolerance: the forgotten child of plant resistance. **PeerJ,** 5:e3934.

Ramsden MW, Kendall SL, Ellis SA, Berry PM (2017). A review of economic thresholds for invertebrate pests in UK arable crops. **Crop Protection** 96:30-43.

Salgado LD, Wilson BE, Villegas JM, Richard RT, Penn HJ (2022). Resistance to the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) in Louisiana sugarcane cultivars. **Environmental Entomology**, 51:196-203.

Salles JF, Baldani JI (1998). *Bacillus thuringiensis* como agente de controle biológico, doc 54. **Embrapa - CNP Agrobiologia** 31 p.

Santos-Cividanes TM, Cividanes FJ, Garcia JC, Vilela M, Moraes JC, Barbosa JC (2022) Silicon induces resistance to *Diatraea saccharalis* in sugarcane and it is compatible with the biological control agent *Cotesia flavipes*. **Journal of Pest Science** 95:783-795.

Silva LM, Silva MC, Silva SMFA, Alves RC, Siqueira HAA, Marques EJ (2018). Toxin gene contents and activity of *Bacillus thuringiensis* strains against two sugarcane borer species, *Diatraea saccharalis* (F.) and *D. flavipennella* (Box). **Neotropical Entomology** 47:292-301.

Stenberg JA, Muola A. (2017). How should plant resistance to herbivores be measured? **Frontiers in Plant Science**, 8:254269.

Sugawara LM, Rudorff BFT (2011). Acompanhamento do crescimento vegetativo da cana-de-açúcar por meio de séries temporais de NDVI do sensor MODIS. **Simpósio Brasileiro De Sensoriamento Remoto** 15:391.

Teixeira GCM, Prado RM, Rocha MAS, Santos LCN, Sarah MMS, Gratão PL, Fernandes C (2020). Silicon in pre-sprouted sugarcane seedlings mitigates the effects of water deficit after transplanting. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**.

Terán FO, Sanchez AG, Precetti AACM (1985). Estudos sobre resistência da cana à broca em telado – II. **Boletim Técnico Copersucar**, São Paulo. 33:57-64.

Thomma BP, Penninckx IA, Cammue BP, Broekaert WF (2001). The complexity of disease signaling in Arabidopsis. **Current Opinion in Immunology** 13:63-68.

Tisdale SL, Nelson WJ, Beaton JD (1993). Soil fertility and fertilizers. **Macmillan Publishing Company** 202-331.

Walters D, Heil M. (2007). Costs and trade-offs associated with induced resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 71:3-17.

Ye M, Song Y, Long J, Wang R, Baerson SR, Pan Z, Zhu-Salzman K, Xie J, Cai K, Luo S, Zeng R (2013). Priming of jasmonate-mediated antiherbivore defense responses in rice by silicon. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 110: E3631-E3639.

CAPÍTULO 2 - Silicon application enhances sugarcane growth by impairing the development of larval sugarcane borer

ABSTRACT- Sugarcane borer, *Diatraea saccharalis,* is one of the main insect pests of sugarcane fields, and it has been mainly managed by the use of chemical or biological controls. Considering the benefits of Silicon (Si) fertilization against pests, it was assessed the development of sugarcane borer larvae and sugarcane growth with and without Si. A greenhouse experiment was conducted using a factorial design (2x2) with 10 repetitions. Two commercial sugarcane varieties were evaluated: SP80-3280 and IAC91-1099, which has, respectively, susceptibility, and intermediate resistance to *D. saccharalis*. Si was applied in soil in an equivalent rate of 800 kg of Si ha^{-1}. Before herbivory, Si increased stalk diameter and plant height in both varieties, and number of leaves and leaf width were only increased in IAC91-1099. After 20 d of herbivory, Si increased stalk diameter in both varieties and plant height in IAC91-1099, but decreased the number of leaves and leaf width in SP80-3280. Larvae of *D. saccharalis* showed a reduced weight and a greater index for mandible abrasion after feeding Si-treated plants independently of variety. No influence of Si-treated plants was found in immunological parameters of larvae (total number of hemocytes, cell viability, encapsulation capability, lysozyme active). The activity of phenol oxidase, an immunological and stress marker for insects, was greater in larval *D. saccharalis* fed with IAC 91-1099, independently of Si. In conclusion, Si application improved sugarcane growth of IAC91-1099 and impaired the development of larval *D. saccharalis* in both sugarcane varieties.

Keywords: *Diatraea saccharalis*, plant resistance, plant tolerance, abiotic elicitor, potassium silicate

Este capítulo corresponde ao artigo científico publicado na revista Silicon (https://doi.org/10.1007/s12633-023-02719-6)

2.1 Introduction

The sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), is a major pest of sugarcane, *Saccharum* spp. (Poaceae) [1-3]. Sugarcane borer feeding causes direct and indirect damage through stalk consumption and opportunistic infections with phytopathogenic fungi in the galleries opened by larvae [4]. Damage caused by *D. saccharalis* also includes decreases in the range of 50 to 70% in the sucrose content in the stalk juice [5].

Management of the sugarcane borer is based on chemical [6] and biological [7] controls or the introduction of transgenic [8] or conventional [9] sugarcane resistant plants. Chemical control using synthetic molecules or biological control using commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* Berliner based on spray applications is hampered by the endophytic habit of the larvae [10]. Despite the success of biological control with natural enemies such as the larval parasitoid *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae) or the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), biological control agents are not available for the entire sugarcane area [7] and the efficiency of parasitism varies with environmental conditions [11]. Complete plant resistance to the sugarcane borer is limited to transgenic events, as most commercial varieties are susceptible to the sugarcane borer [9].

The study and definition of complementary control methods to those currently available are desirable for inclusion in Integrated Pest Management (IPM) programs [12-14]. The application of silicon (Si) can be considered a viable alternative, especially when applied to grasses (Poaceae), due to their high capacity to accumulate this element in the plant [15,16]. Although Si is not considered an essential element for plant growth, the application of Si promotes increased plant growth, chlorophyll contents, and provided hardened and erect leaves, resulting in greater light interception, and consequently, a higher photosynthetic rate of plant. In addition, Si helps increase plant resistance to biotic and abiotic stresses [17-20].

Increased resistance to herbivores induced by Si application have been reported in sugarcane, such as reduction of stalk gallery size and reduced body mass of the stalk borer *Eldana saccharina* Walker, 1865 (Lepidoptera: Pyralidae) [21], increased mortality and duration of the nymphal phase of root spittlebug [22], and

reduced incidence of *D. saccharalis* [23]. In addition, Si also resulted in reduction of the weight of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars fed on maize plants fertilized with Si [24].

Another way to assess the negative effects of Si over herbivore insects would analyzing their immune system [25]. The insect immune system consists of structural barriers and active responses against foreign elements that enter the haemocoel. When these barriers are overwhelmed, the invaders are exposed to the cellular and humoral mechanisms of the defense system [26]. The exposure of the insect to foreign elements can induce various immune responses that stimulate the production of hemocytes, which are responsible for cell encapsulation and constitute the final barrier of the insect defense system [26-28]. Silicon has already been reported in the literature to interfere with the immune system of *Helicoverpa armigera* (Hübner, [1808]) (Lepidoptera: Noctuidae), in which caterpillars fed on silicon-fertilized grasses showed higher activities phenol oxidase and total phenol oxidase [25].

This study investigated whether management of the sugarcane borer with plant resistance could be improved with Si fertilization applied in soil by enhancing sugarcane growth as well the responses of sugarcane to biotic stresses. The responses of two sugarcane varieties with and without Si application in terms of growth were assessed before and after herbivory of *D. saccharalis*. The effects of Si application in sugarcane over larval *D. saccharalis* were assessed in terms of larval weight and mandibular abrasion. In addition, considering that food type could modulate the immune system of lepidopteran herbivores [29,30], immune-related parameters such as phenol oxidase and lysozyme activities, total number of hemocytes, hemocyte viability and cell encapsulation of sugarcane borer fed with Si-treated sugarcane plants were assessed to better understand the effects of Si-fertilized sugarcane plants *D. saccharalis* larvae.

2.2 Material and Methods

2.2.1. Plants

Sugarcane variety SP80-3280 (Sugarcane Technology Center-CTC) was chosen because it is susceptible to *D. saccharalis* and is also widely used in breeding programs and studies of sugarcane genome, transgenesis and transcriptomics [31-

33]. IAC91-1099 (intermediate resistance to *D. saccharalis*, Agronomic Institute-IAC) was selected because it showed reduced infestation levels in plant crop [5].

2.2.2. Soil characteristics and experimental procedure

The initial chemical characteristic of samples of Typic Quartzipsamment soil showed: $pHCaCl_2$ = 4.6; organic matter =16 g dm^{-3}; P =6.0 mg dm^{-3}; Ca, Mg, and K =6, 3, and 0,6 $mmol_c\ dm^{-3}$ respectively; cation exchange capacity (CEC) = 26.7 $mmol_c\ dm^{-3}$; basis saturation (SB) = 33%; and aluminum saturation =24%.

Soil samples were collected from 0-20 cm depth in an area of native vegetation, and they were air-dried, and sifted through a 4-mm screen. Before filling the plastic pots, soil samples (2.5 kg) were homogenized inside plastic bags with rate equivalent to 1000 kg ha^{-1} of lime (Ca = 214 g kg^{-1} Ca; Mg = 126 g kg^{-1} Mg; PRNT = 100%) and maintained under 80% soil field capacity for 30 days. Lime quantity was calculated in function of soil analysis to increase the base saturation until 70%, according to the recommendations of [34] for sugarcane.

Sugarcane stalks with single-budded setts of SP80-3280 and IAC91-1099 varieties were planted in plastic trays containing commercial substrate Carolina Soil (Carolina Soil do Brasil Ltda., Vera Cruz, RS, Brazil) at May 02, 2021. Thirty days after planting, pre-sprouted plants were transferred to plastic pots (3L) containing the soil treated with lime. A geotextile drainage fabric (Bidim, 105 g m^{-2}) was placed at the inner bottom of the pots to avoid nutrient leaching.

The planting fertilization with N, P and K was done with the equivalent of 60 kg ha^{-1} of N as ammonium sulphate, 180 kg ha^{-1} of P_2O_5 as simple superphosphate, 100 kg ha^{-1} of K_2O as potassium chloride, according to [35]. After 30 days, superficial fertilization with N and K took place with same rates in the planting fertilization.

Si was applied in soil using a solution containing 100 mL of a water and 2.4 mL of liquid potassium silicate (12% Si 12% K_2O, Fertisilício, Ineous®). This solution was applied at 3, 7 and 9 weeks after transplanting of sugarcane in pots. The three applications amounted equivalent to 800 kg ha^{-1} Si, as already applied in sugarcane pot experiments with potassium silicate by [19] for sugarcane experiment. After Si solution application, 50 mL of water were added to each pot. When Si solution was applied in the Si treatments pots, control pots (-Si) were watered with 150 mL in order to provide the same quantity of water applied in the Si treatments. During the

experiments manual irrigation was made equally in all pots to maintain 100% of soil field capacity.

2.2.3. Plant evaluation before herbivory

Plant assessments were made in 10 replicates of each treatment after 26 days of Si application. Plant height was measured from the ground to the insertion of the top visible dewlap (TVD), and leaf width was measured in the central part of the same leaf. The number of fully expanded leaves from soil to TVD was counted and stalk diameter was measured. In addition, the chlorophyll index in TVD was measured using SPAD-502 (Konica Minolta Sensing).

2.2.4. Herbivory and evaluation of plant and larvae development

On the same day as the plant evaluation before herbivory, plants were infested with *D. saccharalis* larvae. The neonates *D. saccharalis* were obtained from insects fed with artificial diet [36] in a biofactory located in São Paulo state, Brazil (21◦21′ 23″S, 48◦3′ 48″W). Three 3rd instar *D. saccharalis* were transferred to each sugarcane plant exposed to the Si or control treatments.

Twenty days after infestation, stalk diameter, plant height, number of leaves, leaf width, and chlorophyll index in TVD of sugarcane plants were evaluated as indicated above. The larvae were then collected from inside the stalk and weighed. Larval mandible abrasion was measured after dissecting the mandibles under a stereoscope using forceps and ophthalmic scissors. Mandibles were transferred to a microscope slide and covered with glycerin and a coverslip. The mandibles were photographed under a microscope and the distance between the base of the mandible until the apex of the second tooth and the distance between the apex of the second tooth until its sclerotized base were measured using the software ImageJ 1.53k (National Institute of Health, USA). The distances were measured in both mandibles of each insect and the mandible abrasion indexes (MAI). The calculation of the mandible wear index was performed using equations (1), (2) and (3) adapted from [37].

$$\mathrm{ID} = \frac{\mathrm{LD} \times 100}{\mathrm{LT}} \quad (1)$$

$$\mathrm{IM} = 100 - \mathrm{ID} \quad (2)$$

$$\mathrm{IUM} = 10 \times \frac{\mathrm{ID}}{\mathrm{IM}} \quad (3)$$

Where ID is the tooth width index, LD is the tooth width, LT is the total width, IM is the jaw width index, and IUM is the jaw use index. So that the data could be in the same proportion, that is, the higher the jaw use index, the greater the wear, we used Equation (4) to calculate the jaw wear index (WI).

$$\mathrm{WI} = 10 - \mathrm{IUM} \quad (4)$$

Figure 1: Measurement of mandible abrasion. Blue line represents total width (LT) and green line represents tooth width (LD)

2.2.5. Collection of hemolymph plasma from *Diatraea saccharalis* larvae

Hemolymphs from larvae fed for 20 days with sugarcane varieties amended or not with Si were collected after cutting a larval proleg. Each repetition was composed by hemolymphs extravasated from 2 larvae. Samples (ca. 30 µL) were centrifuged (1,000g; 2 min; 4°C) and the supernatants (hemolymph plasma) were used for measuring the activities of phenol oxidase and lysozyme activities.

2.2.6. Phenol oxidase and lysozyme activities in hemolymph plasma of *D. saccharalis* larvae

Phenol oxidase (PO) activity was measured by incubating 198 µL of substrate (5 mM L-Dopa, 10 mM sodium cacodylate, 5 mM $CaCl_2$, pH 7.0) with 2 µL of

hemolymph plasma in a 96-well microplate. The microplate was incubated at 30°C in a microplate spectrophotometer (MultiSkan Sky, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) and absorbance readings were taken at 490 nm in 30 s intervals for 2 h. The linear phase showing increase in absorbance values was used to calculate PO activity. One unit (U) of PO activity was defined as the amount of PO required to increase 0.001 units of absorbance at 490 nm per minute. Each treatment was replicated 5 times using the hemolymph of 2 larvae per replicate.

Lysozyme activity was measured by the incubation of 98 µL of 0.015% w/v suspension of *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, USA) prepared in 0.05 M potassium phosphate buffer (pH 6.4) with 2 µL of hemolymph plasma in a 96-well microplate. The microplate was incubated at 30°C in a microplate spectrophotometer and absorbance measures were taken at 450 nm in 40 s intervals for 2 h. The linear phase showing decrease in absorbance values was used to calculate lysozyme activity. One unit (U) of lysozyme activity was defined as the amount of lysozyme required to decrease 0.0001 units of absorbance at 450 nm per minute. Each treatment was replicated 5 times using the hemolymph of 2 larvae per replicate.

2.2.7. Cellular immune measurements in the hemolymph of *D. saccharalis* larvae

Hemolymphs from *D. saccharalis* (30 µL) larvae fed the sugarcane varieties with or without Si were collected as described for hemolymph plasma collection except for the centrifugation step. Hemolymphs were diluted 10-fold in phosphate-buffered saline (PBS), homogenized by pipetting and 20 µL of diluted hemolymph samples were transferred to a Neubauer chamber (HBG® 9020-01) for total hemocyte count (THC) under a phase contrast microscope (Zeiss® Axio Imager A2; 40x objective lens). The number of hemocytes was counted in four quadrants and the number of hemocytes per µL of hemolymph was estimated using the formula: Hemocytes μL^{-1} = [(∑number of hemocytes × dilution × 10.000)/∑quadrants]/1000 [38]

Hemocyte viability was assessed using Trypan Blue (Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, USA). Hemolymph was collected and 10 µL of hemolymph was diluted in 40 µL of PBS and mixed with 50 µL of Trypan Blue reagent. This solution was placed on a microscope slide, covered with a coverslip and observed under a light microscope (Zeiss® Axio Imager A2; 40x objective lens). Cell viability was estimated as described in [39].

Cellular encapsulation was evaluated by incubating 30 µL of *D. saccharalis* larval hemolymph with 40 µL of InsectXpress™ (Lonza Group, Basel, Switzerland) insect cell culture medium and 20 µL of an aqueous suspension containing 0.1% (w/v) Sephadex A-25 beads in a 500 µL Eppendorf tube. Samples were kept at room temperature and for 2 h at 100 rpm to allow the hemocytes to encapsulate the Sephadex beads. Five classes of hemocyte encapsulation were defined according to the thickness of cells around the beads observed under a phase contrast microscope [40-43]. Class I = beads containing up to 10 hemocytes attached; class II = beads containing from 10 to 50 hemocytes attached; Class III = beads covered with more than 50 hemocytes forming a hemocyte capsule with up to 3 layers of hemocytes; Class IV = beads covered with a hemocyte capsule with more than 3 layers but thinner than the diameter of the bead; Class V = beads covered with an hemocyte capsule thicker than the diameter of the bead. The encapsulation index (EI) was calculated using the formula EI = [(Σ defined classes/Σ number of encapsulated beads evaluated) × 100] /5 [44].

2.2.8. Statistical analysis

The experiment was conducted in a completely randomized 2 x 2 factorial design (2 commercial sugarcane varieties x 2 Si conditions) with 10 repetitions. For plant attributes, each repetition consisted of one plant of each variety exposed or not to Si. For larval attributes, each repetition consisted of one or two insects fed with each variety exposed or not to Si. Data was analyzed to observe normal distribution (Cramer-von Mises test, α=0.05) and homoscedasticity (Bartlett test, α=0.05). Data meeting these assumptions were analyzed by two-way ANOVA (α=0.05). Statistics were performed using R software 4.0.3 [45].

2.3 Results

2.3.1. Development of sugarcane before herbivory

Before herbivory, no interaction between the factors Si and sugarcane variety was observed for stalk diameter ($F_{1,39}$ = 0.50; P = 0.49). However, independently of the variety ($F_{1,39}$ = 3.68; P = 0.06) plants fertilized with Si showed 20.21% increase in stalk diameter (1.39 ± 0.06 cm) compared to control plants (1.11 ± 0.08 cm) (Fig. 2A).

Plant height was influenced by sugarcane variety ($F_{1,39}$ = 28.07; P < 0.001), being SP80-3280 plants (1.82 ±0.02 m) higher than IAC91-1099 plants (1.59 ± 0.03 m). Plant height was also influenced by the application of Si ($F_{1,39}$ = 5.37; P =0.03), and, independently of sugarcane variety, Si fertilized plants were higher (1.75 ± 0.03 m) than control plants (1.66 ± 0.04 m). No interaction of Si application with sugarcane variety was observed for plant height ($F_{1,39}$ = 2.51; P =0.12) (Fig. 2B).

An interaction between Si application and sugarcane variety was observed for leaf number ($F_{1,39}$ = 4.97; P =0.03). In control plants, leaf number was higher in SP80-3280 plants (11.4 ± 0.34 leaves per plant) than in IAC91-1099 plants (10.2 ± 0.36 leaves per plant). However, an increased number of leaves similar to that observed in SP80-3280 plants fertilized or not with Si was only observed in IAC91-1099 plants fertilized with Si (11.4 ± 0.45 leaves per plant) (Fig. 2C).

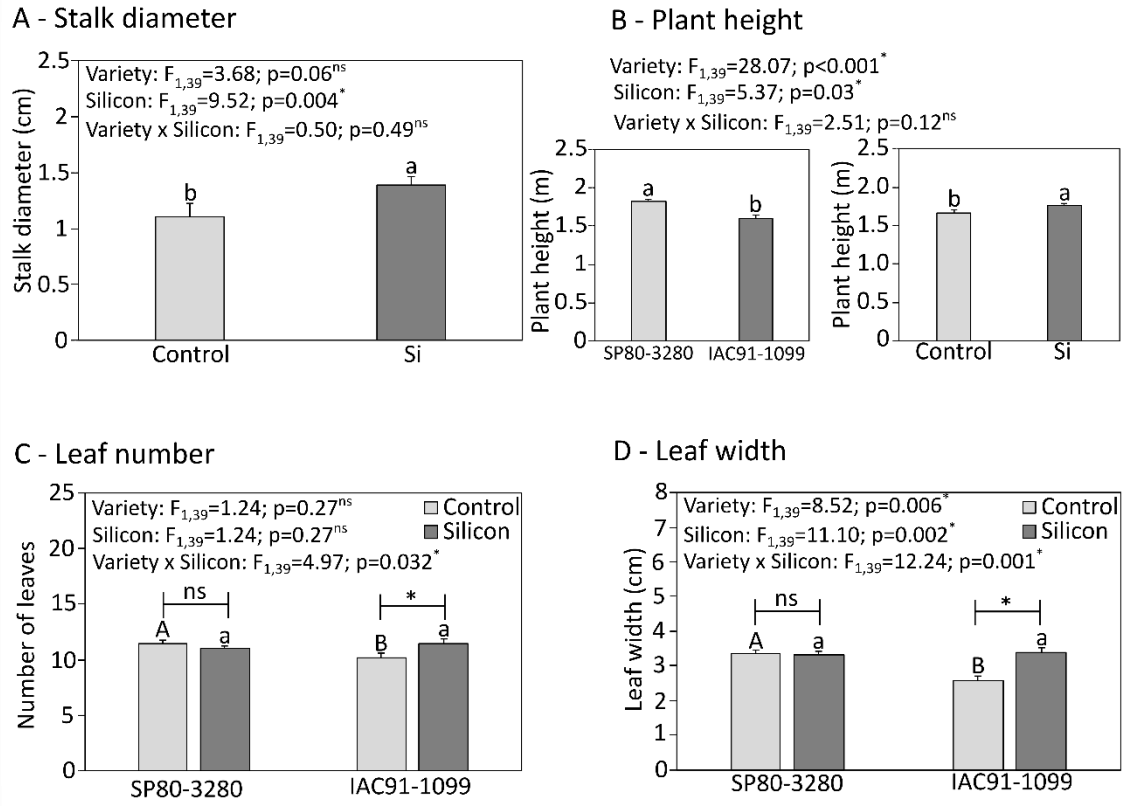


Figure 2. Development of sugarcane varieties SP80-3280 and IAC91-1099 fertilized or not with Si before herbivory by larval *Diatraea saccharalis*. A - Stalk diameter (cm). B - Plant height (m). C - Leaf number per plant. D - Leaf width (cm). Different uppercase letters above bars indicate significant differences between sugarcane varieties not fertilized with Si (control plants). Different lower-case letters above bars indicate significant differences between sugarcane varieties fertilized with Si. * and ns above

the bars indicate, respectively, significant or not significant differences between the same sugarcane variety fertilized or not with Si.

Similar to that observed for leaf number, an interaction between Si application and sugarcane variety was observed for leaf width ($F_{1,39}$ = 12.24; P =0.001). In non-Si fertilized plants, leaf width of SP80-3280 plants (3.34 ± 0.11 cm) was higher than that observed in IAC91-1099 plants (2.56 ± 0.13 cm). However, increased leaf width similar to that observed in SP80-3280 plants fertilized or not with Si was only observed in IAC91-1099 plants fertilized with Si (3.39 ± 014 cm) (Fig. 2D). In addition, chlorophyll index (SPAD value) was not influenced by Si, sugarcane varieties or the interaction between these factors ($F_{1,39}$ = 0.0681; P = 0.7956) (Suppl Table 1). Chlorophyll indexes before herbivory ranged from 35.22 to 38.21.

2.3.2. Development of sugarcane after herbivory

Si fertilization also resulted in increased stalk diameter of sugarcane plants after herbivory ($F_{1,39}$ = 13.70; P < 0.001). For both sugarcane varieties, stalk diameter was greater in Si-fertilized plants (1.96 ± 0.09 cm) than in non-fertilized plants (1.53 ± 0.07 cm) (Fig. 3A).

An interaction between Si application and sugarcane varieties was observed for plant height after herbivory ($F_{1,39}$ = 11.09; P = 0.002). Plant height was smaller in the non-Si fertilized variety IAC91-1099 (1.65 ± 0.06 cm) when compared to the non-Si fertilized variety SP80-3280 (1.88 ± 0.04 cm). Si application did not change the plant height of SP80-3280 plants after herbivory (1.86.5 ± 2.23 cm). However, plant height of Si-fertilized IAC91-1099 plants (1.93 ± 0.04 cm) was greater than that of non-Si fertilized IAC91-1099 or Si-fertilized SP80-3280 plants (Fig. 3B).

The number of leaves per plant after herbivory was also influenced by the interaction between Si and sugarcane varieties ($F_{1,39}$ = 7.72; P = 0.009). The number of leaves in SP80-3280 plants without Si (14.6 ± 0.81 leaves per plant) was higher than in IAC90-1099 without Si (12.5 ± 0.40 leaves per plant). Compared to the respective control plants, the number of leaves was reduced in Si-treated SP80-3280 plants (12.8 ± 0.47 leaves per plant), while the number of leaves was maintained in Si-treated IAC90-1099 plants (13.8 ± 0.47 leaves per plant). In Si-treated plants, the number of leaves in SP80-3280 plants was the same as in IAC90-1099 plants (Fig. 3C).

After herbivory, an interaction between Si application and sugarcane varieties was also observed for the leaf width ($F_{1,39}$ = 7.29; P = 0.01). In non-Si treated plants, leaf width values were higher in SP80-3280 (4.35 ± 0.27 cm) compared to IAC90-1099 (3.37 ± 0.20 cm). Compared to the respective control plants, leaf width was reduced in SP80-3280 plants treated with Si (3.91 ± 0.14 cm), while leaf width was maintained the same in IAC90-1099 plants (3.55 ± 0.03 cm). In Si-treated plants, leaf width was greater in SP80-3280 plants than in IAC90-1099 plants (Fig. 3D). Chlorophyll index (SPAD value) was not influenced by Si, sugarcane varieties or the interaction between these factors ($F_{1,39}$ = 0,717; P = 0.403) (Suppl Table 2). Chlorophyll indexes in sugarcane plants after herbivory ranged from 34.27 to 37.87.

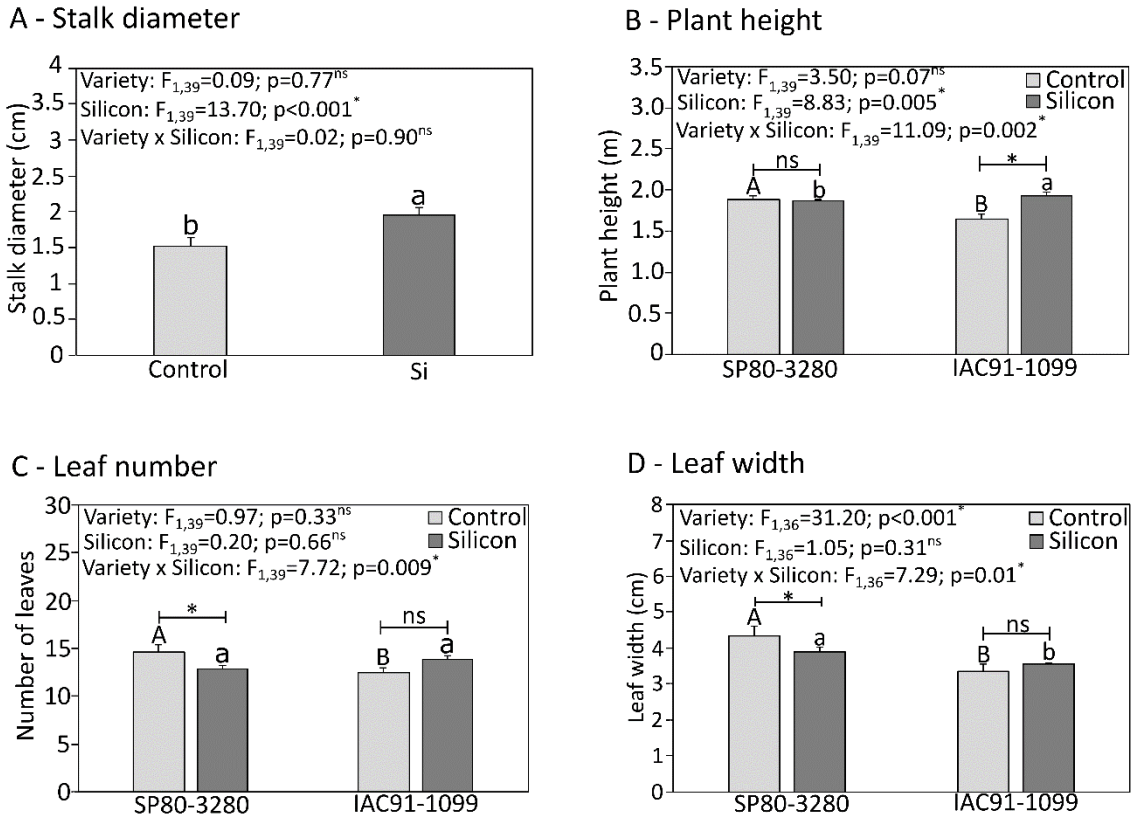


Figure 3. Development of sugarcane varieties SP80-3280 and IAC91-1099 fertilized or not with Si after herbivory by larval *Diatraea saccharalis*. A - Stalk diameter (cm). B - Plant height (m). C - Leaf number per plant. D - Leaf width (cm). Different uppercase letters above bars indicate significant differences among sugarcane varieties not fertilized with Si (control plants). Different lower-case letters above bars indicate significant differences among sugarcane varieties fertilized with Si. * and ns above the bars indicate, respectively, significant or not significant differences among the same sugarcane variety fertilized or not with Si.

2.3.3. Development of *D. saccharalis* larvae

Si application and the interaction between sugarcane varieties and Si did not influence larval recovery of *D. saccharalis* after 20 days they were transferred to sugarcane plants (Two-way Anova, p ≥ 0.05). Independently of Si application, larval recovery was higher in the variety SP80-3280 (66.67 ± 6.80%) than in variety IAC91-1099 (45.24 ± 4.43%) (Figure 4).

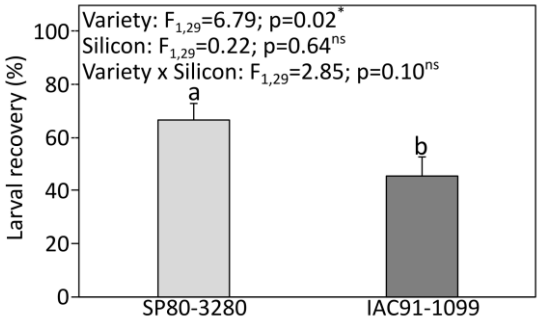


Figure 4. Recovery of *Diatraea saccharalis* larvae after 20 days in Si-treated and control sugarcane varieties SP80-3280 and IAC91-1099. Different lower-case letters above bars (SEM) indicate significant differences among sugarcane varieties (P < 0.05).

The weight of *D. saccharalis* larvae was not influenced by sugarcane varieties or by the interaction of the factors Si and sugarcane variety (Two-way Anova, p ≥ 0.05), only by the application of Si ($F_{1,27}$ = 4.84; P = 0.038). Compared to the weight attained by larvae fed with control plants (60.7 ± 6.1 mg per larva), larval weight was reduced by approximately 36% when *D. saccharalis* larvae were fed with Si-treated plants of SP80-3280 or IAC91-1099 (38.8 ± 7.4 mg per larva) (Fig. 5A). Furthermore, mandibular abrasion of *D. saccharalis* was not influenced by sugarcane varieties or by the interaction of the factors Si and sugarcane variety (Two-way Anova, p ≥ 0.05), only by Si application ($F_{1,32}$ = 13.94; P < 0.001). The highest indexes of mandibular abrasion were observed in larvae fed with Si-treated plants of both varieties (8.43 ±0.18) compared to indexes of mandibular abrasion observed in larvae fed with control plants (7.77 ± 0.08) (Fig. 5B).

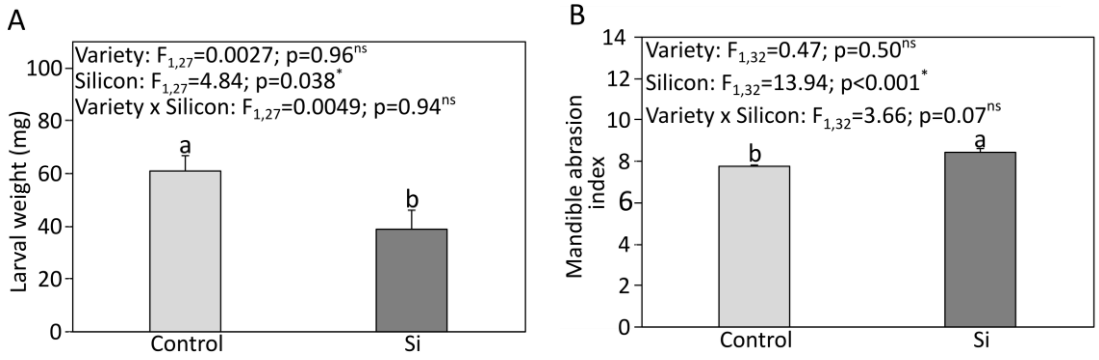


Figure 5. Larval weight (mg) (A) and mandible abrasion index (B) of *Diatraea saccharalis* larvae fed with Si-treated (Si) and control sugarcane varieties SP80-3280 and IAC91-1099. Different lower-case letters above bars (SEM) indicate significant differences among sugarcane plants fertilized or not (Control) with Si ($P < 0.05$).

2.3.4. Immune responses of *D. saccharalis* larvae

Phenol oxidase activity in the hemolymph of *D. saccharalis* larvae was not influenced by Si application or by the interaction of the factors Si and sugarcane variety (two-way ANOVA, $p > 0.05$). Phenol oxidase activity was influenced only by the sugarcane varieties ($F_{1,17}$ = 15.40; P = 0.002), since the activity of phenol oxidase in the hemolymph of larvae fed with IAC91-1099 plants (3.42 ± 0.66 U μL^{-1} of hemolymph) was higher than that observed in larvae fed with SP80-3280 plants (1.03 ± 0.19 U μL^{-1} of hemolymph) (Fig. 6).

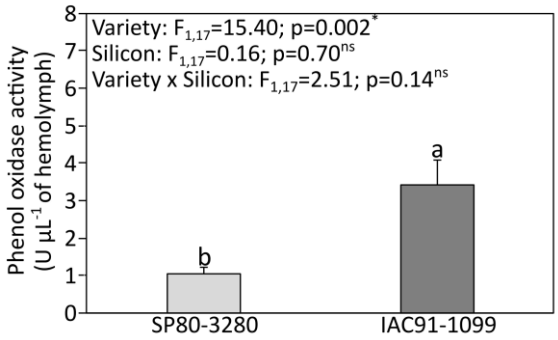


Figure 6. Phenol oxidase activity in the hemolymph of larval *Diatraea saccharalis* (U µL-1 of hemolymph) fed with Si-treated sugarcane varieties SP80-3280 and IAC91-1099. Different lower-case letters above bars (SEM) indicate significant differences among sugarcane varieties ($P < 0.05$).

Lysozyme activity (12.08 U μL^{-1} of hemolymph) was not influenced by Si application, sugarcane varieties or the interaction between these factors (Two-way Anova, P >0.05). Cellular immune responses of *D. saccharalis* larvae were not influenced by Si application, sugarcane varieties or by the interaction between these

factors (two-way Anova, *P* >0.05). Independent of Si application or sugarcane variety, total hemocyte count was measured in 19.044 cells μL^{-1} of hemolymph, cell viability in 99.6%, and cell encapsulation index of 37.

2.4 Discussion

This study showed that the application of Si improved the development of the evaluated sugarcane varieties resulting mainly in increased stalk diameter. Before herbivory by *D. saccharalis* larvae, the benefits of Si were more evident for IAC91-1099 for leaf number and leaf width. After herbivory, the development of sugarcane varieties was still benefited by Si application, also observed mainly by the increased stalk diameter in both varieties fertilized with Si. Improvements of Si application on plant physiology and development under ideal conditions or under biotic or abiotic stresses have also been reported in previous studies [46, 47] and greater biomass in Poaceae plants, including sugarcane, fertilized with Si sources have also been shown [48, 49,23, 50,51].

Regarding the effects of herbivory, Si application, independent of the variety, benefited sugarcane plants against herbivory, as already shown by [52]. In the present study, it was observed that consumption of Si-fertilized sugarcane plants of both varieties reduced the larval weight and increased the index of mandible abrasion of *D. saccharalis*. Si fertilization has been recognized as a stimulator of plant resistance to herbivory [53] mainly by altering morphological aspects of plants such as tissues hardness [54, 55] or plant biochemical composition [56].

The accumulation of Si in plants confers resistance to herbivore attack through physical and mechanical barriers [57,54,55]. The deposition of silica in the epidermal cells of the thatch increases its hardness and abrasiveness, providing a mechanical barrier to the penetration of *D. saccharalis* larvae into the thatch of early-stage plants [58,59]. Considering that Si accumulates in the stalk of sugarcane plants [35,60], *i.e.* the feeding site of *D. saccharalis* larvae, increased tissue hardiness may had impaired the feeding of larvae through increasing mandible abrasion as observed for *Spodoptera* spp. larvae fed with Si-fertilized maize plants [61,37,62,24] and for *Chilo infuscatellus* Snellen, 1890 (Lepidoptera: Crambidae) fed with Si-fertilized sugarcane plants [63]. Despite the reduction of damage by Si fertilization have already been reported for other herbivores in sugarcane [64,17,57], including *D. saccharalis* [23],

this study is the second in the literature to demonstrate the effect of silicon on the larval performance of *D. saccharalis*. Previously, [65], reported that there was no effect of silicon on the larval weight of *D. saccharalis*, differing from our results.

This study also showed that Si application was not involved in alterations of the activity of phenol oxidase in the hemolymph of *D. saccharalis* larvae. These results are in agreement with [66], who also found similar results when studying a soil dwelling herbivore interacting with sugarcane and Si. However, [25] observed increased values of phenol oxidase activity in the hemolymph of *H. armigera* larvae fed on the Si-fertilized model grass *Brachypodium distachyon*.

Despite Si did not result in changes of phenol oxidase activity in the hemolymph of larval *D. saccharalis*, the activity of this enzyme was greater in larvae fed with IAC91-1099 plants than in those fed with SP80-3280 plants. These results and a reduced rate of permanency of larvae in IAC91-1099 plants suggest that IAC91-1099 as less suitable plant for larval *D. saccharalis*, confirming [5]. Increased phenol oxidase activities in insects under stress are reported [67-70], suggesting, independently of Si application, an increased fitness cost for *D. saccharalis* larvae to develop consuming IAC91-1099 plants when compared to SP80-3280 plants. It is worth noting that, different to that observed in the susceptible variety SP80-3280, increased plant height observed only in IAC91-1099 with the application of silicon suggest that this sugarcane variety presents a specific tolerance mechanism induced by the application of silicon, capable of compensating for the damage suffered by herbivory with greater growth and vegetative development. [53] have already shown that Si can promote tolerance to herbivory in grass species capable of accumulating high levels of Si. In the same study, the authors observed greater aerial biomass of Si-fertilized wheat plants under herbivory conditions.

Regarding the Integrated Pest Management (IPM), it would be hypothesized that herbivores immune-activated by the consumption of resistant or tolerant plants might impair the development of a parasitoid. Considering the importance of the parasitoid *C. flavipes* for the management of *D. saccharalis* [7], it is noteworthy evaluate the possible impacts of *D. saccharalis* with increased phenol oxidase activity over the parasitism success of *C. flavipes*. However, these effects may be null or minimum given that *D. saccharalis* larvae with increased values for phenol oxidase

activity stimulated by exposition to *B. thuringiensis* were still susceptible to parasitism by *C. flavipes* without noticeable impacts over the development of the parasitoid [27]. Moreover, field evaluation of Si-fertilized sugarcane plants also indicated compatibility of Si-fertilized plants with the use of *C. flavipes* for the management of *D. saccharalis* [65]. Additionally, other immune responses that could also impact parasitism success, *i.e.* cellular and lysozyme activity, were not altered by the consumption of Si-fertilized sugarcane plants or by the sugarcane varieties evaluated in the present study as also observed by [25].

The analysis of the caterpillars' digestive system will also be essential to better answer some questions about the interaction of Si in the insect's biochemical pathways, in order to identify the influence of Si on some enzymes responsible for protein absorption and whether there is any relationship with the lower gain of larval weight.

The results obtained in the present study suggest that Si could act as an inducer of resistance in sugarcane to *D. saccharalis*, affecting its larval performance and also improving the morphological aspects of sugarcane plants. These effects can be seen directly in the insect, in which the application of silicon reduced the weight of the larvae and led to greater wear and tear on the lower jaw. Another interesting finding of the study is that Si also acted as an inducer of tolerance mechanisms in the plants, where silicon fertilization led to a larger stalk diameter and a greater plant height. These effects were more pronounced in the resistant genotype IAC-91-1099. These data are important to understand the effects provided by the application of Si and to use it as a complementary tactic into IPM of *D. saccharalis* in sugarcane.

2.5 Conclusion

Si acts as an inducer of resistance in sugarcane against *D. saccharalis* and contributes to the plant's growth and development. Therefore, Si can be used as a component to enhance sugarcane productivity and mitigate the adverse effects of *D. saccharalis* larvae in sugarcane fields.

Acknowledgements: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001 (scholarship to the first author ou ACGS) and by Fundação de Amparo à Pesquisa do

Estado de São Paulo - FAPESP (17/25258-1) (financial support to sixth author ou GDR).

References

1. Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Perecin D (2011) Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de métodos de amostragem. Bragantia 70:577-585. https://doi.org/10.1590/S0006-87052011005000008
2. Borges Filho RC, Sturza VS, Bernardi D, Cunha US, Pinto AS, Silva SDDA, Nava DE (2019) Population dynamics of pests and natural enemies on sugar cane grown in a subtropical region of Brazil. Fla Entomol 102:526-530. https://doi.org/10.1653/024.102.0313
3. Wilson BE, White WH, Richard RT, Johnson RM (2020) Population trends of the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) in Louisiana sugarcane. Environ Entomol 49:1455-1461. https://doi.org/10.1093/ee/nvaa127
4. Cheavegatti-Gianotto A, De Abreu HMC, Arruda P, Bespalhok Filho JC, Burnquist WL, Creste S, Di Ciero L, Ferro JA, Figueira AVO, Filgueiras TS, Grossi-de-Sá MF, Guzzo EC, Hoffmann HP, Landell MGA, Macedo N, Matsuoka S, Reinach FC, Romano E, Silva WJ, Silva-Filho MC, Ulian EC (2011) Sugarcane (*Saccharum* X *officinarum*): a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. Trop Plant Biol 4:62-89. https://doi.org/10.1007/s12042-011-9068-3
5. Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Costa VPD, Anjos IAD, Lopes DOP (2013). Reação de cultivares de cana-de-açúcar à broca do colmo. Bragantia 72:29-34. https://doi.org/10.1590/S0006-87052013005000012
6. Wilson BE (2021) Successful integrated pest management minimizes the economic impact of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) on the Louisiana sugarcane industry. J Econ Entomol 114:468-471. https://doi.org/10.1093/jee/toaa246
7. Parra JRP, Coelho Jr A (2022) Insect rearing techniques for biological control programs, a component of sustainable agriculture in Brazil. Insects 13:105. https://doi.org/10.3390/insects13010105
8. Oliveira WS, Sakuno CIR, Miraldo LL, Tavares MAG, Komada KM, Teresani D, Santos JLX, Huang F (2022) Varied frequencies of resistance alleles to Cry1Ab and

Cry1Ac among Brazilian populations of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (F.). Pest Manag Sci 78:5150-5163. https://doi.org/10.1002/ps.7133

9. Wartha CA, Porto NA, Tomaz AC, Roque JV, Diniz MBT, Queiroz MELR, Teófilo RF, Barbosa MHP (2022) Classification of sugarcane genotypes susceptible and resistant to the initial attack of sugarcane borer *Diatraea saccharalis* using epicuticular wax composition. Phytochemistry 199:113175. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113175
10. Wilson BE, Salgado LD, Villegas JM (2022) Optimizing chemical control for *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane. Crop Prot 152:105843. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105843
11. Parra JRP, Zucchi AR (2004) *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. Neotrop Entomol 33:271-281. https://doi.org/10.1590/S1519-566X2004000300001
12. Fernandes FL, Picanço MC, Campos SO, Bastos CS, Chediak M, Guedes RNC, Silva R (2011) Economic injury level for the coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) using attractive traps in Brazilian coffee fields. J Econ Entomol 104:1909-1917. https://doi.org/10.1603/EC11032
13. Brewer MJ, Anderson DJ, Armstrong JS (2013) Plant growth stage-specific injury and economic injury level for verde plant bug, *Creontiades signatus* (Hemiptera: Miridae), on cotton: effect of bloom period of infestation. J Econ Entomol 106:2077-2083. https://doi.org/10.1603/EC13248
14. Ramsden MW, Kendall SL, Ellis SA, Berry PM (2017) A review of economic thresholds for invertebrate pests in UK arable crops. Crop Prot 96:30-43. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.01.009
15. Keeping MG, Meyer JH (2006) Silicon-mediated resistance of sugarcane to *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae): effects of silicon source and cultivar. J Applied Entomol 130:410-420. https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2006.01081.x
16. Keeping MG, Kvedaras OL, Bruton AG (2009) Epidermal silicon in sugarcane: cultivar differences and role in resistance to sugarcane borer *Eldana saccharina*. Environ Exp Bot 66:54-60. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.12.012
17. Keeping MG, Meyer JH, Sewpersad C (2013) Soil silicon amendments increase resistance of sugarcane to stalk borer *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera:

Pyralidae) under field conditions. Plant Soil 363:297-318. https://doi.org/10.1007/s11104-012-1325-1

18. Camargo MS, Bezerra BKL, Vitti AC, Silva MA, Oliveira AL (2017) Silicon fertilization reduces the deleterious effects of water deficit in sugarcane. J Soil Sci Plant Nutr 17:99–111. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162017005000008
19. Camargo MS, Coutinho ID, Lourenço SA, Soares MKM, Colnago LA, Appezzato-da-Glória B, Cavalheiro JA, Amorim L (2020) Potential prophylactic role of silicon against brown rust (*Puccinia melanocephala*) in sugarcane. Eur J Plant Pathol 157:77-88. https://doi.org/10.1007/s10658-020-01982-2
20. Teixeira GCM, Prado RM, Rocha MAS, Santos LCN, Sarah MMS, Gratão PL, Fernandes C (2020) Silicon in pre-sprouted sugarcane seedlings mitigates the effects of water deficit after transplanting. J Soil Sci Plant Nutr 20:849-859. https://doi.org/10.1007/s42729-019-00170-4
21. Keeping MG, Meyer JH (2002) Calcium silicate enhances resistance of sugarcane to the African stalk borer *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) Agri. For. Entomol. 4:265-274. https://doi.org/10.1046/j.1461-9563.2002.00150.x

22 Korndorfer AP (2010) Efeito do silício na indução de resistência à cigarrinha-das-raízes *Mahanarva fimbriolata* Stål (Hemiptera: Cercopidae) em cultivares de cana-de-açúcar (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

23. Camargo MS, Korndörfer GH, Wyler P (2014) Silicate fertilization of sugarcane cultivated in tropical soils. Field Crop. Res 167:64-75. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.07.009
24. Sousa ACG, Souza BHS, Marchiori PER, Bôas LVV (2022) Characterization of priming, induced resistance, and tolerance to *Spodoptera frugiperda* by silicon fertilization in maize genotypes. J Pest Sci 95:1387-1400. https://doi.org/10.1007/s10340-021-01468-y
25. Islam T, Moore BD, Johnson SN (2023) Silicon fertilization affects morphological and immune defences of an insect pest and enhances plant compensatory growth. J Pest Sci 41-33. https://doi.org/10.1007/s10340-022-01478-4
26. Negreiro MCC, Andrade FG, Falleiros ÂMF (2004) Immunology defense system in insects: an approach in velvetbean catterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), AgMNPV-resistant. Semina: Ciênc Agrár 25:299-313.

27. Pinto CPG, Azevedo EB, Dos Santos ALZ, Cardoso CP, Fernandes FO, Rossi GD, Polanczyk RA (2019) Immune response and susceptibility to *Cotesia flavipes* parasitizing *Diatraea saccharalis* larvae exposed to and surviving an LC_{25} dosage of *Bacillus thuringiensis*. J Invertebr Pathol 166:107209. https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107209

28. Santos ALZ, Pinto CPG, Fonseca SS, Azevedo EB, Polanczyk RA, Rossi GD (2022) Immune interactions, risk assessment and compatibility of the endoparasitoid *Cotesia flavipes* parasitizing *Diatraea saccharalis* larvae exposed to two entomopathogenic fungi. Biol Control 166:104836. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104836

29. Vogelweith F, Moret Y, Monceau K, Thiéry D, Moreau J (2016) The relative abundance of hemocyte types in a polyphagous moth larva depends on diet. J Insect Physiol 88:33-39. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.02.010

30. Wilson JK, Ruiz L, Davidowitz G (2019) Dietary protein and carbohydrates affect immune function and performance in a specialist herbivore insect (*Manduca sexta*). Physiol Biochem Zool 92:58-70. https://doi.org/10.1086/701196

31. Braga DP, Arrigoni ED, Silva-Filho MC, Ulian EC (2003) Expression of the Cry1Ab protein in genetically modified sugarcane for the control of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). J New Seeds 5:209-221. https://doi.org/10.1300/J153v05n02_07

32. Souza GM, Van Sluys MA, Lembke CG, Lee H, Margarido GRA, Hotta CT, Gaiarsa JW, Diniz AL, Oliveira MM, Ferreira SS, Nishiyama MY, Ten-Caten F, Ragagnin GT, Andrade PM, Souza RF, Nicastro GG, Pandya R, Kim C, Guo H, Durham AM, Carneiro MS, Zhang J, Zhang X, Zhang Q, Ming R, Schatz MC, Davidson B, Paterson AH, Heckerman D (2019) Assembly of the 373k gene space of the polyploid sugarcane genome reveals reservoirs of functional diversity in the world's leading biomass crop. GigaScience 8:129. https://doi.org/10.1093/gigascience/giz129

33. Mello US, Vidigal PMP, Vital CE, Tomaz AC, Figueiredo M, Peternelli LA, Barbosa MHP (2020) An overview of the transcriptional responses of two tolerant and susceptible sugarcane cultivars to borer (*Diatraea saccharalis*) infestation. Funct Integr Genomics 20:839-855. https://doi.org/10.1007/s10142-020-00755-8

34. Raij B, Cantarella H, Quaggio JÁ, Furlani AMC (1997) Boletim Técnico, 100. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agronômico/Fundação IAC. 285.

35. Camargo MS, Bozza NG, Pereira HS, Silva VM, Silva MA (2020) Increase in silicate fertilization improves the biomass of drought-tolerant contrasting cultivars without prejudicial effects in nutrient uptake in sugarcane. J Soil Sci Plant Nutr 20:2329-2337. https://doi.org/10.1007/s42729-020-00300-3

36. Hensley SD, Hammond Jr AM (1968) Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. J Econ Entomol 61: 1742-1743. https://doi.org/10.1093/jee/61.6.1742

37. Massey FP, Hartley SE (2009) Physical defences wear you down: progressive and irreversible impacts of silica on insect herbivores. J Anim Ecol 78:281-291. https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2008.01472.x

38. Thayappan K, Denis M, Ramasamy SM, Munusamy A (2017) Hemocytes and hemocytic responses in the mole crab *Emerita emeritus* (Linnaeus 1767). J Invertebr Pathol 148:129-137. https://doi.org/10.1016/j.jip.2017.06.011

39. Pinto CP, Walker AA, Robinson SD, King GF, Rossi GD (2022) Proteotranscriptomics reveals the secretory dynamics of teratocytes, regulators of parasitization by an endoparasitoid wasp. J Insect Physiol 139:104395. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2022.104395

40. Zhang Z, Ye GY, Cai J, Hu C (2005) Comparative venom toxicity between *Pteromalus puparum* and *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) toward the hemocytes of their natural hosts, non-target insects and cultured insect cells. Toxicon 46:337-349. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.05.005

41. Wu ML, Ye GY, Zhu JY, Chen XX, Hu C (2008) Isolation and characterization of an immunosuppressive protein from venom of the pupa-specific endoparasitoid *Pteromalus puparum*. J Invertebr Pathol 99:186-191. https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.07.005

42. Teng ZW, Xu G, Gan SY, Chen X, Fang Q, Ye G Y (2016) Effects of the endoparasitoid *Cotesia chilonis* (Hymenoptera: Braconidae) parasitism, venom, and calyx fluid on cellular and humoral immunity of its host *Chilo suppressalis*

(Lepidoptera: Crambidae) larvae. J Insect Physiol 85:46-56. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2015.11.014

43. Li LF, Xu ZW, Liu NY, Wu GX, Ren XM, Zhu JY (2018) Parasitism and venom of ectoparasitoid *Scleroderma guani* impairs host cellular immunity. Arch Insect Biochem Physiol 98:e21451. https://doi.org/10.1002/arch.21451
44. Pinto CP, Walker AA, Robinson SD, Chin YKY, King GF, Rossi GD (2021) Venom composition of the endoparasitoid wasp *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) and functional characterization of a major venom peptide. Toxicon 202:1-12. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.09.002
45. R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.
46. Verma KK, Singh P, Song XP, Malviya MK, Singh RK, Chen GL, Solomon S, Li YR (2020) Mitigating climate change for sugarcane improvement: role of silicon in alleviating abiotic stresses. Sugar Tech 22:741-749. https://doi.org/10.1007/s12355-020-00831-0
47. Tayade R, Ghimire A, Khan W, Lay L, Attipoe JQ, Kim Y (2022) Silicon as a smart fertilizer for sustainability and crop improvement. Biomolecules 12:1027. https://doi.org/10.3390/ biom12081027
48. Savant NK, Korndörfer GH, Datnoff LE, Snyder GH (1999) Silicon nutrition and sugarcane production: a review. J Plant Nutr 22:1853-1903. https://doi.org/10.1080/01904169909365761
49. Bokhtiar SM, Huang HR, Li YR, Dalvi VA (2012) Effects of silicon on yield contributing parameters and its accumulation in abaxial epidermis of sugarcane leaf blades using energy dispersive x-ray analysis. J Plant Nutr 35:1255-1275. https://doi.org/10.1080/01904167.2012.676379
50. Van Oosten MJ, Pepe O, De Pascale S, Silletti S, Maggio A (2017) The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. Chem Biol Technol Agric 4:1-12. https://doi.org/10.1186/s40538-017-0089-5
51. Pryia, Kumar R, Singh D (2023) Silicon uptake and accumulation in sugarcane for resistance against top borer *Scirpophaga excerptalis* Walker and its influence on larval mandibles. Silicon 1-17. https://doi.org/10.1007/s12633-023-02479-3

52. Tomaz AC, Gonçalves MTV, Wartha CA, Papini NF, De Barros AF, Barbosa MHP (2021) Genetic and silicon-induced resistance of sugarcane to *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and silicon effect on nutrient accumulation. Phytoparasitica 1-10. https://doi.org/10.1007/s12600-021-00960-6

53. Johnson SN, Reynolds OL, Gurr GM, Esveld JL, Moore BD, Tory GJ, Gherlenda AN (2019) When resistance is futile, tolerate instead: silicon promotes plant compensatory growth when attacked by above-and belowground herbivores. Biol Lett 15:20190361. https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0361

54. Reynolds OL, Padula MP, Zeng R, Gurr GM (2016) Silicon: potential to promote direct and indirect effects on plant defense against arthropod pests in agriculture. Front Plant Sci 7:744. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00744

55. Nikpay A, Nejadian ES, Goldasteh S, Farazmand H (2017) Efficacy of silicon formulations on sugarcane stalk borers, quality characteristics and parasitism rate on five commercial varieties. Proc Nat Acad Sci India Sect B-Biol Sci 87:289-297. https://doi.org/10.1007/s40011-015-0596-8

56. Rahman A, Wallis CM, Uddin W (2015) Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae.* Phytopathology 105:748-757. https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-14-0378-R

57. Atencio R, Goebel FR, Guerra A (2019) Effect of silicon and nitrogen on *Diatraea tabernella* Dyar in sugarcane in Panama. Sugar Tech 21:113-121. https://doi.org/10.1007/s12355-018-0634-y

58. Massey FP, Ennos AR, Hartley SE (2006) Silica in grasses as a defence against insect herbivores: contrasting effects on folivores and a phloem feeder. J Anim Ecol 75:595-603. https://www.jstor.org/stable/3505603

59. Vilela M, Moraes JC, Alves E, Santos-Cividanes TM, Santos FA (2014) Induced resistance to *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) via silicon application in sugarcane. Rev Colomb Entomol 40:44-48.

60. Camargo MS, Keeping MG (2021) Silicon in sugarcane: availability in soil, fertilization, and uptake. Silicon 13:3691-3701. https://doi.org/10.1007/s12633-020-00935-y

61. Goussain MM, Moraes JC, Carvalho JG, Nogueira NL, Rossi ML (2002) Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-

do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop Entomol 31:305-310. https://doi.org/10.1590/S1519-566X2002000200019

62. Nascimento AM, Assis FA, Moraes JC, Souza BHS (2017) Silicon application promotes rice growth and negatively affects development of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). J Appl Entomol 142:241-249. https://doi.org/10.1111/jen.12461
63. Priya, Kumar R (2023) Silicon quantification in sugarcane plants mediated defence against early shoot borer, *Chilo infuscatellus* and its effect on larval mandibles, yield and quality attributing parameters. Silicon 1-19. https://doi.org/10.1007/s12633-023-02345-2
64. Kvedaras OL, Keeping MG (2007) Silicon impedes stalk penetration by the borer *Eldana saccharina* in sugarcane. Entomol Exp Appl 125:103-110. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2007.00604.x
65. Santos-Cividanes TM, Cividanes FJ, Garcia JC, Vilela M, Moraes JC, Barbosa JC (2022) Silicon induces resistance to *Diatraea saccharalis* in sugarcane and it is compatible with the biological control agent *Cotesia flavipes*. J Pest Sci 95:783-795. https://doi.org/10.1007/s10340-021-01429-5
66. Frew A, Powell JR, Hiltpold I, Allsopp PG, Sallam N, Johnson SN (2017) Host plant colonisation by arbuscular mycorrhizal fungi stimulates immune function whereas high root silicon concentrations diminish growth in a soil-dwelling herbivore. Soil Biol Biochem 112:117-126. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.05.008
67. Cotter SC, Myatt JP, Benskin CMH, Wilson K (2008) Selection for cuticular melanism reveals immune function and life-history trade-offs in *Spodoptera littoralis*. J Evol Biol 21:1744-1754. https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01587.x
68. Yang S, Ruuhola T, Rantala MJ (2007) Impact of starvation on immune defense and other life-history traits of an outbreaking geometrid, *Epirrita autumnata*: a possible causal trigger for the crash phase of population cycle. In: Annales Zoologici Fennici. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board. 89-96. https://www.jstor.org/stable/23736721
69. González-Santoyo I, Córdoba-Aguilar A (2012) Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. Entomol Exp Appl 142:1-16. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2011.01187.x

70. Garvey M, Bredlau J, Kester K, Creighton C, Kaplan I (2021) Toxin or medication? Immunotherapeutic effects of nicotine on a specialist caterpillar. Funct Ecol 35:614-626. https://doi.org/10.1111/1365-2435.13743

Supplementary data

Table 1: Relative chlorophyll content before infestation

Variety	Relative chlorophyll index	
	Si+	**Si-**
IAC91-1099	36,19 ± 1,23 ns	35,22 ± 2,58 ns
SP80-3280	38,21 ± 1,0 ns	37,2 ± 1,26 ns
Interactions	***F***	***P***
Variety	1,0188	0,3195 ns
Si	0,1400	0,7105 ns
Variety × Si	0,0681	0,7956 ns

Table 2: Relative chlorophyll content after infestation

Variety	Relative chlorophyll index	
	Si+	**Si-**
IAC91-1099	37,24 ± 1,53 ns	36,07 ± 1,19 ns
SP80-3280	37,87 ± 1,07 ns	34,27 ± 1,82 ns
Interactions	***F***	***P***
Variety	0,166	0,686 ns
Si	2,765	0,105 ns
Variety × Si	0,717	0,403 ns

CAPÍTULO 3- Efeitos do silício nas vias metabólicas dos fitormônios e no desenvolvimento larval de *Diatraea saccharalis* (lepidoptera: crambidae) em variedades de cana-de-açúcar

RESUMO - A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), é considerada a principal praga da cana-de-açúcar, sendo o uso de silício (Si) uma alternativa benéfica para o seu controle. O objetivo foi avaliar os efeitos da aplicação de Si em cana-de-açúcar e o desenvolvimento larval de *D. saccharalis* em plantas de cana-de-açúcar adubadas com Si. A dose de Si utilizada foi equivalente a 800 kg de Si/ha. A concentração de Si foi maior em plantas adubadas com Si independente da cultivar de cana-de-açúcar. A massa seca foliar e do colmo foi maior em plantas adubadas com Si. O malondialdeído (MDA) foliar foi maior em plantas que sofreram herbivoria. A quantidade de prolina foi menor no colmo de plantas da cultivar SP80-3280 adubadas com Si. O ácido abicísico (ABA) e o ácido indol acético (IAA) na folha foram maiores em plantas que não sofreram herbivoria, no colmo as concentrações de IAA foram maiores em plantas que sofreram herbivoria. As concentrações de ácido salicílico (SA) não foram alteradas pela fertilização com Si, enquanto os níveis de ácido jasmônico (JA) foram maiores em plantas adubadas com Si ou que sofreram herbivoria. O menor peso larval foi obtido em lagartas que se alimentaram de plantas adubadas com Si independente da variedade de cana-de-açúcar. O silício reduziu a atividade enzimática da fosfatase alcalina em lagartas que se alimentaram de plantas da cultivar IAC91-1099 adubadas com Si. Para a enzima tripsina, a mesma teve sua atividade reduzida em lagartas que se alimentaram da cultivar SP80-3280 adubadas com Si. Os resultados obtidos auxiliam na compreensão dos mecanismos pelos quais o Si interfere no desenvolvimento de herbívoros.

Palavras-chave: fitormônios, broca-da-cana, peroxidação lipídica, ácido jasmônico, ácido salicílico

3.1. INTRODUÇÃO

A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabr.,1794) (Lepidoptera: Crambidae), é considerada a principal praga na cultura da cana-de-açúcar por causar danos diretos e indiretos (Dinardo-Miranda et al., 2011). Os danos diretos são ocasionados devido a formação de galerias no colmo, que reduzem a produção. Já os danos indiretos são aqueles que devido a entrada de microrganismos fitopatogênicos no interior do colmo ocasionam a podridão vermelha (Dinardo-Miranda et al., 2011). As infestações da broca podem acarretar uma diminuição entre 50% até70% no teor de sacarose do caldo (Dinardo-Miranda et al., 2012).

O manejo da broca-da-cana envolve diferentes métodos de controle, incluindo controle químico, biológico e o uso de plantas transgênicas. No entanto, o hábito críptico das lagartas de se manterem protegidas no interior do colmo dificulta o controle químico e biológico, pela aplicação de inseticidas químicos ou formulações de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Salles e Baldani, 1998; Antigo et al., 2013; Silva et al., 2018). Embora o controle biológico através da liberação do parasitoide *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae) seja comumente utilizado pelos produtores, as taxas de parasitismo são baixas em áreas desfavoráveis ao desenvolvimento do parasitoide (Parra, 2019, Parra e Zucchi, 2004). Além disso, considerando a extensa área plantada, a disponibilidade de agentes de controle biológico torna-se limitada (Parra, 2014). Outro método de controle empregado é a adoção de cultivares transgênicas de cana resistentes à broca-da-cana. No entanto, é crucial destacar que esse método de controle não pode ser considerado como uma solução definitiva, devido à evolução de insetos resistentes (Bernardi et al., 2014; Omoto et al., 2016).

A busca e definição de métodos de controle adicionais aos existentes são fundamentais para serem incorporados nos Programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Fernandes et al., 2011; Brewer et al., 2013; Ramsden et al., 2017). Embora não seja considerado um nutriente essencial para as plantas, a aplicação de silício (Si) pode ser considerada uma alternativa viável em programas de MIP, especialmente quando realizada em gramíneas (Poaceae), devido à capacidade de acumulação desse mineral (Mitani e Ma, 2005; Keeping e Meyer, 2006; Keeping et al., 2009). Benefícios como aumento na produtividade e diminuição dos efeitos causados

por estresses bióticos e abióticos foram relatados em plantas de cana-de-açúcar adubadas com Si (Keeping et al., 2013; Camargo et al., 2017; Camargo et al., 2020; Teixeira et al., 2020, Misra et al., 2023, Sousa et al., 2024). O aumento da resistência de plantas adubadas com Si contra insetos mastigadores tem sido atribuído à silificação da parede celular vegetal que a torna endurecida e dificulta a alimentação dos insetos (Datnoff et al., 2001; Goussain et al., 2002; Kvedaras et al., 2009; Nascimento et al., 2017; De Tombeur et al., 2020; Camargo et al., 2021). O Si também está associado ao processo de detoxificação metabólica nas plantas, através do aumento da atividade das enzimas antioxidativas que atuam eliminando as espécies reativas de oxigênio (ERO), moléculas produzidas pelas plantas decorrentes do estresse sofrido (Yang et al., 2017; Alhousari e Greger, 2018; Sousa et al., 2022). Além disso, o Si atua na redução das moléculas de malonaldeído (MDA) um dos principais produtos da peroxidação lipídica da membrana celular e indicador do dano oxidativo sofrido (Yang et al., 2017; Sousa et al., 2022).

Os mecanismos de resistência das plantas podem ser classificados como constitutivos ou induzidos, podendo estar sempre presentes na planta ou serem ativados após uma condição de estresse (Borges et al., 2017). A indução de defesa das plantas é ativada após a herbivoria, e pode ter ação direta sobre o herbívoro através dos metabólitos secundários existentes, o que desencadeia rotas bioquímicas que levam ao acúmulo de fitormônios como o ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno que estão envolvidos em respostas de defesa das plantas (Kaplan et al., 2008; Thomma et al., 2001; Dong 1998). Tais repostas de defesa das plantas contra a herbivoria podem atuar de forma sistêmica, sendo amplamente distribuída pela planta, dos tecidos atacados para os tecidos não atacados ou de forma localizada sendo mais expressiva no local onde ocorreu herbivoria (Heil e Ton 2008; Lee et al., 2017).

A ocorrência de interação do Si absorvido pelas plantas com as vias de produção de fitormônios relacionados à defesa contra o ataque de herbívoros, como o ácido jasmônico (JA), e o consequente aumento na produção de fatores antinutricionais, como inibidores de proteases prejudiciais ao desenvolvimento de herbívoros, já foi reportado na literatura (Ye et al., 2013; Johnson et al., 2020; Hall et al., 2020; Waterman et al., 2021). Entretanto, há poucos trabalhos na literatura que avaliaram o efeito do silício no sistema digestivo dos insetos, anteriormente apenas

Ye et al. (2013), encontraram aumento de inibidores de proteases em plantas de arroz adubadas com Si, mas não avaliaram o efeito do silício na atividade das enzimas presente no sistema digestivo dos insetos como por exemplo a fosfatase alcalina e a tripsina. Além disso, não há trabalhos na literatura que analisaram a associação do silício com a concentração de prolina nas plantas. A prolina é um aminoácido de grande importância para a planta, sendo responsável pela regulação osmótica, controlando a abertura e fechamento estomático, atuando como um grande aliado em condições de estresses abióticos, como por exemplo o estresse hídrico (Liu e Zhu, 1997, Fumis e Pedra 2002, Verslues e Sharma, 2010).

Dessa forma, considerando que o Si influência nas rotas metabólicas da planta, esse trabalho teve como objetivo avaliar parâmetros relacionados à produção de fitormônios em plantas de duas variedades de cana-de-açúcar adubadas com Si sob a herbivoria de *D. saccharalis*, avaliando também moléculas relacionadas ao estresse oxidativo das plantas, teor de Si e massa seca vegetal da folha e colmo das plantas. Além disso, foi avaliado o desenvolvimento larval de *D. saccharalis*, abordando o ganho de peso larval e análise do sistema digestivo, após as lagartas se alimentarem de duas variedades de cana-de-açúcar adubadas com Si. Essas análises são importantes para uma compreensão mais aprofundada dos efeitos do Si na planta e suas implicações no desenvolvimento de herbívoros pragas.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Delineamento experimental

O experimento foi realizado em esquema fatorial 2 x 2 x 2 (com ou sem Si x com ou sem herbivoria x 2 variedades comerciais de cana-de-açúcar), em delineamento inteiramente casualizado, formando 8 tratamentos, e 15 repetições. As combinações dos fatores avaliados foram: T1) Variedade suscetível (SP80-3280), com Si, com herbivoria; T2) Variedade suscetível (SP80-3280), com Si, sem herbivoria;; T3) Variedade suscetível (SP80-3280), sem Si, com herbivoria; T4) Variedade suscetível (SP80-3280), sem Si, sem herbivoria; T5) Variedade resistente (IAC91-1099), com Si, com herbivoria; T6) Variedade resistente (IAC91-1099), com Si, sem herbivoria;; T7) Variedade resistente (IAC91-1099), sem Si, com herbivoria; T8) Variedade resistente (IAC91-1099), sem Si, sem herbivoria

A caracterização de resistência e suscetibilidade das variedades de cana-de-açúcar se deve ao maior peso larval em lagartas de *D. saccharalis* alimentadas em dieta artificial contendo o colmo da variedade SP80-3280 (Boiça-Júnior et al., 2011). Já a variedade IAC91-1099 é caracterizada como resistente por apresentarem menor taxa de infestação por *D. saccharalis* (Dinardo-Miranda et al., 2013). Foram feitas análises tanto da folha quanto do colmo das plantas das duas variedades.

3.2.2. Criação de *Diatraea saccharalis*

Os insetos utilizados no experimento foram obtidos de uma criação existente em um laboratório local do estado de São Paulo, onde foram criados em dieta artificial e mantidos em condições controladas durante todos os estágios de desenvolvimento (25 ± 1°C; umidade relativa de 70 ± 10%; 12 h fotofase).

3.2.3. Condução do experimento

As amostras de solo inicialmente apresentaram as seguintes características químicas: pH $CaCl_2$ = 4,6; teor de matéria orgânica = 16 g dm^3; P = 6,0 mg dm^{-3}; teores de cálcio (Ca), magnésio (Mg) e potássio (K) = 6, 3 e 0,6 $mmol_c$ dm^{-3}, respectivamente; capacidade de troca catiônica (CTC) = 26,7 $mmol_c$ dm^{-3}; saturação por bases (SB) = 33%; e saturação de alumínio = 24%.

As amostras foram coletadas na profundidade de 0 a 20 cm em uma área de vegetação nativa e submetidas à secagem ao ar e peneiramento em malha de 4 mm. Antes de serem colocadas nos vasos plásticos, as amostras de solo (2,5 kg) foram misturadas em sacos plásticos com uma dose equivalente a 1000 kg ha^{-1} de calcário (contendo 214 g kg^{-1} de Ca e 126 g kg^{-1} de Mg, com PRNT de 100%) e mantidas a umidade abaixo de 80% da capacidade de campo do solo por 30 dias. A quantidade de calcário foi determinada com base na análise do solo, visando aumentar a saturação por bases para 70%, conforme recomendações para o cultivo de cana-de-açúcar (Raij et al., 1997).

As gemas de cana-de-açúcar das variedades SP80-3280 e IAC91-1099 foram plantadas em bandejas plásticas contendo substrato comercial Carolina Soil (Carolina Soil do Brasil Ltda., Vera Cruz, RS, Brasil) em 21 de agosto de 2021. Trinta dias após o plantio, as mudas pré-brotadas foram transferidas para vasos plásticos de 3 litros

contendo o solo tratado com calcário. Uma tela de drenagem geotêxtil (Bidim, 105 g m-2) foi colocada no fundo interno dos vasos para evitar a lixiviação de nutrientes.

A adubação de plantio com nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) foi realizada com a aplicação de doses equivalentes a 60 kg ha^{-1} de N na forma de sulfato de amônio, 180 kg ha^{-1} hectare de P_2O_5 na forma de superfosfato simples e 100 kg ha^{-1} de K_2O na forma de cloreto de potássio, conforme recomendações do boletim 100 (Raij et al., 1997). Após 30 dias, foi feita a adubação de cobertura com N e K nas mesmas taxas da adubação de plantio.

O silício (Si) foi aplicado no solo utilizando uma solução contendo 100 mL de água e 2,4 mL de silicato de potássio líquido (12% de Si, 12% de K_2O, Fertisilício, Ineous®). Essa solução foi aplicada 3, 7 e 9 semanas após o transplante da cana-de-açúcar nos vasos, totalizando o equivalente a 800 kg/ha de Si, conforme já utilizado em experimentos anteriores (Camargo et al., 2020; Sousa et al., 2024). Após a aplicação da solução de Si, foram adicionados 50 mL de água em cada vaso. Para os vasos controle (-Si), que não receberam aplicação de Si, foram regados com 150 mL de água para manter o mesmo volume aplicado nos tratamentos com Si. Durante os experimentos, a irrigação manual foi realizada com a mesma quantidade em todos os vasos para manter o solo na capacidade de campo.

3.2.4. Análise massa seca e concentração de Si

Para a determinação do teor de Si (folha e colmo), plantas em estádio de crescimento da parte aérea (108 dias após o plantio das gemas) foram retiradas dos vasos, as folhas foram separadas do colmo, colocadas em sacos de alumínio e armazenadas no freezer -20°C. Em seguida essas amostras foram liofilizadas utilizando o liofilizador (Freeze Dryer-JJ científica) e moídas em um moedor elétrico. Posteriormente, as amostras foram moídas e pesadas em uma balança analítica de precisão para se obter a massa seca, em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos com zíper, 4 repetições (folha e colmo) de cada tratamento foram enviadas para determinação dos teores de Si pelo método de Elliot e Snyder (1991).

3.2.5. Avaliação do estresse oxidativo

Avaliação do nível de peroxidação de lipídios foi medida em termos de concentração de malondialdeído (MDA) usando a reação do ácido tiobarbitúrico

(Heath e Packer, 1968). As amostras contendo 15 mg de material vegetal seco foram homogeneizadas com 1 mL de 0,1% TCA e em seguida foram centrifugadas por 15 minutos (16000 rpm, 4°C). Foram misturados 300 µL do sobrenadante com 1 mL do reagente MDA contendo 20% de TCA e 0,5% de TBA. A solução resultante foi aquecida a 95°C por 30 minutos e, em seguida, rapidamente resfriada em uma caixa de isopor com gelo. Após centrifugação a 13000 rpm e 4°C por 10 minutos, a absorbância do sobrenadante foi medida em comprimentos de ondas de 532 e 600 nm, no espectrofotômetro de cubeta (DR 3900 HACH LANGE).

A prolina foi estimada utilizando a reação de ninidrina de acordo Bates et al. (1973) e Ábrahám et al. (2010). O material vegetal seco (15 mg) foi homogeneizado com 500 µL de ácido sulfossalicílico a 3% por 5 minutos no vórtex. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (15000 rpm; 20°C; 5 minutos) e 100 µL do sobrenadante foram misturados com 500 µL da solução mix (100 µL de ácido sulfossalicílico 3% + 200 µL de ácido acético glacial + 200 µL de ninidrina ácida). Os tubos de eppendorf foram incubados no thermomixer por 60 minutos e, em seguida, foram retirados e colocados imediatamente na caixa de isopor com gelo por 5 minutos. Após esse processo, foi adicionado 1 mL de tolueno. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro de cubeta (DR 3900 HACH LANGE) a absorbância do sobrenadante foi medido em comprimentos de onda de 532 e 600 nm. Foram feitas 5 repetições (folha e colmo) de cada tratamento.

3.2.6. Quantificação de fitormônios

A extração e quantificação dos fitormônios ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA), ácido cis-12-oxo-fitodienoico (OPDA) ácido jasmônico (JA), a forma móvel não sinalizadora de JA, jasmonoil isoleucina (COOH-JA-Ile), os produtos de degradação do JA, ácido jasmônico hidroxilado (OH-JA) e ácido jasmônico hidroxilado isoleucina (OHJA-Ile) foram realizadas de acordo com Müller et al. (2022) no laboratório do Dr. Axel Mithöfer (Instituto Max Planck- Ecologia química, Jena-Alemanha). Para a extração das amostras de folha e colmo, 25 mg de material vegetal seco foi solubilizado em uma solução de 1,5 mL de metanol + 4 µL/ mL da solução padrão composta por (D6JA, D4SA, D6ABA: 10 ng/µl e D6-JA-Ile 2 ng/µl em MeOH). As amostras foram agitadas no shaker Starlab por 30 minutos e centrifugadas por 20

min (13000 rpm, 4ºC). Os fitormônios foram analisados por HPLC-MS/MS (Agilent Technologies – Agilent 1260 e Agilent 1100).

As análises do fitormônios ácido indolacético (IAA) e ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) foram feitas de acordo com o protocolo de Villa-Boas et al. (2003) no laboratório da Dra. Jutta Ludwig-Müller (Technische Universität Dresden-Instituto de Botânica). Para a extração 45 mg do material vegetal de folha e colmo foram pesados e adicionado 500 µL de água + 10 µL do reagente para IAA e 10 µL do reagente para ACC. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas com 200 µL de hidróxido de sódio (1%) + 147 µL de metanol e 34 µL de piridina. As amostras foram agitadas no vórtex por 25-30 segundos, adicionado 40 µL de cloroformato agitadas no vórtex por 25-30 segundos e adicionado 400 µL de clorofórmio, agitado no vórtex por 10 segundos, adicionado 400 µL da solução de bicarbonato de sódio (50 mM), agitado no vórtex por 10 segundos e centrifugado por 5 minutos (16100 rpm, temperatura ambiente (± 25 °C). Os fitormônios foram analisados por GC-MS (Varian Saturn 2100T).

3.2.7. Avaliação do desempenho larval de *Diatraea saccharalis*

Para determinar o ganho de peso larval, plantas dos tratamentos que continham herbivoria foram infestadas com 3 lagartas de *D. saccharalis* de 3º ínstar, que foram pesadas antes de infestá-las nas plantas. Após 7 dias de herbivoria plantas em estádio de crescimento da parte aérea (108 dias após o plantio das gemas) foram retiradas dos vasos, o colmo das plantas foi cortado longitudinalmente e as lagartas foram removidas, colocadas em uma placa de Petri, e levadas ao laboratório, no qual foram pesadas com o auxílio de uma balança analítica. O ganho de peso larval foi obtido pela subtração do peso final e peso inicial. A média de cada repetição foi utilizada para as análises estatísticas.

3.2.8. Coleta de intestino para análise da atividade enzimática

Lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com plantas adubadas ou não com Si (tratamentos T1,T3,T5,T7) foram anestesiadas em gelo por 10 min. Posteriormente, as lagartas foram imersas em uma solução de NaCl a 125 mM (4 °C). Em seguida, suas cabeças e pontas posteriores de seus corpos foram removidas e o intestino médio foi dissecado após um corte longitudinal através dos tegumentos larvais. Para

separar o intestino médio do intestino posterior, realizou-se um corte transversal na junção com os Túbulos de Malpighi. Os intestinos foram homogeneizados em um homogeneizador Potter-Elvehjem, na proporção de 100 mg de intestinos médios para 300 µL de água deionizada. Os homogenatos foram centrifugados a 10.000×g, por 10 minutos, a 4°C, o sobrenadante foi coletado (~150 µL) e utilizados como fonte de enzimas digestivas (extrato enzimático).

3.2.9. Análise enzimática da fosfatase alcalina

A atividade da fosfatase alcalina foi determinada utilizando 50 µL do extrato enzimático, 25 µL de 4-nitrofenil-fosfato (pNPP) a 20 mM, preparado em tampão glicina-NaOH a 100 mM e pH 9,0, e mais 25 µL do mesmo tampão. As placas foram incubadas a 30°C e as leituras espectrofotométricas foram realizadas continuamente a 405 nm, em intervalos de 1 minuto, ao longo de 20 minutos, utilizando o equipamento Multiskan Sky (ThermoScientific). Foram incluídos brancos de substrato e enzima para monitorar qualquer formação de cor detectável em 405 nm que não estivesse relacionada com os ensaios de fosfatase alcalina.

A atividade da fosfatase alcalina foi calculada com base em uma curva padrão de 4-nitrofenol (0–32 nmol por poço), utilizando a equação y = 0,106x, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9956. Uma unidade (U) de fosfatase alcalina foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1 nmol de 4-nitrofenol por minuto.

3.2.10. Análise enzimática da tripsina

A atividade da tripsina foi medida incubando 20 µL do extrato enzimático com 20 µL de água que foram transferidas para uma placa de 96 poços e a elas foram adicionados 80 µL de BApNA a 1,0875 mM, preparado em glicina-NaOH a 100 mM, pH 9,0 (Erlanger et al., 1961). As placas foram então incubadas a 30°C e as leituras espectrofotométricas foram realizadas continuamente a 410 nm, em intervalos de 30 segundos, durante 30 minutos, utilizando um Multiskan Sky (ThermoScientific). Brancos de substrato e enzima foram incluídos para monitorar a formação de qualquer cor detectável a 410 nm não relacionada com os ensaios de tripsina.

A atividade de tripsina foi calculada utilizando uma curva padrão de 4-nitroanilina (0–125 pmol/poço, com equação y = 0,0203x e R^2 = 0,9959). Uma unidade

(U) de tripsina foi definida como a quantidade de enzima necessária para formar 1 pmol de 4-nitroanilina por minuto. As médias e os erros padrão foram obtidos a partir da atividade de tripsina.

3.2.11. Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas no software R (R Development Core Team, 2014). Os dados obtidos foram submetidos à análise exploratória quanto à normalidade dos resíduos através do teste de Shapiro Wilk e Cramér-von Mises e homogeneidade das variâncias, pelo teste de Bartlett, ambos os testes apresentavam um intervalo de confiança de 95% dentro do pacote Exp.Des.pt. Os dados que cumpriram os pressupostos de normalidade e homogeneidade das variâncias foram submetidos à análise de variância fatorial (ANOVA) do pacote agricolae para verificar os efeitos principais da aplicação de Si, herbivoria, variedades de cana-de-açúcar e suas interações. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). Os dados que não obedeceram aos pressupostos da normalidade e homogeneidade foram transformados pela equação de BOX-COX do pacote car e fpp, ou submetidos à análise de GLM (Modelo Linear Generalizado) com distribuição gamma e quasibinomial do pacote car, moss e multcomp.

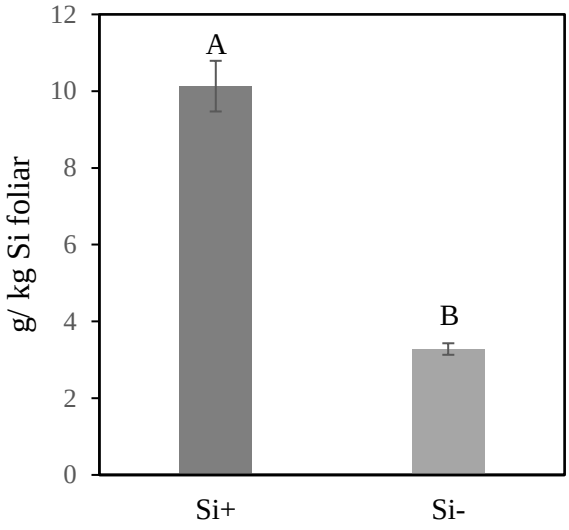
3.3. RESULTADOS

3.3.1. Concentração de Si e massa seca da folha e colmo

A maior concentração de Si na folha foi observada quando houve aplicação de Si independente da variedade de cana-de-açúcar ($F_{1,27} = 1,14$; $P < 0,001$ (Figura 1A). No colmo a maior concentração de Si foi observada na ausência de herbivoria e em plantas adubadas com Si independente da variedade de cana-de-açúcar ($F_{1,28} = 7,15$; $P = 0,013$) ($F_{1,27} = 63,37$; $P < 0,001$) respectivamente (Figura 1B e 1C).

Para os parâmetros de massa seca da folha e colmo houve efeito significativo da interação Variedade x H, Variedade x Si, Variedade x H x Si respectivamente (Figura 2A e 2B) (Tabela 1). A massa seca da folha foi maior na variedade SP80-3280 quando houve herbivoria quando comparada com a variedade IAC91-1099 na mesma condição ($P < 0,05$) (Figura 2A). Além disso, quando analisamos separadamente cada variedade de cana-de-açúcar na presença ou ausência de herbivoria, houve diferença significativa em ambas as variedades. Para a SP80-3280 a massa seca das folhas foi

maior na presença da herbivoria, já para a IAC91-1099 a massa seca das folhas foi maior na ausência de herbivoria ($F_{1,63}$ = 18,51; P = 0,00001) (Figura 2A). Na interação Variedade x Si a massa seca foliar também foi maior na variedade SP80-3280 com aplicação de Si quando comparada com a variedade IAC91-1099 (P < 0,05) (Figura 2B). Além disso, ao compararmos separadamente cada variedade com e sem aplicação de Si, a massa seca foliar foi maior em ambas as variedades de cana-de-açúcar adubadas com Si ($F_{1,63}$ = 9,53; P = 0,003) (Figura 2B). Já para a massa seca do colmo houve efeito significativo da interação VxHxSi (P < 0,05). A massa seca do colmo foi maior na variedade SP80-3280 fertilizada com Si, na ausência de herbivoria ($F_{1,57}$ = 5,54; P = 0,02) (Tabela 1).



(A)

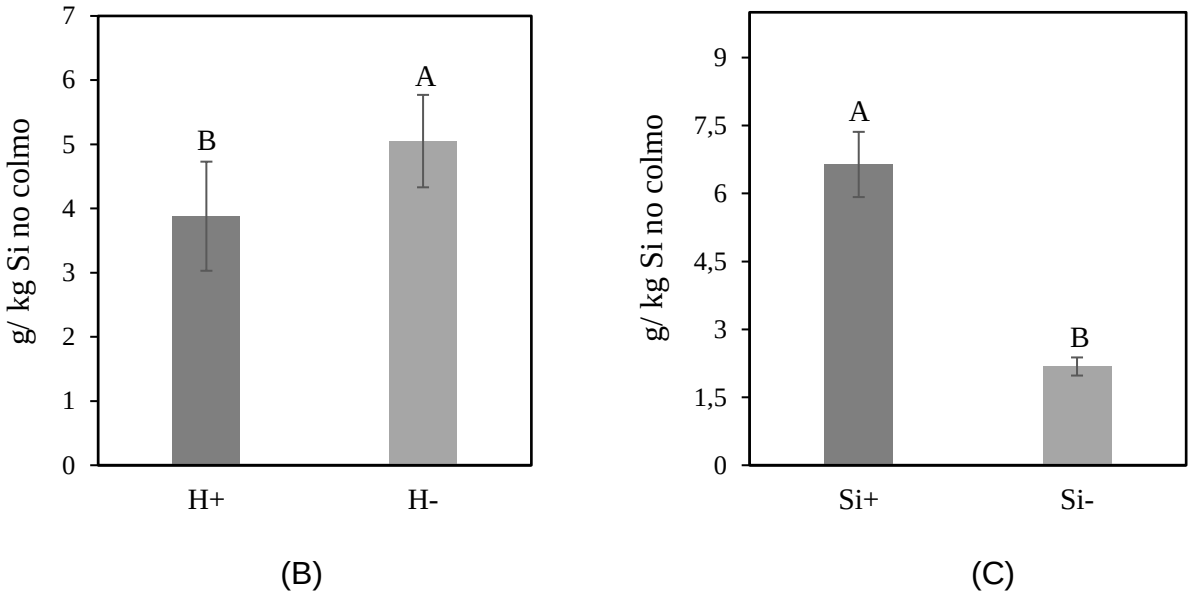


Figura 1: Concentração de Si na folha (A) e no colmo (B e C). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa para os fatores analisados (P < 0,05)

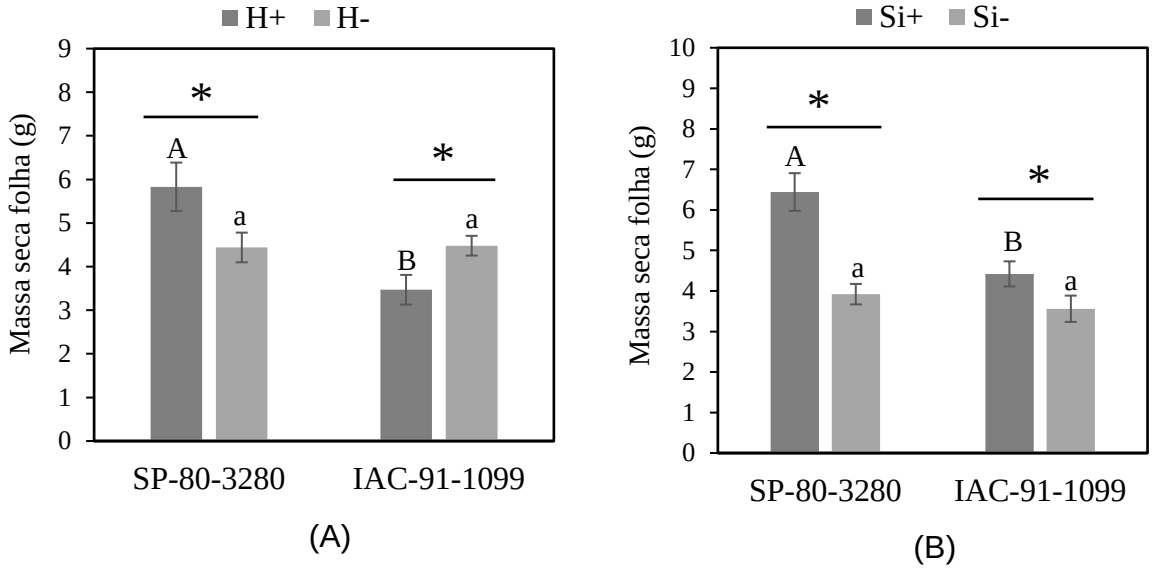


Figura 2: Efeitos da herbivoria na massa seca foliar (A). Efeito da aplicação de Si na massa seca foliar (B). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar na presença de herbivoria por *D. saccharalis* ou adubadas com Si. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar na ausência de herbivoria ou não adubadas com Si *indica diferença significativa dentro de cada variedade de cana-de-açúcar na presença ou ausência de herbivoria, e plantas adubadas ou não com Si (P < 0,05).

Tabela 1: Efeitos da interação Variedade x Herbivoria x Silício na massa seca do colmo (g)

	Herbivoria +		Herbivoria -	
Variedades	Si +	Si -	Si+	Si-
SP80-3280	0,60 ± 0,02 Aa	0,56 ± 0,03 Aa	1,88 ± 0,07 Aa*	0,99 ± 0,06 Ab*
IAC91-1099	0,80 ± 0,03 Aa	0,55 ± 0,05 Aa	0,94 ± 0,04 Ba	0,74 ± 0,03 Aa

Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa dentro de cada variedade de cana-de-açúcar. * indica diferença significativa para os eventos de herbivoria. (P < 0,05).

3.3.2. Avaliação do estresse oxidativo

Houve diferença significativa da interação Variedade x Si, e H para a peroxidação lipídica avaliada pela concentração de malondialdeído (MDA) na folha ($F_{1,32}$ = 4,42; P = 0,04) ($F_{1,32}$ = 5,9; P = 0,02) respectivamente. As maiores concentrações de MDA foram observadas na variedade SP80-3280 sem aplicação de Si. Além disso, quando não houve herbivoria, as concentrações de MDA na folha também foram maiores (Figura 3A e 3B). A prolina na folha não apresentou efeito significativo para os fatores e suas interações ($F_{1,32}$ = 0,069; P = 0,793) dados não apresentados.

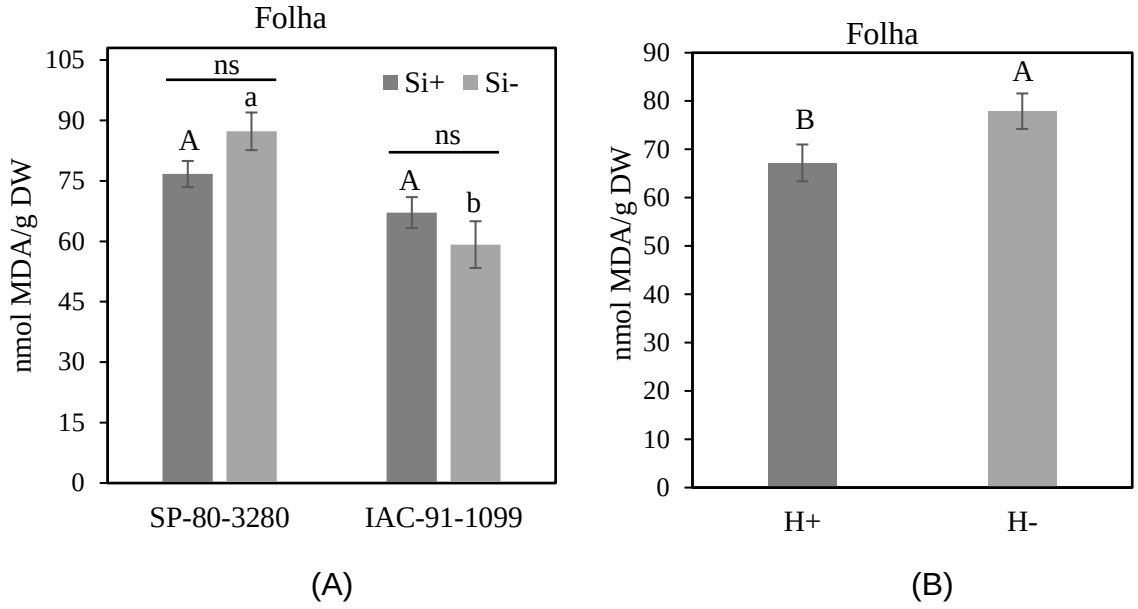


Figura 3: Concentração de malondialdeído (MDA) na folha (A e B). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar adubadas com Si. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar sem fertilização com Si. *indica diferença significativa dentro de cada variedade (P < 0,05).

As análises de estresse oxidativo no colmo demonstraram interação significativa da Variedade x H x Si para a concentração de malondialdeído (MDA) ($F_{1,21}$ = 0,61; P = 1,3e-10). Quando houve herbivoria a maior concentração de MDA foi observada na variedade SP80-3280 com aplicação de Si (Tabela 2). Na ausência de herbivoria a maior concentração de MDA também foi observada na variedade SP80-3280 sem aplicação de Si (Tabela 2). Nas plantas da variedade IAC91-1099 esse aumento na concentração de MDA ocorreu em plantas adubadas com Si na ausência de herbivoria, em comparação à condição com Si e com herbivoria (Tabela 2).

A maior quantidade de prolina no colmo foi observada na variedade IAC91-1099 com aplicação de Si, em relação a variedade SP80-3280 na mesma condição ($F_{1,20}$ = 5,81; P = 0,02) (Figura 4). Além disso, quando avaliamos separadamente a variedade SP80-3280 a maior quantidade de prolina foi observada em plantas não adubadas com Si (Figura 4).

Tabela 2- Efeitos da interação Variedade x Herbivoria x Silício na concentração de malondialdeído (nmol MDA/g DW) no colmo

	Herbivoria +		Herbivoria -	
Variedades	Si +	Si -	Si+	Si-
SP80-3280	178,12 ± 17,15 Aa	83,20 ± 17,75 Ab	149,12 ± 12,34 Aa	217 ± 15,43 Aa*
IAC91-1099	82,92 ± 12,32 Ba	91,43 ± 4,20 Aa	193,03 ± 13,85 Aa*	102, 29 ± 12,49 Ba

Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa dentro de cada variedade de cana-de-açúcar *indica diferença significativa para os eventos de herbivoria. (P < 0,05).

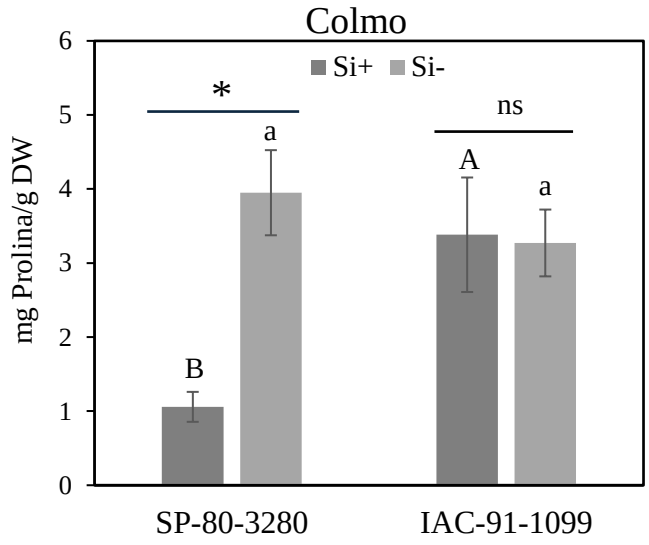


Figura 4: Concentração de prolina no colmo. Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar adubadas com Si. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar sem fertilização com Si. *indica diferença significativa dentro de cada variedade (P < 0,05).

3.3.3. Quantificação de fitormônios na folha

Na análise de fitormônios na folha a maior concentração de ácido abscísico (ABA) foi observada na variedade SP80-3280 na presença de herbivoria (Figura 5A). Entretanto, quando avaliamos dentro da mesma variedade de cana-de-açúcar, a maior

concentração do ABA foi na ausência de herviboria em ambas as variedades ($F_{1,35}$ = 18,85; P = 0,0000004) (Figura 5A). Além disso, a maior concentração de ABA também foi observada na ausência de herbivoria em plantas adubadas com Si ($F_{1,33}$ = 15,84; P = 0,01) (Figura 5B). A maior concentração de ácido indolacético (IAA) na folha ocorreu na ausência de herbivoria sem aplicação de Si somente na variedade IAC91-1099, pois esse fitohormônio não foi detectado na variedade SP80-3280 ($F_{1,8}$ = 11,73; P = 0,009) (Figura 5C).

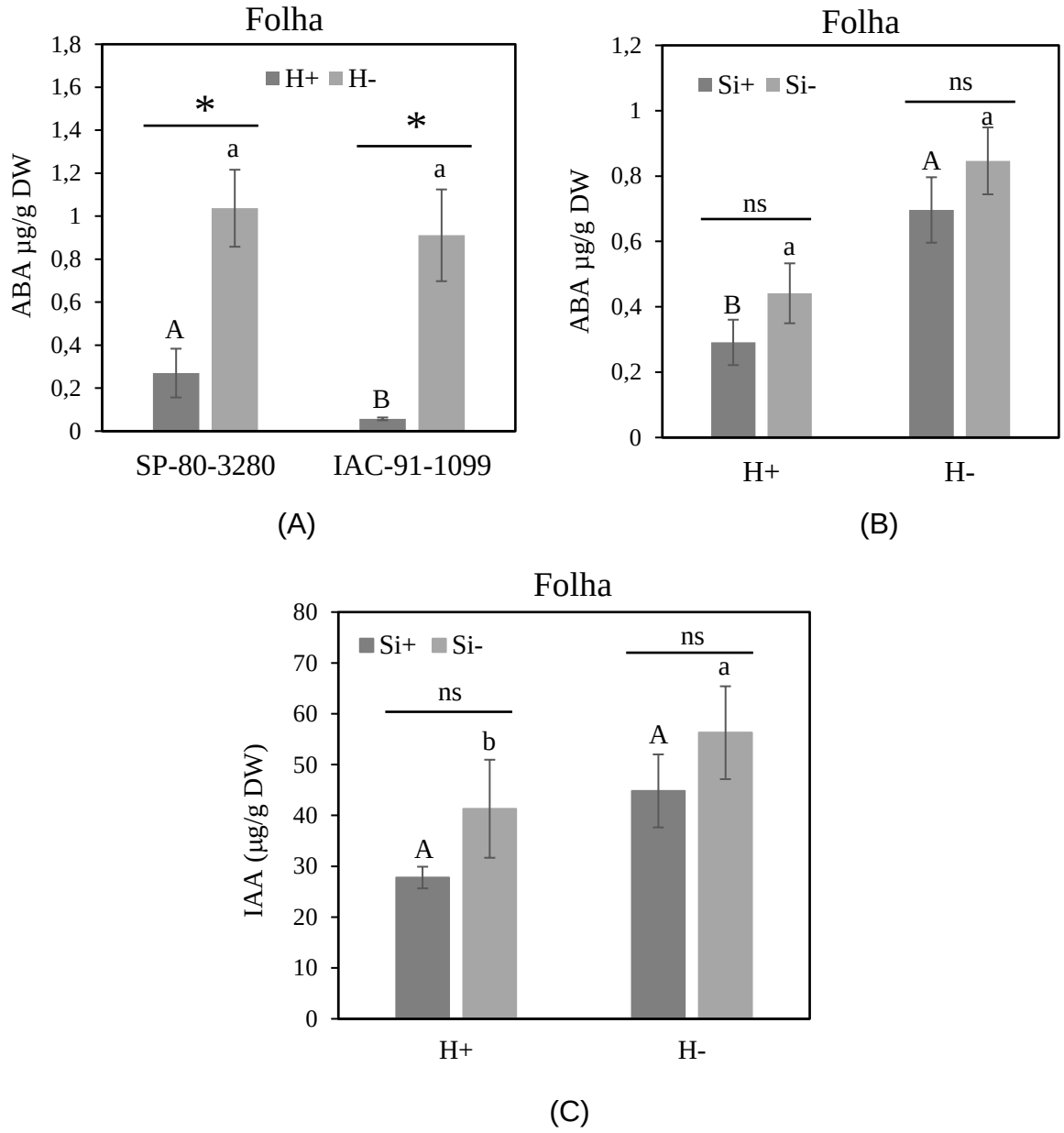


Figura 5: Efeitos da interação Variedade x Herbivoria na concentração de ácido abscísico (ABA) na folha (A). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar na presença de herbivoria. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de

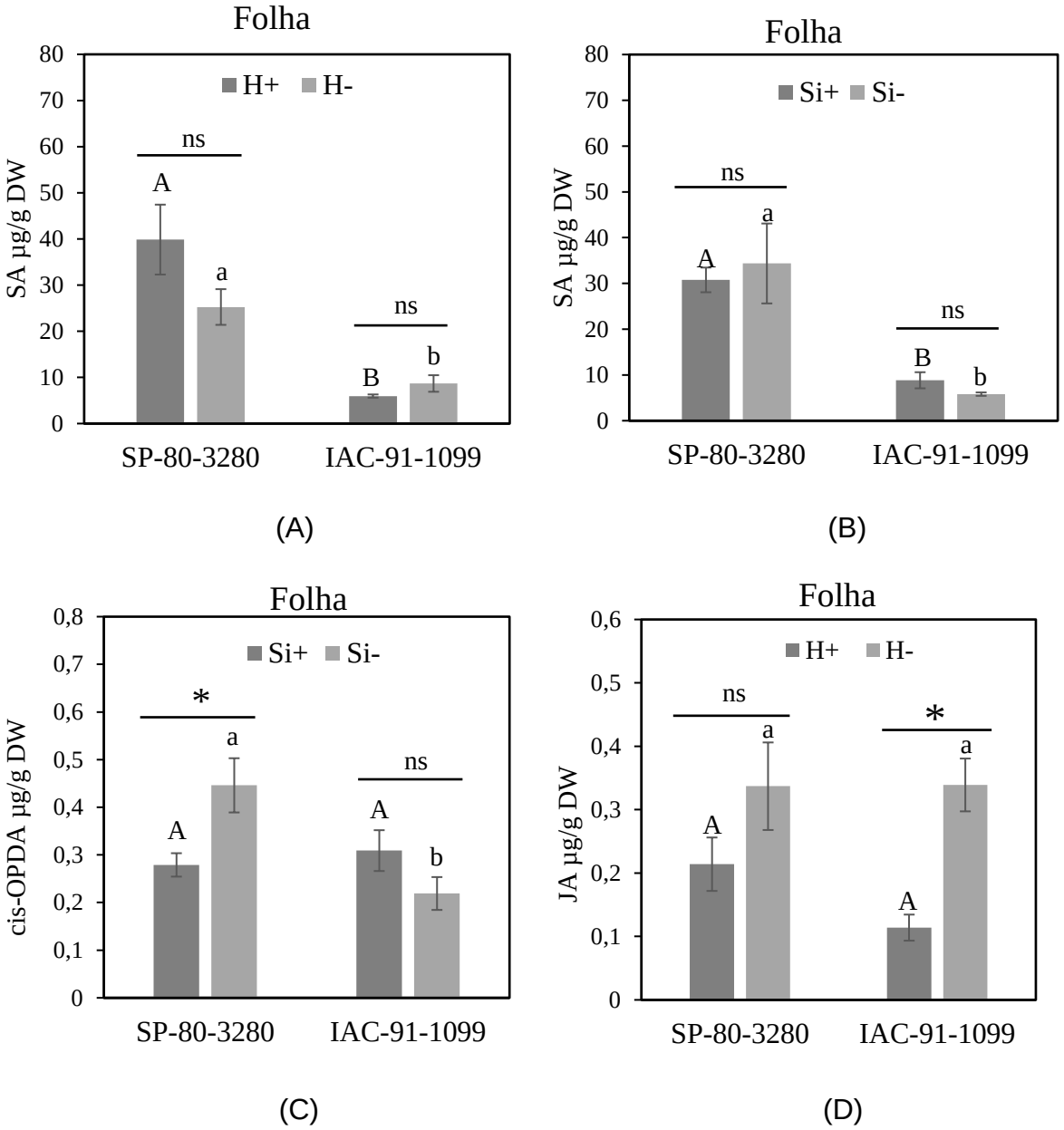
cana-de-açúcar na ausência de herbivoria. *indica diferença significativa dentro de cada variedade de cana-de-açúcar com e sem herbivoria (P < 0,05). Efeitos da interação Herbivoria x Silício na concentração de ácido abscísico (ABA) na folha (B). Efeito da interação Herbivoria x Silício na concentração de ácido indolacético (IAA) na folha (C). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa em plantas adubadas com Si na presença e ausência de herbivoria. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa em plantas não adubadas com Si na presença e ausência de herbivoria (P < 0,05).

Houve interação significativa da Variedade x H, e Variedade x Si na concentração de ácido salicílico (SA) (P < 0,05) (Figura 6A e 6B). Na presença da herbivoria a maior concentração de ácido salicílico foi na variedade SP80-3280 quando houve herbivoria por *D. saccharalis* ($F_{1,35}$ = 8,60; P = 0,007) (Figura 6A). A maior concentração de ácido salicílico também foi observada na variedade SP80-3280 sem aplicação de Si ($F_{1,34}$ = 7,70; P = 0,014) (Figura 6B). A maior concentração de ácido cis-12-oxo-fitodienóico (OPDA) foi maior na variedade SP80-3280 sem aplicação de Si ($F_{1,32}$ = 11,14; P = 0,002) (Figura 6C).

Para jasmonoil-isoleucina (COOH-JA-Ile) a maior concentração ocorreu na variedade SP80-3280 com aplicação de Si e sem herbivoria ($F_{1,26}$ = 4,37; P = 0,04) (Tabela 3). Além disso, na variedade IAC91-1099 a maior concentração de COOH-JA-Ile foi em planta adubadas com Si sem herbivoria (Tabela 3). Um ligeiro aumento na concentração de COOH-JA-Ile também pode ser observado em plantas da variedade IAC91-1099 adubadas com Si e sem herbivoria, em comparação à condição com Si e com herbivoria (Tabela 3).

Efeitos da interação variedade x H, e fertilização com Si foram observados para o ácido jasmônico (JA) (P < 0,05). Não houve diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar para as duas condições de herbivoria. No entanto, quando comparamos apenas a variedade IAC91-1099 foi observado um aumento na concentração de JA quando não houve herbivoria ($F_{1,32}$ = 4,85; P = 0,03) (Figura 6D). Além disso, a maior concentração de JA também foi observada quando houve aplicação de Si independente da variedade de cana-de-açúcar ($F_{1,32}$ = 5,40; P = 0,02) (Figura 6E). A concentração de ácido jasmônico hidroxilado (OH-JA) foi maior na variedade SP80-3280 sem aplicação de Si ($F_{1,32}$ = 5,94; P = 0,02) (Figura 6F). Além disso, a variedade IAC91-1099 apresentou um aumento na concentração de OH-JA em plantas adubadas com Si (Figura 6F). Na interação herbivoria x Si a maior concentração de OH-JA foi em plantas com herbivoria e sem aplicação de Si ($F_{1,32}$ =

6,10; *P* = 0,02) (Figura 6G). Entretanto, na ausência de herbivoria a maior concentração de OH-JA foi em plantas adubadas com Si (Figura 6G). Houve um aumento na concentração de ácido jasmônico hidroxilado isoleucina (OH-JA-Ile) em plantas adubadas com Si na ausência de herbivoria ($F_{1,32}$ = 10,44; *P* = 0,002) (Figura 6H).



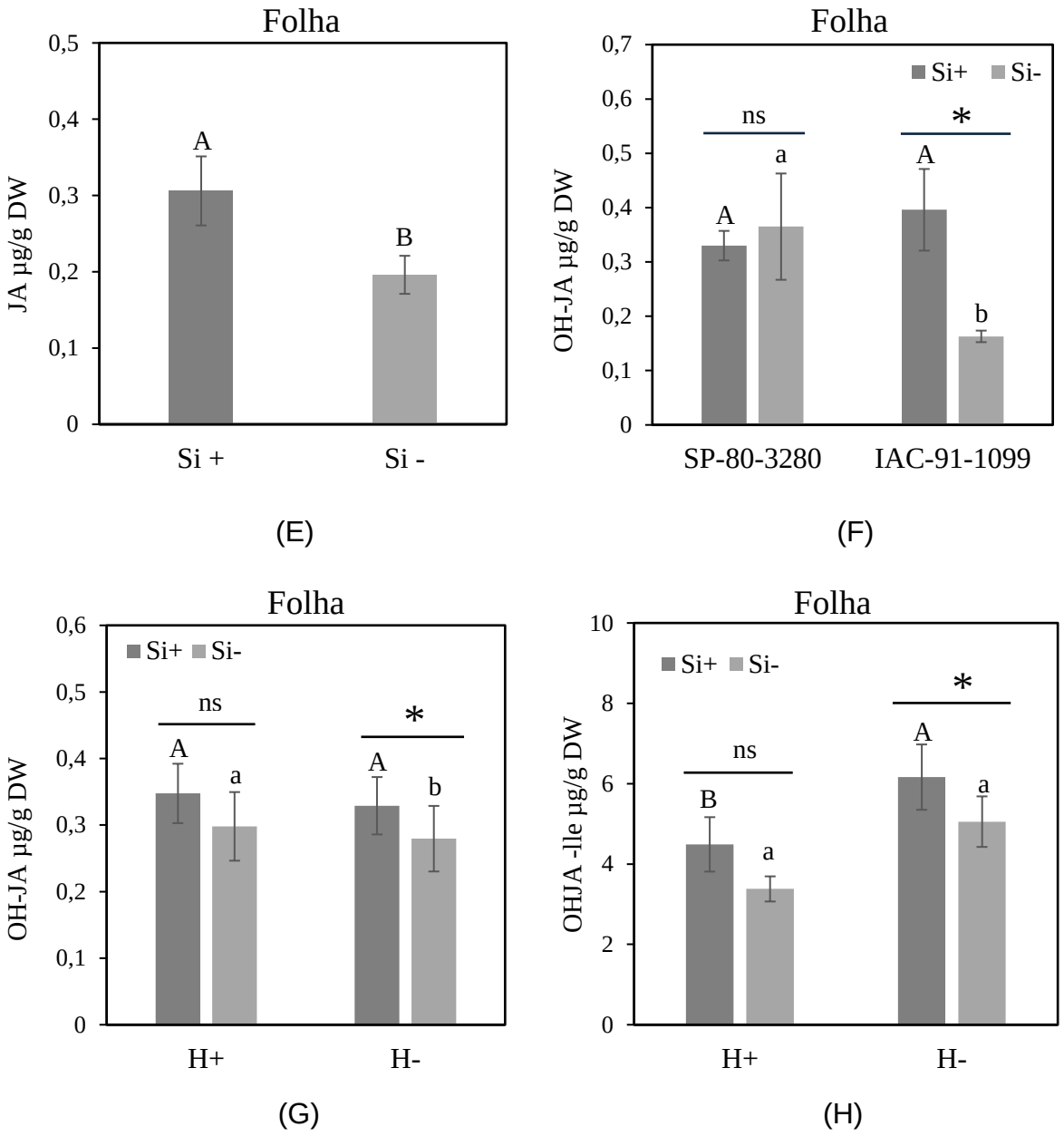


Figura 6: Efeitos da interação Variedade x Herbivoria na concentração de ácido salicílico (SA) na folha (A). Efeitos da interação Variedade x Si na concentração de ácido salicílico (SA) na folha (B). Efeitos da interação Variedade x Si na concentração de ácido cis-12-oxo-fitodienóico (cis-OPDA) na folha (C). Efeitos da interação Variedade x Herbivoria na concentração de ácido jasmônico (JÁ) na folha (D). Efeitos da aplicação de Si na concentração de ácido jasmônico (JÁ) na folha (E). Efeitos da interação Variedade x Si na concentração de ácido jasmônico hidroxilado (OH-JA) na folha (F). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar nas condições de herbivoria ou aplicação de Si. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar na ausência de herbivoria ou sem aplicação de Si. *indica diferença significativa dentro de cada variedade de cana-de-açúcar ($P < 0,05$). Efeitos da

interação H x Si na concentração de ácido jasmônico hidroxilado (OH-JA) na folha (G). Efeitos da H x Si na concentração de ácido jasmônico hidroxilado isoleucina (OHJA-Ile) na folha (H). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa para as diferentes condições de herbivoria em plantas adubadas com Si. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa para as diferentes condições de herbivoria em plantas não adubadas com Si *indica diferença significativa dentro do fator herbivoria (P < 0,05).

Tabela 3- Efeitos da interação Variedade x Herbivoria x Silício na concentração de jasmonoil-isoleucina COOH-JA-Ile (µg/g DW) na folha

	Herbivoria +		Herbivoria -	
Variedades	Si +	Si -	Si+	Si-
SP80-3280	2,06 ± 0,46 Aa	1,93 ± 0,32 Aa	3,25 ± 0,52 Aa	3,14 ± 0,45 Aa
IAC91-1099	2,03 ± 0,46 Aa	1,18 ± 0,12 Aa	2,60 ± 0,49 Aa*	1,72 ± 0,33 Bb

Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa dentro de cada variedade de cana-de-açúcar *indica diferença significativa para os eventos de herbivoria. (P < 0,05).

3.3.4. Quantificação de fitormônios no colmo

A quantificação de fitormônios no colmo apresentou um aumento significativo na concentração de ácido abscísico (ABA) em plantas sem herbivoria independente da variedade de cana-de-açúcar ($F_{1,32}$ = 26,2; P = 0,000001) (Figura 7). Para o ácido indol acético (IAA) no colmo, pode-se observar que na presença da herbivoria a maior concentração ocorreu na variedade IAC91-1099 em plantas não adubadas com Si ($F_{1,16}$ = 11,2; P = 0,004) (Tabela 4). Entretanto, quando não houve herbivoria a maior concentração de IAA ocorreu na variedade IAC91-1099 com aplicação de Si. Além disso, pode-se observar uma diferença significativa na variedade SP80-3280 na ausência de herbivoria a concentração de IAA foi maior em planta não adubadas com Si em comparação aquelas que foram adubadas com Si na mesma condição de

herbivoria. O aumento na concentração de IAA também ocorreu em plantas da variedade SP80-3280 sem aplicação de Si em comparação à condição sem aplicação de Si e com herbivoria, o mesmo ocorreu com a variedade IAC91-1099 na qual plantas sem aplicação de Si na presença de herbivoria apresentaram um aumento na concentração de IAA, em comparação com a condição sem Si e sem herbivoria (Tabela 4).

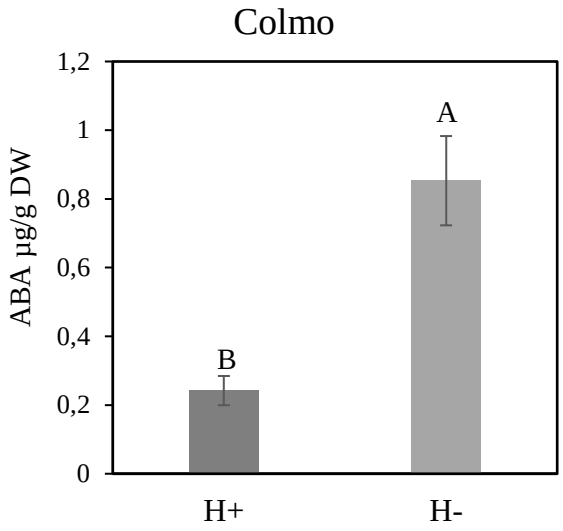


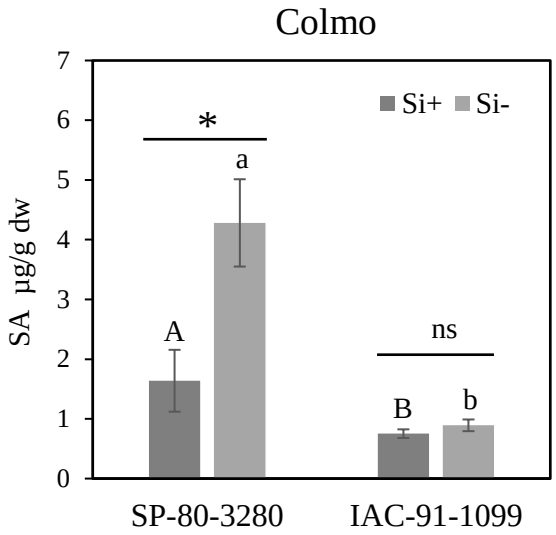
Figura 7: Efeitos da Herbivoria na concentração de ácido abscísico (ABA) no colmo. Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as condições de herbivoria.

Tabela 4- Concentração de auxina (IAA μg/g DW) no colmo

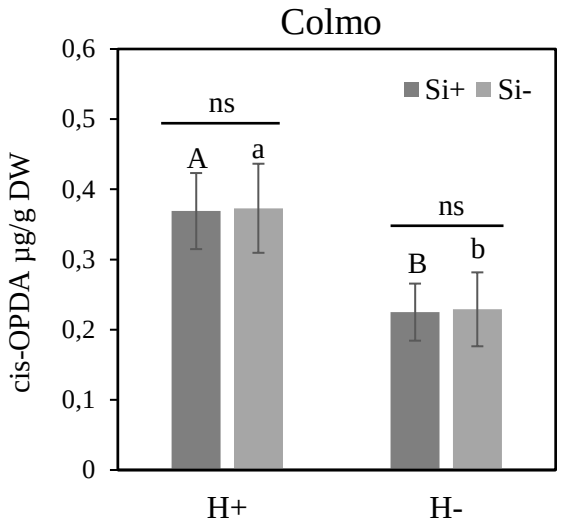
	Herbivoria +		Herbivoria -	
Variedades	Si +	Si -	Si+	Si-
SP80-3280	28,40 ± 5,98 Ba	39,09 ± 9,69 Ba	58,10 ± 10,08 Bb	102,20 ± 10,10 Aa*
IAC91-1099	94,83 ± 9,29 Ab	144,35 ± 10,28 Aa*	131,58 ± 8,02 Aa	89,34 ± 9,23 Ab

Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa dentro de cada variedade de cana-de-açúcar *indica diferença significativa para os eventos de herbivoria. ($P < 0,05$).

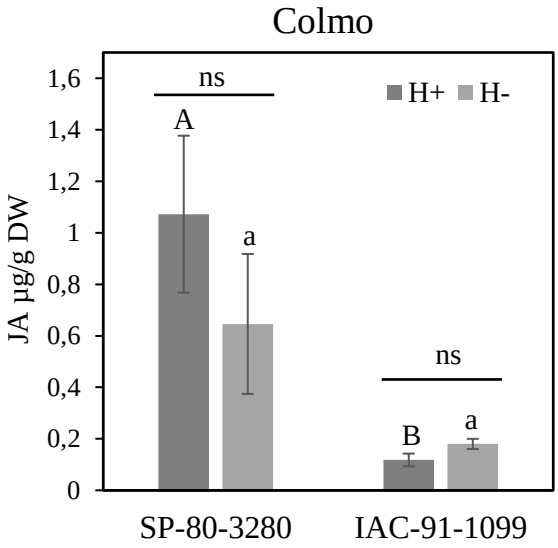
Houve um aumento na concentração de ácido salicílico (SA) na variedade SP80-3280 fertilizada com Si ($F_{1,32}$ = 5,39; P = 0,03) (Figura 8A). A concentração de ácido cis-12-oxo-fitodienóico (cis-OPDA) apresentou um aumento significativo em plantas com herbivoria e adubadas com Si independente da variedade de cana-de-açúcar ($F_{1,32}$ = 7,04; P = 0,01) (Figura 8B). A maior concentração de ácido jasmônico (JA) pode ser observada na variedade SP80-3280 na presença de herbivoria ($F_{1,32}$ = 6,90; P = 0,01) (Figura 8C). A maior concentração de jasmonoil-isoleucina (COOH-JA-Ile) ocorreu na ausência de herbivoria em plantas adubadas com Si independente da variedade de cana-de-açúcar ($F_{1,26}$ = 11,35; P = 0,002) (Figura 8D). A concentração de ácido jasmônico hidroxilado (OH-JA) também foi maior na variedade SP80-3280 com aplicação de Si ($F_{1,32}$ = 11,8; P = 0,001) (Figura 8E). Houve um aumento significativo na concentração do ácido jasmônico hidroxilado isoleucina (OHJA-Ile) na ausência de herbivoria em plantas adubadas com Si ($F_{1,32}$ = 13,19; P = 0,0009) (Figura 8F). Além disso, quando comparamos entre as variedades a concentração foi maior na SP80-3280 ($F_{1,32}$ = 6,7; P = 0.01) (Figura 8G).


Colmo
SA µg/g dw
Si+ Si-
*
ns
A
a
B
b
SP-80-3280
IAC-91-1099

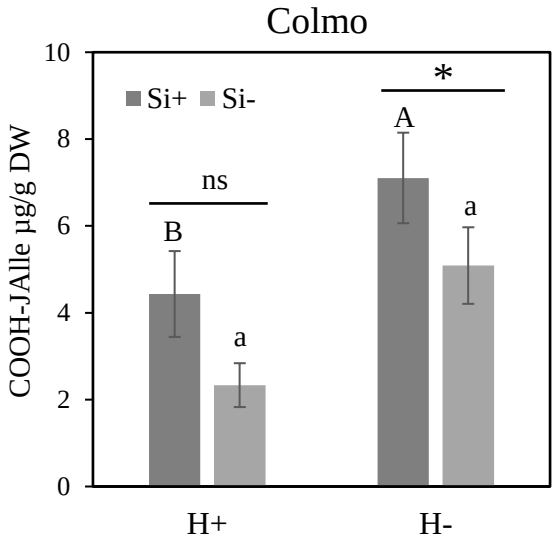
(A)


Colmo
cis-OPDA µg/g DW
Si+ Si-
ns
ns
A
a
B
b
H+
H-

(B)


Colmo
JA µg/g DW
H+ H-
ns
ns
A
a
B
a
SP-80-3280
IAC-91-1099

(C)


Colmo
COOH-JAIle µg/g DW
Si+ Si-
ns
*
B
a
A
a
H+
H-

(D)

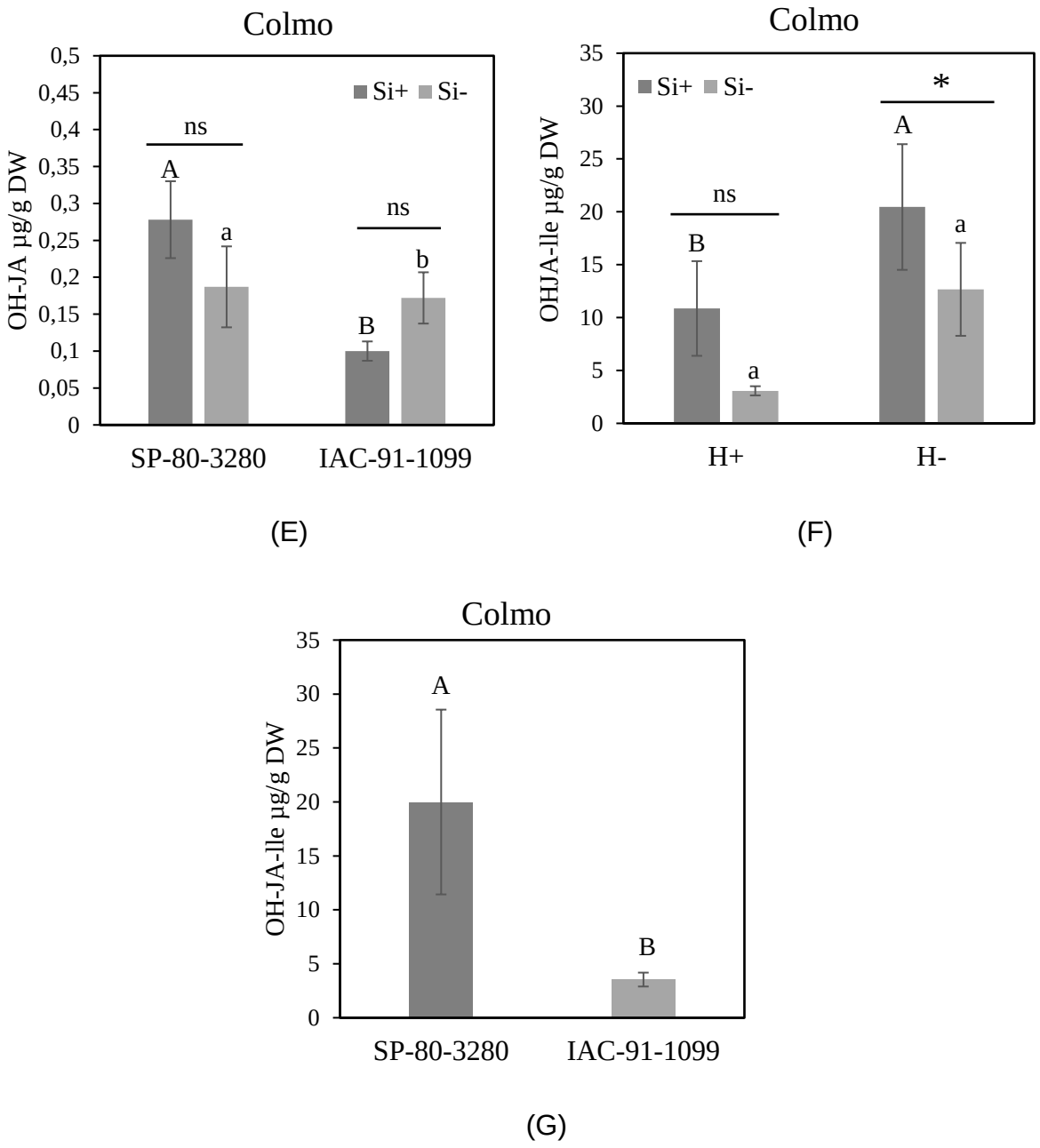


Figura 8: Efeitos da interação Variedade x Si na concentração de ácido salicílico (SA) no colmo (A). Efeitos da interação H x Si na concentração de ácido cis-12-oxo-fitodienóico (cis-OPDA) no colmo (B). Efeitos da interação Variedade x H na concentração de ácido jasmônico (JA) no colmo (C). Efeitos da interação H x Si na concentração de jasmonoil-isoleucina (COOH-JA-Ile) no colmo (D). Efeitos da interação Variedade x Si na concentração de ácido jasmônico hidroxilado (OH-JA) no colmo (E). Efeitos da H x Si na concentração de ácido jasmônico hidroxilado isoleucina (OH-JA-Ile) no colmo (F). Efeitos da variedade na concentração de ácido jasmônico hidroxilado isoleucina (OH-JA-Ile) no colmo (G). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar

ou condição de herbivoria em plantas adubadas com Si. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar ou condição de herbivoria em plantas não adubadas com Si. *indica diferença significativa dentro de cada variedade de cana-de-açúcar (P < 0,05).

3.3.5. Avaliação do desempenho larval de *Diatraea saccharalis*

O menor peso larval de *D. saccharalis* foi observado quando houve aplicação de Si independente da variedade de cana-de-açúcar ($F_{1,39}$ = 14,12; P = 0,00061) (Figura 9).

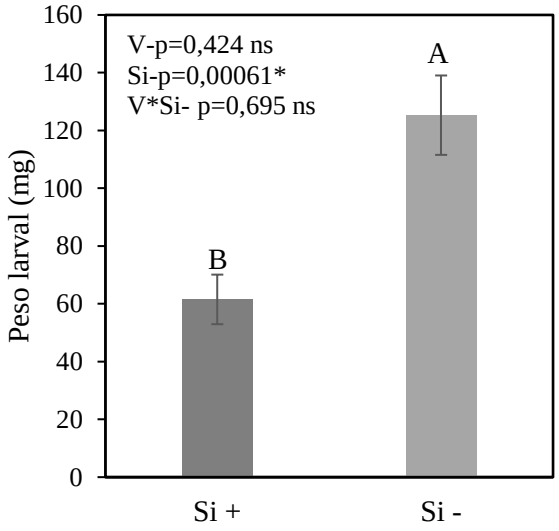


Figura 9: Peso larval de *D. saccharalis* alimentadas com duas variedades de cana-de-açúcar, SP80-3280 e IAC91-1099 adubadas ou não com Si. Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre a aplicação ou não de Si. (P < 0,05).

3.3.6. Análise enzimática do intestino

Na análise enzimática da fosfatase alcalina não houve diferença significativa entre as variedades em ambas as condições de aplicação de Si (P > 0,05) (Figura 10A). Quando comparamos dentro da mesma variedade adubadas ou não com Si, a atividade da fosfatase alcalina foi menor na IAC91-1099 com aplicação de Si ($F_{1,27}$ = 13,20; P = 0,0013). Em relação a atividade enzimática da tripsina, houve diferença significativa entre variedades quando não houve aplicação de Si (P < 0,05) (Figura 10 B). A menor atividade enzimática foi observada na variedade IAC91-1099 quando não houve aplicação de Si. Além disso, ao compararmos dentro da mesma variedade com ou sem aplicação de Si, a atividade enzimática da tripsina foi menor na SP80-3280 com aplicação de Si (F 1,30 = 10,55; P = 0,0031) (Figura 10 B).

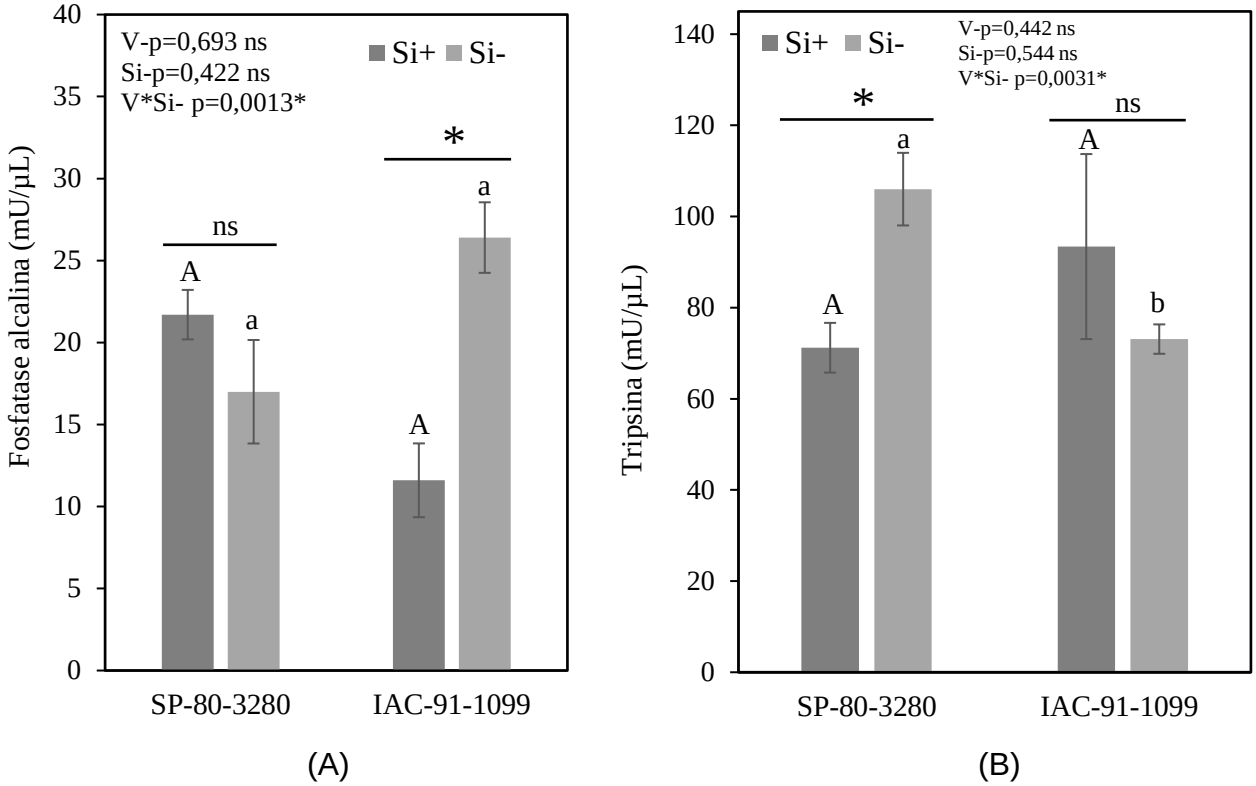


Figura 10: Atividade enzimática do intestino das lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com duas variedades de cana-de-açúcar adubadas ou não com Si. Atividade enzimática da fosfatase alcalina (A). Atividade enzimática da tripsina (B). Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as variedades de cana-de-açúcar adubadas com Si. Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre variedades de cana-de-açúcar sem aplicação de Si. * indicam diferença significativa dentro da mesma variedade de cana-de-açúcar com e sem aplicação de Si ($P < 0,05$).

3.4. DISCUSSÃO

Análises da concentração de Si mostraram que a aplicação do mineral no solo resultou em maior concentração na folha e colmo das plantas de cana-de-açúcar adubadas com Si. Isso sugere que o Si aplicado no solo foi absorvido pelas raízes, translocado na planta e depositado nas folhas e colmo. O acúmulo de Si nas plantas pode estar associado com a rota do JA, devido a ativação de proteínas responsáveis pela absorção do nutriente, no qual são estimuladas pelas vias do ácido jasmônico (JA) (Ye et al., 2013).

O aumento na biomassa da parte área das plantas foram evidenciados quando houve fertilização com Si ou herbivoria de forma isolada. A maior massa seca da folha

foi observada na variedade SP80-3280 na presença de herbivoria ou quando as plantas foram adubadas com Si. Além disso, a maior massa seca do colmo também ocorreu nessa variedade em plantas adubadas com Si na ausência de herbivoria sugerindo que a variedade de cana-de-açúcar SP80-3280 possui mecanismos de tolerância ao estresse, que podem ser induzidos pela herbivoria ou pelo Si, sendo capaz de compensar os danos sofridos em maior crescimento e desenvolvimento vegetativo (Camargo et al., 2014, Jhonson et al., 2019, Sousa et al., 2022, Pryia et al., 2023) Portanto, o silício pode promover o crescimento e desenvolvimento das plantas, atuando como um mecanismo compensatório para o estresse sofrido, seja ele biótico ou abiótico (Verma et al., 2020; Tayade et al., 2022).

O aumento das espécies reativas de oxigênio (ERO) provoca um aumento na peroxidação lipídica, resultando em níveis elevados de malondialdeído (MDA), um dos principais produtos da peroxidação lipídica nas membranas celulares, evidenciando dano oxidativo nessas estruturas (Corbineau et al., 2002). O MDA é amplamente utilizado como um indicador chave do estresse oxidativo em plantas (Yang et al., 2017). Nossos resultados demonstram que para a variedade susceptível SP80-3280 a maior concentração de MDA no colmo ocorreu em plantas adubadas com Si e que sofreram herbivoria por *D. saccharalis*. Para a variedade IAC91-1099 as maiores concentrações de MDA no colmo ocorreram em plantas adubadas com Si sem herbivoria. Esses resultados demonstraram que não houve efeito do Si no dano oxidativo das plantas em condições de estresse biótico Yang et al. (2017), também encontraram aumento na concentração de MDA em plantas de arroz adubadas com Si e em condições de herbivoria por *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) corroborando os resultados do presente estudo.

A prolina desempenha um papel fundamental na regulação osmótica auxiliando na abertura e fechamento dos estômatos, sendo assim uma importante aliada em situações de estresses abióticos (Liu e Zhu, 1997, Fumis e Pedra 2002, Verslues e Sharma, 2010). No presente estudo, a maior quantidade de prolina foi observada em plantas da cultivar IAC91-1099 que foram adubadas com Si, sinalizando para as plantas uma condição de estresse e consequentemente induzindo-as a se preparem para possíveis adversidades futuras. Kandhol et al. (2024), também encontraram aumento na concentração de prolina em raízes de plantas cevada adubadas com Si

em condições de deficiência de fósforo. Na literatura, há relatos que o Si pode atuar como um indutor de tolerância das plantas em condições de estresse abiótico, através do aumento da atividade de enzimas que atuam no metabolismo antioxidante desempenhando um papel importante na eliminação de EROS (espécies reativas de oxigênio) que em altas concentrações são tóxicas às plantas (Gong et al., 2005, Shi et al., 2014;2016, Yang et al., 2017, Sousa et al., 2022).

As plantas direcionam suas defesas induzidas com base no risco de serem atacadas por herbívoros. A seleção de defesas específicas pode também representar uma estratégia de otimização na alocação de recursos (Van Dam e Heil, 2011). Dentre os mecanismos de defesa induzida das plantas, alterações nas rotas metabólicas dos fitormônios, mais especificamente ácido salicílico (SA) e ácido jasmônico (JA) atuam como sinalizadores de estresse biótico sofrido pela planta. (Thaler et al., 2012). Portanto, em condições de estresse biótico e na ausência de suplementação com Si, plantas de cana-de-açúcar deslocam energia para a ativação do mecanismo de defesa associado à via dos fitormônios, ou por meio de substâncias produzidas pelo metabolismo secundário das plantas. (Ye et al., 2013, Waterman et al., 2021). Além disso, há estudos que evidenciam o papel do Si na indução das vias dos fitormônios já foram reportados na literatura (Ye et al., 2013, Hall et al., 2019, Islam et al., 2020, Johnson et al., 2020, Johnson et al., 2021, Singh et al., 2021, Khan et al., 2022).

A maior concentração de ácido salicílico (SA) nas folhas foi observada quando houve herbivoria na cultivar SP80-3280, levando-nos a compreender que os mecanismos de defesa das plantas associados a rota dos fitormônios são induzidos pela herbivoria (Ye et al., 2013, Johnson et al., 2020, Andrade et al., 2023). Embora as reações de defesa das plantas mediadas por SA estejam associadas à alimentação de insetos sugadores, ou seja, insetos que se alimentam do floema (Thaler et al., 2012), nesse estudo podemos observar que a alimentação de um inseto mastigador em outro tecido da planta, ou seja, no colmo, também ativa a rota do (SA) que atua de forma sistêmica sendo translocado para a parte área da planta (Bruessow et al., 2010; Johnson et al., 2020). Diversas espécies de plantas evoluíram mecanismos de defesa induzidas que são ativados de forma sistêmica, potencializando a sinalização dessas defesas, o que permite que as respostas de defesa induzidas se propaguem dos tecidos atacados para os tecidos distais e não atacados (Heil e Ton, 2008).

Resultados diferentes foram encontrados no colmo das plantas de cana-de-açúcar. A concentração de ácido salicílico (SA) no colmo foi menor quando houve aplicação de Si, contrariando a hipótese de que o Si aumenta a concentração do ácido salicílico (SA) na planta (Qi et al., 2024). Entretanto, estudos realizados anteriormente Johnson et al. (2020), demonstram que o Si suprime a rota do ácido salicílico (SA) em condições de herbivoria por insetos mastigadores, fato esse que pode ser evidenciado nesse estudo, em que a concentração de ácido salicílico (SA) no colmo (local da herbivoria por *D. saccharalis*) foi menor em plantas da cultivar SP80-3280 adubadas com Si.

A infestação por *D. saccharalis* no colmo das plantas de cana-de-açúcar levaram a um aumento na concentração de cis-OPDA um dos principais precursores do JA que desempenha um papel fundamental na sinalização de defesa das plantas. Essas moléculas quando estão presentes na alimentação de insetos é rapidamente convertido em iso-OPDA no intestino médio e excretado nas fezes, não ocasionando efeito negativo sobre o inseto (Dabrowska et al., 2009; Vadassery et al., 2012).

A menor concentração de ácido jasmônico (JA) nas folhas de plantas que sofreram herbivoria por *D. saccharalis* pode ser atribuída ao fato de que a alimentação das lagartas não ocorreu nas folhas, mas sim no colmo. Além disso, é possível que a rota metabólica do ácido jasmônico (JA) nas folhas tenha sido inibida pela via do ácido salicílico (SA) (Broessow et al., 2010, Thaler et al., 2012, Johnson et al., 2020). O crosstalk SA-JA, que frequentemente resulta em antagonismo mútuo entre essas duas vias, tem sido considerado como uma estratégia adaptativa das plantas. Isso representa uma forma de economia de custos, uma vez que herbívoros com modo de alimentação diferente são suscetíveis a estratégias de defesa distintas. As defesas específicas que conferem resistência a um agressor podem tornar a planta mais suscetível a outro se essas vias de sinalização forem suprimidas devido ao crosstalk (Thaler et al., 2012). Por outro lado, podemos observar que houve um aumento na concentração de ácido jasmônico (JA) nas folhas de plantas adubadas com Si, confirmando a hipótese de que o Si atua na rota metabólica do ácido jasmônico (JA) aumentando sua concentração. Estudos realizados anteriormente por Waterman et al. (2021), demonstraram que plantas de grama (*Brachypodium distachyon*)

apresentaram aumento nas concentrações de ácido jasmônico (JA) em plantas adubadas com Si, corroborando os nossos resultados.

Estudo prévio de Lee et al. (2017), demonstraram que a herbivoria de *Trichobaris mucorea* no tecido interior do caule de planta de tabaco, induziu a produção de JA e JA-Ile que atuaram como sinalizadores de defesa localizada, ou seja, a defesa foi atividade no local onde a planta estava sofrendo herbivoria pela lagarta. Os autores também ressaltaram que o ataque de herbívoros foliares ativaram a sinalização de defesa de plantas de forma sistêmica. Diante disso, as vias de defesa induzida mediadas pelo JA podem atuar de forma sistêmica ou localizadas dependendo do tecido da planta que está sendo atacado. Resultados diferentes foram encontrados no presente estudo, no qual as rotas de sinalização associadas ao JA incluindo as formas inativas desse fitormônio (OH-JA, OH-JA-Ile) foram induzidas somente pelo Si, sendo que as maiores concentrações dessas moléculas foram observadas na folha e colmo de plantas adubadas com Si.

Sabendo que os insetos alteram seu comportamento alimentar em resposta à qualidade do alimento ingerido, e considerando que o Si é reconhecido por diminuir a palatabilidade do tecido vegetal consumido pelos insetos (Ryalls et al., 2017; Andama et al., 2020; Waterman et al., 2021). O menor ganho de peso larval observado nesse estudo pode ser atribuído a este fato, visto que houve acúmulo desse mineral na folha e colmo das plantas de cana-de-açúcar adubadas com Si. A deposição de sílica nas células epidérmicas do colmo aumenta sua dureza e abrasividade, formando uma barreira mecânica que dificulta a penetração das larvas de *D. saccharalis* nas plantas em estágios iniciais (Massey et al., 2006; Vilela et al., 2014; Keeping e Meyer, 2013). Estudos prévios realizados por Sousa et al. (2024), também demonstraram redução no peso larval de *D. saccharalis* e maior desgaste da mandíbula em lagartas alimentadas com plantas de cana-de-açúcar adubadas com Si, corroborando os nossos resultados.

Os resultados do presente estudo demonstraram que o silício (Si) afetou negativamente o desenvolvimento larval de *D. saccharalis*. Houve menor atividade enzimática da fosfatase alcalina observada em lagartas alimentadas com a variedade de cana-de-açúcar IAC91-1099 adubadas com Si, inferindo que o Si pode ser considerado um elemento prejudicial no processo de digestão do alimento ingerido

pelo inseto. Menor atividade enzimática da tripsina também foi observada em lagartas que se alimentaram de plantas da variedade de cana-de-açúcar SP80-3280 adubadas com Si. Essas alterações nas enzimas digestivas podem estar associadas à redução no peso das lagartas, visto que o menor peso larval ocorreu em lagartas alimentadas com plantas adubadas com Si independente da cultivar de cana-de-açúcar. A redução da atividade enzimática no intestino dos insetos dificulta a absorção dos nutrientes o que consequentemente resulta em deficiências nutricionais que podem culminar na mortalidade dos insetos. Dessa forma, a digestão das proteínas torna-se comprometida, ocasionando indigestão, diminuição da ingestão alimentar, deformidades, e inclusive, anomalias na reprodução (Zhu-Salzman e Zeng 2015; Singh et al., 2020).

Alterações na atividade enzimática de enzimas responsáveis pela digestão do alimento podem estar relacionados com os inibidores de proteases. Inibidores de proteases são metabólitos secundários produzidos pelas plantas como parte do seu sistema de defesa contra insetos-praga, visando especificamente a inibição das proteases intestinais, dificultando assim o processo de digestão (Zhu-Salzman e Zeng, 2015; Singh et al., 2020). A produção desses inibidores pode ser desencadeada pela presença de patógenos, herbivoria, ou ferimento mecânico, e as repostas podem ser de forma sistêmica ou localizada (Van Dam et al., 2001, Rakwal et al., 2001; Wang et al., 2011). Além disso, algumas vias de sinalização como por exemplo a via dos ácido abscísico (ABA), etileno e ácido salicílico (SA) podem estar envolvidos na produção desses inibidores em plantas (Casaretto et al., 2004; Wang et al., 2011).

Baseando nos resultados do presente estudo pode-se concluir os mecanismos pelos quais o Si interfere no desenvolvimento de herbívoros através da redução na atividade de enzimas digestivas e redução no peso larval. O Si pode propiciar aumento da biomassa da parte aérea e colmo das plantas de cana-de-açúcar. Além disso, o Si aumenta a concentração de JA na folha e no colmo que atuam como moléculas sinalizadoras do sistema de defesa das plantas contra a herbivoria, assim como o aumento do MDA em plantas adubadas com Si de ambas as variedades de cana-de-açúcar que sofreram ou não herbivoria por *D. saccharalis*. Análises moleculares e metabolômica serão fundamentais para responder melhor algumas questões da interação do Si nessas rotas metabólicas da planta, bem como quais genes de defesa

da planta seriam ativados pelo Si e qual composto do metabolismo secundário das plantas teria sua concentração alterada, ou se compostos diferentes são sintetizados devido a fertilização com Si.

REFERÊNCIAS

Ábrahám E, Hourton-Cabassa C, Erdei L, Szabados L (2010). Methods for determination of proline in plants. **Plant stress tolerance: methods and protocols,** 317-331.

Alhousari F, Greger M (2018). Silicon and mechanisms of plant resistance to insect pests. **Plants**, 7:33.

Andama JB, Mujiono K, Hojo Y, Shinya T, Galis I (2020). Nonglandular silicified trichomes are essential for rice defense against chewing herbivores. **Plant, Cell & Environment,** 43:2019-2032.

Andrade FM, Sales L, Favaris AP, Bento JMS, Mithöfer A, Penãflor MFG (2023). Identity Matters: Multiple Herbivory Induces Less Attractive or Repellent Coffee Plant Volatile Emission to Different Natural Enemies. **Journal of Chemical Ecology,** 49:696-709.

Antigo MR, Oliveira HN, Carvalho GA, Pereira FF (2013). Repelência de produtos fitossanitários usados na cana-de-açúcar e seus efeitos na emergência de *Trichogramma galloi*. **Revista Ciência Agronômica,** 44:910- 916.

Bates LS, Waldren RPA, Teare ID (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and soil**, 39:205-207.

Bernardi O, Sorgatto RJ, Barbosa AD, Domingues FA, Dourado PM, Carvalho RA, Omoto C (2014). Low susceptibility of Spodoptera cosmioides, Spodoptera eridania and Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, 58:33-40.

Borges M, Michereff MFF, Moraes MCB, Hassemer MJ, Laumann RA, Birkett MA (2018). Metodologias para o estudo da defesa de memória (Priming) em plantas frente a estresse biótico. **Embrapa Circular Técnica,** 91.

Brewer MJ, Anderson DJ, Armstrong JS (2013). Plant growth stage-specific injury and economic injury level for verde plant bug, *Creontiades signatus* (Hemiptera: Miridae), on cotton: effect of bloom period of infestation. **Journal of Economic Entomology**, 106:2077-2083.

Bruessow F, Gouhier-Darimont C, Buchala A, Metraux JP, Reymond P (2010). Insect eggs suppress plant defence against chewing herbivores. **The Plant Journal**, 62:876-885.

Camargo MS, Korndörfer GH, Wyler P (2014). Silicate fertilization of sugarcane cultivated in tropical soils. **Field Crops Research**, 167:64-75.

Camargo MS, Bezerra BKL, Vitti AC, Silva MA, Oliveira AL (2017). Silicon fertilization reduces the deleterious effects of water deficit in sugarcane. **Journal Soil Science and Plant Nutrition** 17:99–111.

Camargo MS, Coutinho ID, Lourenço SA, Soares MKM, Colnago LA, Appezzato-da-Glória B, Cavalheiro JA, Amorim L (2020). Potential prophylactic role of silicon against brown rust (*Puccinia melanocephala)* sugarcane. **European Journal Plant Pathology**, 157:77-88.

Camargo MS, Fernández Honaine M, Osterrieth M, Bozza NG, Silva VM, Benvenutto ML, Silva MA (2021) Silicon fertilization increases gas-exchange and biomass by silicophytolith deposition in the leaves of contrasting drought-tolerant sugarcane cultivars under well-watered conditions. **Plant Soil**, 466:581–595.

Casaretto JA, Zúñiga GE, Corcuera LJ (2004). Abscisic acid and jasmonic acid affect proteinase inhibitor activities in barley leaves. **Journal of plant physiology**, 161:389-396.

Corbineau F, Gay-Mathieu C, Vinel D, Côme, D (2002). Decrease in sunflower (*Helianthus annuus*) seed viability caused by high temperature as related to energy metabolism, membrane damage and lipid composition. **Physiol Plant** 116:489–496.

Dąbrowska P, Freitak D, Vogel H, Heckel DG, Boland W (2009). The phytohormone precursor OPDA is isomerized in the insect gut by a single, specific glutathione transferase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 106:16304-16309.

Datnoff LE, Snyder GH, Korndörfer GH (2001). Silicon on agriculture. **Elsevier Science**.

De Tombeur F, Vander LC, Cornélis JT, Godin B, Philippe CP, Delvaux B (2020) Soil and climate affect foliar silicification patterns and silica-cellulose balance in sugarcane (Saccharum officinarum). Plant Soil 452:529–546

Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Perecin D (2011). Variabilidade espacial de populações de Diatraea saccharalis em canaviais e sugestão de métodos de amostragem. **Bragantia**, 70:577-585.

Dinardo-Miranda LL, Dos Anjos IA, Da Costa VP, Fracasso JV (2012). Resistance of sugarcane cultivars to Diatraea saccharalis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 47:1-7.

Erlanger BF, Kokowsky N, Cohen W (1961). The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. **Archives of biochemistry and biophysics**, 95:271-278.

Elliott CL, Snyder GH (1991). Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** 39:1118-1119.

Fernandes FL, Picanço MC, Campos SO, Bastos CS, Chediak M, Guedes RNC, Silva R (2011). Economic injury level for the coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) using attractive traps in Brazilian coffee fields. **Journal of Economic Entomology**, 104:1909-1917.

Fumis TF, Pedras JF (2002). Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 37:449-453.

Gong H, Zhu X, Chen K, Wang S, Zhang C (2005). Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Sci**. 169:313–321.

Goussain MM, Moraes JC, Carvalho JG, Nogueira NL, Ross ML (2002). Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico

da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, 31:305-310.

Hall CR, Waterman JM, Vandegeer RK, Hartley SE, Johnson SN (2019). The role of silicon in antiherbivore phytohormonal signalling. **Frontiers in Plant Science**, 10:472867.

Hall CR, Mikhael M, Hartley SE, Johnson SN (2020). Elevated atmospheric CO2 suppresses jasmonate and silicon-based defences without affecting herbivores. **Functional Ecology,** 34:993-1002.

Heath RL, Packer L (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of biochemistry and biophysics**, 125:189-198.

Heil M, Ton J (2008). Long-distance signalling in plant defence. **Trends in plant science**,13:264-272.

Islam W, Tayyab M, Khalil F, Hua Z, Huang Z, Chen HY (2020). Silicon-mediated plant defense against pathogens and insect pests. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 168:104641.

Johnson SN, Reynolds OL, Gurr GM, Esveld JL, Moore BD, Tory GJ, Gherlenda AN (2019). When resistance is futile, tolerate instead: silicon promotes plant compensatory growth when attacked by above-and belowground herbivores. **Biology letters**, 15:20190361.

Johnson SN, Rowe RC, Hall CR (2020). Aphid feeding induces phytohormonal crosstalk without affecting silicon defense against subsequent chewing herbivores. **Plants**, 9:1009.

Johnson SN, Hartley SE, Ryalls JM, Frew A, Hall CR (2021). Targeted plant defense: silicon conserves hormonal defense signaling impacting chewing but not fluid-feeding herbivores. **Ecology**, 102:e03250.

Kaplan I, Halitschke R, Kessler A, Sardanelli S, Denno RF (2008). Constitutive and induced defenses to herbivory in above-and belowground plant tissues. **Ecology**, 89:392-406.

Kandhol N, Rai P, Mishra V, Pandey S, Kumar S, Deshmukh R, Tripathi DK (2024). Silicon regulates phosphate deficiency through involvement of auxin and nitric oxide in barley roots. **Planta**, 259:144.

Khan I, Awan SA, Rizwan M, Brestic M, Xie W (2023). Silicon: an essential element for plant nutrition and phytohormones signaling mechanism under stressful conditions. **Plant Growth Regulation**, 100:301-319.

Keeping MG, Meyer JH (2006). Silicon-mediated resistance of sugarcane to *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae): effects of silicon source and cultivar. **Journal of Applied Entomology**, 130:410-420.

Keeping MG, Kvedaras OL, Bruton AG (2009). Epidermal silicon in sugarcane: cultivar differences and role in resistance to sugarcane borer *Eldana saccharina*. **Environmental and Experimental Botany**, 66:54-60.

Keeping MG, Meyer JH, Sewpersad C (2013). Soil Silicon Amendments increase resistance of sugarcane to stalk borer *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) under field conditions. **Plant Soil**, 363:297-318.

Korndörfer AP, Grisoto E, Vendramim JD (2011). Induction of insect plant resistance to the spittlebug *Mahanarva fimbriolata* Stål (Hemiptera: Cercopidae) in sugarcane by silicon application. **Neotropical entomology**, 40:387-392.

Kvedaras OL, Byrne MJ, Coombes NE, Keeping MG (2009). Influence of plant silicon and sugarcane cultivar on mandibular wear in the stalk borer Eldana saccharina. **Agricultural and Forest Entomology**, 11:301-306.

Lee G, Joo Y, Kim SG, Baldwin IT (2017). What happens in the pith stays in the pith: tissue-localized defense responses facilitate chemical niche differentiation between two spatially separated herbivores. **The plant journal**, 92:414-425.

Liu J, Zhu JK (1997). Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of Arabidopsis. **Plant physiology**, 114:591-596.

Massey FP, Hartley SE (2009). Physical defences wear you down: progressive and irreversible impacts of silica on insect herbivores. **Journal of Animal Ecology**,78:281-291.

Misra V, Mall AK, Ansari SA, Raheem A, Tripathi MK, Ansari MI (2023). Silicon as a beneficial nutrient for productivity augmentation and abiotic/biotic stress tolerance in sugarcane**. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 102944.

Mitani N, Ma JF (2005). Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, 56:1255-1261.

Nascimento AM, Assis FA, Moraes JC, Souza BHS (2017). Silicon application promotes rice growth and negatively affects development of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). **Journal of Applied Entomology**, 142:241-249.

Omoto C, Bernardi O, Salmeron E, Sorgatto RJ, Dourado PM, Crivellari A, Carvalho RA, Willse A, Martinelli S, Head G (2016). P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, 72:1727-1736.

Parra JRP, Zucchi AR (2004). *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, 33:271-281.

Parra JRP (2014). Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, 71:420-429.

Parra JRP (2019). Controle Biológico na Agricultura Brasileira. **Entomological Communications**, 1:ec01002-ec01002.

Parra JRP, Coelho JrA (2022). Insect rearing techniques for biological control programs, a component of sustainable agriculture in Brazil. **Insects**, 13:105.

Priya KR, Singh D (2023). Silicon Uptake and Accumulation in Sugarcane for Resistance Against Top Borer *Scirpophaga excerptalis* Walker and its Influence on Larval Mandibles. **Silicon**, 15:5997-6013.

Qi X, Xue X, Wang Z, Li S, Zhang Z, Han Y, Wang Y, Jiang Y. (2024). Silicon application enhances wheat defence against Sitobion avenae F. by regulating plant physiological-biochemical responses. Basic and Applied Ecology, 74, 13-23.

Raij VB, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC (1997). Boletim Técnico 100-Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. **Instituto Agronômico/ Fundação IAC**.

Rakwal R, Agrawal GK, Jwa NS (2001). Characterization of a rice (*Oryza sativa* L.) Bowman–Birk proteinase inhibitor: tightly light regulated induction in response to cut, jasmonic acid, ethylene and protein phosphatase 2A inhibitors. **Gene**, 263:189-198.

Ramsden MW, Kendall SL, Ellis SA, Berry PM (2017). A review of economic thresholds for invertebrate pests in UK arable crops. **Crop Protection**, 96:30-43.

Ryalls JMW, Hartley SE, Johnson SN (2017). Impacts of silicon-based grass defences across trophic levels under both current and future atmospheric CO2 scenarios. **Biology Letters**, 13:20160912.

Salles JF, Baldani JI (1998). *Bacillus thuringiensis* como agente de controle biológico, doc 54. **Embrapa - CNP Agrobiologia**, **Seropédica**, 31.

Silva LM, Silva MC, Silva SMFA, Alves RC, Siqueira HAA, Marques EJ (2018). Toxin gene contents and activity of *Bacillus thuringiensis* strains against two sugarcane borer species, *Diatraea saccharalis* (F.) and *D. flavipennella* (Box). **Neotropical Entomology**, 47:292-301.

Singh S, Singh A, Kumar S, Mittal P, Singh IK (2020). Protease inhibitors: recent advancement in its usage as a potential biocontrol agent for insect pest management. **Insect science**, 27:186-201.

Singh S, Sahoo MR, Acharya GC, Jinger D, Nayak P (2022). Silicon: a potent nutrient in plant defense mechanisms against arthropods. **Silicon**, 14:6493-6505.

Shi Y, Zhang Y, Yao H, Wu J, Sun H, Gong H (2014). Silicon improves seed germination and alleviates oxidative stress of bud seedlings in tomato under water deficit stress. **Plant Physiol. Biochem**, 78:27–36.

Shi Y, Zhang Y, Han W, Feng R, Hu Y, Guo J, Gong H (2016). Silicon enhances water stress tolerance by improving root hydraulic conductance in *Solanum lycopersicum* L. Front. **Plant Science**. 7:196.

Sousa ACG, Souza BHS, Marchiori PER, Bôas LVV (2022). Characterization of priming, induced resistance, and tolerance to *Spodoptera frugiperda* by silicon fertilization in maize genotypes. **Journal of Pest Science**, 95:1387-1400.

Sousa ACG, Pinto CPG, Dos Santos ALZ, Fonseca SS, Camargo MS, Rossi GD (2024). Silicon application enhances sugarcane growth by impairing the development of larval sugarcane borer. **Silicon**, 16:741-751.

Tayade R, Ghimire A, Khan W, Lay L, Attipoe JQ, Kim Y (2022). Silicon as a smart fertilizer for sustainability and crop improvement. **Biomolecules**, 12:1027.

Teixeira GCM, Prado RM, Rocha MAS, Santos LCN, Sarah MMS, Gratão PL, Fernandes C (2020). Silicon in pre-sprouted sugarcane seedlings mitigates the effects of water deficit after transplanting. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, 20:849-859.

Thaler JS, Humphrey PT, Whiteman NK (2012). Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. **Trends in plant science**, 17:260-270.

Thomma BP, Penninckx IA, Cammue BP, Broekaert WF (2001). The complexity of disease signaling in Arabidopsis. **Current Opinion in Immunology**, 13:63-68.

Vadassery J, Reichelt M, Mithöfer A (2012). Direct proof of ingested food regurgitation by *Spodoptera littoralis* caterpillars during feeding on Arabidopsis. **Journal of chemical ecology**, 38:865-872.

Van Dam NM, Horn M, Mares M, Baldwin IT (2001). Ontogeny constrains systemic protease inhibitor response in *Nicotiana attenuata*. **Journal of chemical ecology**, 27:547-568.

Van Dam NM, Heil M (2011). Multitrophic interactions below and above ground: en route to the next level. **Journal of Ecology**, 99:77-88.

Verma KK, Singh P, Song XP, Malviya MK, Singh RK, Chen GL, Li YR (2020). Mitigating climate change for sugarcane improvement: role of silicon in alleviating abiotic stresses. **Sugar Tech**, 22:741-749.

Verslues PE, Sharma S (2010). Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. **The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists**, 8.

Vilela M, Moraes JC, Alves E, Santos-Cividanes TM, Santos FA (2014). Induced resistance to *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) via silicon application in sugarcane. **Revista Colombiana de Entomología**, 40:44-48.

Villas-Bôas SG, Delicado DG, Akesson M, Nielsen J (2003). Simultaneous analysis of amino and nonamino organic acids as methyl chloroformate derivatives using gas chromatography-mass spectrometry. **Analytical biochemistry**, 322:134-138.

Wang X, Hu L, Zhou G, Cheng J, Lou Y (2011). Salicylic acid and ethylene signaling pathways are involved in production of rice trypsin proteinase inhibitors induced by the leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée). **Chinese science bulletin**, 56:2351-2358.

Waterman JM, Hall CR, Mikhael M, Cazzonelli CI, Hartley SE, Johnson SN (2021). Short-term resistance that persists: Rapidly induced silicon anti-herbivore defence affects carbon-based plant defences. **Functional Ecology**, 35:82-92.

Yang L, Han Y, Li P, Li F, Ali S, Hou M (2017). Silicon amendment is involved in the induction of plant defense responses to a phloem feeder. **Scientific Reports**, 7:4232.

Ye M, Song Y, Long J, Wang R, Baerson SR, Pan Z, Zhusalzman K, Xie J, Cai K, Luo S, Zeng R (2013). Priming of jasmonate-mediated antiherbivore defense responses in rice by silicon. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 110:E3631-E3639.

Zhu-Salzman K, Zeng R (2015). Insect response to plant defensive protease inhibitors. **Annual review of entomology**, 60:233-252.

CAPÍTULO 4 - Considerações finais

A aplicação de silício em cana-de-açúcar tem se mostrado uma prática promissora no manejo integrado de pragas, especialmente em relação ao aumento da resistência contra pragas como a *Diatraea saccharalis*, um dos principais insetos que afetam a produtividade da cana-de-açúcar. O silício contribui significativamente para a formação de barreiras físicas e químicas nas plantas, tornando-as menos suscetíveis ao ataque de insetos. Além disso, esse estudo demonstrou que a aplicação de silício pode estimular a produção de fitormônios, como o ácido jasmônico que é crucial na defesa de plantas.

Os fitormônios envolvidos no processo de defesa não apenas reforçam a resposta da planta ao ataque de herbívoros, mas também desempenham um papel fundamental na regulação do crescimento e no aumento da tolerância a estresses bióticos e abióticos. Como resultado, a cana-de-açúcar tratada com silício pode exibir melhor crescimento e desenvolvimento. Além de afetar negativamente o desenvolvimento larval de *D. saccharalis* interferindo diretamente no seu ciclo de vida. Isso diminui a infestação da praga na lavoura, reduzindo a necessidade do uso de inseticidas contribuindo para um manejo mais sustentável.

Portanto, o uso de silício como uma ferramenta no manejo integrado de pragas, aliado ao aumento da concentração de fitormônios de defesa, apresenta-se como uma estratégia sustentável para minimizar os danos causados por *Diatraea saccharalis*.