



Influência da infecção por mollicutes na sobrevivência de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) quando exposto a inseticidas químicos e fungos entomopatogênicos

LUISA CAROLINA RICCI LUCON

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio. Área de Concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

**São Paulo
2025**

**SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO
ESTADO DE SÃO PAULO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO BIOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE, SEGURANÇA ALIMENTAR
E AMBIENTAL NO AGRONEGÓCIO**

Influência da infecção por mollicutes na sobrevivência de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) quando exposto a inseticidas químicos e fungos entomopatogênicos

LUIZA CAROLINA RICCI LUCON

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio. Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

**SÃO PAULO
2025**

LUISA CAROLINA RICCI LUCON

Influência da infecção por mollicutes na sobrevivência de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) quando exposto a inseticidas químicos e fungos entomopatogênicos

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

Orientador: Prof. Dr. Mário Eidi Sato
Coorientador: Dr. Josemar Foresti

SÃO PAULO
2025

Eu **Luisa Carolina Ricci Lucon**, autorizo o Instituto Biológico (IB-APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico de minha autoria, no portal, biblioteca digital, catálogo eletrônico ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte.

Assinatura: _____  Data 09 / 01 / 2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
Núcleo de Informação e Documentação – IB

Lucon, Luisa Carolina Ricci.

Influência da infecção por mollicutes na sobrevivência de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) quando exposto a inseticidas químicos e fungos entomopatogênicos. / Luisa Carolina Ricci Lucon. - Campinas, 2025.

74 p.

doi: 10.31368/PGSSAAA.2025D.LL05.

Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Linha de pesquisa: Manejo integrado de pragas e doenças em ambientes rurais e urbanos.

Orientador: Mário Eidi Sato

Coorientador: Josemar Foresti

Versão do título para o inglês: Influence of mollicutes infection on the survival of *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) when exposed to chemical insecticides and entomopathogenic fungi

.. 1. Cigarrinha-do-milho 2. Enfezamento 3. Controle químico 4. Controle biológico I. Lucon, Luisa Carolina Ricci II. Sato, Mário Eidi III. Foresti, Josemar IV. Instituto Biológico (São Paulo) V. Título.

IB/Bibl./2025/05

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Luisa Carolina Ricci Lucon

Título: Influência da infecção por mollicutes na sobrevivência de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) quando exposto a inseticidas químicos e fungos entomopatogênicos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo para a obtenção de título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Aprovado em: 09 / 05 / 2025

Banca Examinadora

Prof. Dr. Mário Eidi Sato

Instituição: Instituto Biológico

Julgamento: Aprovado

Assinatura: 

Prof^ª. Dra. Mariana Regina Durigan

Instituição: Bayer

Julgamento: Aprovado

Assinatura: 

Prof. Dr. Fabio Maximiano de Andrade Silva

Instituição: FMC Química do Brasil

Julgamento: Aprovado

Assinatura: 

“Palavras são, na minha nada humilde opinião, nossa inesgotável fonte de magia.”

AGRADECIMENTOS

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

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus!

Um imenso agradecimento ao meu orientador Mário E. Sato, que sua orientação foi fundamental para esse projeto acontecer, obrigada pelos ensinamentos, parceria e paciência. Ao meu coorientador Josemar Foresti, que me concedeu a oportunidade de conduzir o projeto na Corteva, pelos valiosos ensinamentos sobre cigarrinha-do-milho, pelos conselhos e orientação profissional. A pós-graduação do Instituto Biológico por me permitir realizar o sonho do mestrado, aos professores, pelas ricas aulas e aos meus colegas de turma pelas risadas, choros, almoços e parceria.

Aos membros da banca Dra. Mariana Durigan e Dr. Fábio Silva, por aceitarem esse convite tão importante e fazerem parte desse momento especial, vocês são exemplos para mim.

À minha mãe, Vonilda, por me ensinar a amar livros e me tornar uma leitora ávida, ao meu pai, Luiz Carlos, por me ensinar a ter força para buscar meus objetivos. Aos meus irmãos, Rafael e Carla, por torcerem e vibrarem junto comigo e por terem me dado meus maiores presentes, meus sobrinhos, Luiz Eduardo, João Lucas e Giovanna. E eu não poderia deixar de agradecer as minhas sobrinhas agregadas, que me receberam tão bem na minha segunda família, Beatriz e Manuela. Eu amo vocês!

À minhas amigas que em todo momento estavam presentes na minha vida e nas minhas decisões. Mayara, Thais, Mariane, Alexsine, Vanessa e Aline que desde quando eu conheci vocês, algo se encaixou no meu coração. Vocês sendo únicas, me completaram. Obrigada por escutarem meus áudios de surtos e risadas, por serem presentes na minha vida, por me acompanharem em mais uma jornada. E espero que em muitas outras. Eu amo vocês!

Um agradecimento especial a Mariane Borges, Vanessa de Oliveira, Aline Padilha, Alfredo Gonring, Guilherme Gotardi e Mário Dal Pogetto, por me ajudarem no projeto, nas ideias, na montagem dos experimentos, avaliações e análises dos dados. Sem vocês esse projeto não teria saído do papel. Vocês foram o diferencial para esse projeto acontecer. Além de terem me aguentado falando desse projeto por quase 2 anos.

À Corteva, por me dar a oportunidade de construir minha carreira profissional e ao meu time Insetário, Natália, Gabriela e Luiz, por me desafiarem. Vocês me fazem ser uma profissional e líder cada vez melhor.

Ao meu marido, Emanuel, que está comigo nessa jornada. E por sempre querer compartilhar a vida comigo. Por me amar e incentivar, por divergir e aconselhar, por ser e estar presente, por cuidar e amparar. Você é meu lar. Obrigada por ser VOCÊ ao meu lado e por compartilharmos nossos sonhos e realizarmos eles JUNTOS. Eu amo você!

RESUMO

LUCON, Luisa Caroliana Ricci. **Influência da infecção por molícutes na sobrevivência de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) quando exposto a inseticidas químicos e fungos entomopatogênicos.** 2025. 74f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo 2025.

O milho (*Zea mays* L.), adaptado a diversas regiões geográficas, em diferentes condições de temperatura e umidade, tem sido utilizado tanto para a alimentação animal quanto humana, sendo considerado um dos cultivos de maior importância socioeconômica em todo o mundo. Com o aumento da área cultivada e as safras sucessivas, tem sido observada uma mudança importante das pragas e doenças na cultura. Uma das pragas que vêm se destacando e preocupando os produtores brasileiros é a cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong e Wolcott), que é o principal vetor do complexo de enfezamentos do milho. Adultos e ninfas da cigarrinha vivem em colônias no cartucho e folhas jovens do milho e ambos sugam a seiva das plantas infectadas onde adquirem os patógenos e posteriormente os transmitem para as plantas sadias. Estudos mais aprofundados sobre o comportamento e ecologia de *D. maidis* são de fundamental importância para se compreender a interação vetor/patógenos/hospedeiro, visando o estabelecimento de novas estratégias de manejo das doenças transmitidas pela praga. A principal estratégia de manejo desses fitopatógenos ainda é através do controle químico da cigarrinha-do-milho, que nem sempre tem se mostrado efetivo para a redução na incidência das doenças associadas ao inseto-vetor. O objetivo do presente trabalho é entender melhor a influência da infecção por molícutes na sobrevivência do inseto-vetor (*D. maidis*), quando exposto a diferentes tratamentos químicos ou biológicos. Os resultados indicam influência da infecção com molícutes na sobrevivência da cigarrinha-do-milho, quando exposta aos inseticidas químicos, podendo haver maior mortalidade dos insetos infectados (ex.: sulfoxaflor + lambda-cialotrina) ou não infectados (ex.: tiodicarbe), dependendo do produto utilizado. Houve influência da infecção com molícutes na sobrevivência das cigarrinhas, quando expostas a fungos entomopatogênicos, como os da espécie *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., com tendência de maior sobrevivência dos insetos infectados sobre as plantas tratadas com os produtos biológicos. Observou-se influência dos molícutes no comportamento de alimentação de *D. maidis* em plantas de milho, com redução na atividade de alimentação nos insetos infectados. Ainda há necessidade da condução diversas outras pesquisas para elucidar os mecanismos de interação entre molícutes, insetos-vetores e plantas de hospedeiras, assim como, a influência dos inseticidas químicos e biológicos nessas interações.

PALAVRAS-CHAVE: cigarrinha-do-milho, enfezamento, controle químico, controle biológico

ABSTRACT

LUCON, Luisa Caroliana Ricci. **Influence of mollicutes infection on the survival of *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) when exposed to chemical insecticides and entomopathogenic fungi.** 74f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo 2025.

Corn (*Zea mays* L.), adapted to different geographic regions, with different temperature and humidity conditions, has been used for both animal and human food, being considered one of the most socioeconomically important crops worldwide. With the increase in cultivated area and successive harvests, an important change in pests and diseases in the crop has been observed. One of the pests that has been standing out and worrying Brazilian producers is the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott), which is the main vector of the corn stunt complex. Leafhopper adults and nymphs live in colonies on the cartridge and young leaves of corn, and both suck the sap from infected plants where they acquire the pathogens and subsequently transmit them to healthy plants. More in-depth studies on the behavior and ecology of *D. maidis* are of fundamental importance to understand the vector/pathogen/host interaction, aiming to establish new strategies for managing diseases transmitted by the pest. The main strategy for managing these phytopathogens is still through chemical control of the corn leafhopper, which has not always been effective in reducing the incidence of diseases associated with the insect vector. The objective of the present work is to better understand the influence of mollicutes infection on the survival of the insect vector (*D. maidis*), when exposed to different chemical or biological treatments. The results indicate the influence of infection with mollicutes on the survival of the corn leafhopper, when exposed to chemical insecticides, with the possibility of greater mortality of infected insects (e.g.: sulfoxaflor + lambda-cyhalothrin) or non-infected insects (e.g.: thiodicarb), depending on the product used. There was an influence of infection with mollicutes on the survival of leafhoppers when exposed to entomopathogenic fungi, such as those of the species *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., with a tendency to increase the survival of infected insects on plants treated with biological products. The influence of mollicutes on the feeding behavior of *D. maidis* on corn plants was observed, with a reduction in feeding activity in infected insects. There is still a need to conduct several other studies to elucidate the mechanisms of interaction between mollicutes, insect vectors and host plants, as well as the influence of chemical and biological insecticides on these interactions.

Keywords: corn leafhopper, stunting, chemical control, biological control

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gaiola para criação de cigarrinha-do-milho.....	26
Figura 2. Gaiolas usadas para a contaminação de plantas.....	28
Figura 3. Folhas de milhos cortadas para encaixar na espuma fenólica.....	31
Figura 4. Diluições feitas conforme protocolos estabelecidos (Corteva).....	31
Figura 5. Folha de milho sendo colocada para imersão por 10 segundos.....	31
Figura 6. Procedimento para colocar a folha de milho na espuma fenólica.....	32
Figura 7. Sugador feito para a coleta das cigarrinhas-do-milho.....	32
Figura 8. Cigarrinhas-do-milho após a colocação nos tubos de ensaio.....	32
Figura 9. Procedimento de aplicação por imersão de folhas em planta de milho.....	34
Figura 10. Planta de milho após a aplicação (imersão de folhas), secagem e colocação no copo de 700ml.....	34
Figura 11. Planta de milho após a aplicação (imersão de folhas), secagem, infestação com cigarrinhas e fechamento do copo com tecido “voil” e elástico.....	35
Figura 12. Gel de agarose para cigarrinha-do-milhos não infectadas com fitoplasma (A) e espiroplasma (B). M: 1kb DNA ladder; Linhas 1-10 amostras de cigarrinha-do-milhos; N: negativo.....	36
Figura 13. Gel de agarose para cigarrinha-do-milhos infectadas com fitoplasma (A) e espiroplasma (B). M: 1kb DNA ladder; Linhas 1-10 amostras de cigarrinha-do-milhos; N: negativo.....	37
Figura 14. Gaiolas confeccionadas para o aprisionamento de cigarrinhas-do-milho.....	38
Figura 15. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de <i>Dalbulus maidis</i> infectados, um dia após a aplicação dos inseticidas metomil (Lannate [®]), bifentrina + Carbossulfano (Talisman [®]), sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition [®]) e tiodicarbe (Larvin [®] 800WG), nas	

concentrações de CL₅₀, CL₉₅ e campo *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$)..... 40

Figura 16. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* infectados, dois dias após a aplicação dos inseticidas metomil (Lannate®), bifentrina + carbossulfano (Talisman®), sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®) e tiodicarbe (Larvin® 800WG), nas concentrações de CL₅₀, CL₉₅ e campo *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$)..... 41

Figura 17. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, um dia após a aplicação dos inseticidas metomil (Lannate®), bifentrina + carbossulfano (Talisman®), sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®) e tiodicarbe (Larvin® 800WG), nas concentrações de CL₅₀, CL₉₅ e campo *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$)..... 43

Figura 18. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, dois dias após a aplicação dos inseticidas metomil (Lannate®), bifentrina + carbossulfano (Talisman®), sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®) e tiodicarbe (Larvin® 800WG), nas concentrações de CL₅₀, CL₉₅ e campo *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$)..... 44

Figura 19. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, três dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®). *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$)..... 45

Figura 20. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, sete dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®). *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$)..... 46

Figura 21. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, dez dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae*

(cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®). *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$)...... 47

Figura 22. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* infectados, três dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®). *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$)...... 48

Figura 23. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* infectados, sete dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®). *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$)...... 49

Figura 24. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* infectados, dez dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®). *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$)...... 50

Figura 25. Papeis filtro com manchas roxas (honeydew) resultantes da alimentação das cigarrinhas-do-milho não infectadas em folhas de milho por 24 horas..... 59

Figura 26. Papeis filtro com manchas roxas (honeydew) resultantes da alimentação das cigarrinhas-do-milho infectadas com molicutes em folhas de milho por 24 horas..... 59

Figura 27. Porcentagens (médias $\pm$ EP) de áreas tingidas com manchas roxas (honeydew), em papel de filtro, resultantes da alimentação de cigarrinhas-do-milho ($n = 15$) infectadas com molicutes e não infectadas, em folhas de milho por 24 horas. Colunas com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste t a 5% de significância..... 60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Lista de produtos químicos utilizados nos bioensaios com <i>Dalbulus maidis</i> , em condições de laboratório.....	29
Tabela 2: Lista de produtos biológicos utilizados nos bioensaios com <i>Dalbulus maidis</i> , em condições de laboratório.....	33
Tabela 3: Mortalidade (número médio de insetos mortos $\pm$ erro padrão) de adultos de <i>Dalbulus maidis</i> aos um e dois dias após a aplicação (DAA) de produtos químicos: sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition [®]); metomil (Lannate [®]), tiodicarbe (Larvin [®] 800WG); e bifentrina + carbossulfano (Talisman [®]), em condições de laboratório.....	51
Tabela 4: Mortalidade (número médio $\pm$ erro padrão) de adultos de <i>Dalbulus maidis</i> aos três, sete e dez dias após a aplicação (DAA) de produtos biológicos: <i>Metarhizium anisopliae</i> (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC [®]); <i>Isaria fumosorosea</i> (cepa 1296) (Octane [®]); <i>Beauveria bassiana</i> (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix [™]), em condições de laboratório.....	54
Tabela 5. Mortalidade corrigida das populações contaminadas e não contaminadas de <i>Dalbulus maidis</i> aos produtos químicos sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition [®]); metomil (Lannate [®]), tiodicarbe (Larvin [®] 800WG); e bifentrina + carbossulfano (Talisman [®]), aos um e dois dias após a aplicação. em condições de laboratório.....	56
Tabela 6: Mortalidade corrigida das populações infectadas e não infectadas de <i>Dalbulus maidis</i> aos produtos biológicos: <i>Metarhizium anisopliae</i> (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC [®]); <i>Isaria fumosorosea</i> (cepa 1296) (Octane [®]); <i>Beauveria bassiana</i> (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix [™]), aos três, sete e dez dias após a aplicação, em condições de laboratório.....	57

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	vi
1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1. Cultura do milho	13
3.2. Cigarrinha-do-milho	15
3.3. Enfezamentos do milho	16
3.4. Os molicutes	18
3.5. Enfezamento vermelho	19
3.6; Enfezamento pálido	20
3.7. Vírus da risca	22
3.8. Métodos de controle	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1. Criação de <i>Dalbulus maidis</i>	26
4.2. Criação de <i>Dalbulus maidis</i> infectada	27
4.3. Criação de <i>Dalbulus maidis</i> não infectada	28
4.4. Metodologia dos bioensaios com inseticidas químicos	29
4.5. Metodologia dos bioensaios com produtos biológicos	33
4.6. Análise de PCR para detecção de molicutes em <i>Dalbulus maidis</i>	35
4.7. Análises da taxa de alimentação da cigarrinhas-do-milho	37

4.8. Análise estatística dos dados	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. Bioensaios com inseticidas químicos	40
5.2. Bioensaios com produtos biológicos	45
5.3. Análises dos dados comparando as populações para produtos químicos	51
5.4. Análises dos dados comparando as populações para produtos biológicos	54
5.5. Análises da mortalidade de <i>Dalbulus maidis</i> nos bioensaios com produtos químicos	55
5.6. Análises de mortalidade de <i>Dalbulus maidis</i> nos bioensaios com produtos biológicos	57
5.7. Análises da taxa de alimentação da cigarrinhas-do-milho	58
6. CONCLUSÕES.....	62
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é considerado uma das mais importantes culturas no mundo, se adaptando em diversas regiões, temperaturas e condições, tornando-se assim, um alimento amplamente utilizado para o consumo humano e animal (PRESTES et al., 2019). Como commodity, o Brasil exportou, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2023), cerca de 55,9 milhões de toneladas de grãos, além de apresentar uma produção consolidada em várias regiões do país, com produção de 306,4 milhões de toneladas de grãos (milho) (CONAB, 2023). A cada ano o Brasil tem batido recordes de safra de milho, sendo os principais estados produtores, Mato Grosso, Paraná, Mato Grosso do Sul, Goiás e Minas Gerais (VIDAL, 2020), somando mais de 21,92 milhões de hectares plantados pelo país (CONAB, 2023).

Na produção do milho, há vários fatores importantes, como solo, temperatura, o tipo de híbrido e somado às melhorias que a agricultura vem sofrendo ao longo dos anos, essa cultura tem se tornado mais relevante em produtividade e qualidade (RIBEIRO et al., 2021). Porém, com o aumento da área cultivada e as safras sucessivas, tem se visto uma mudança importante das pragas e doenças na cultura. Uma praga que vem se destacando e preocupando produtores e pesquisadores é a cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (Delong & Wolcott) (Hemiptera: *Cicadellidae*), que tem tido um papel importante nos últimos anos, principalmente nas regiões Sudeste e Centro Oeste do Brasil, com aumento significativo na infestação, e nas perdas de produção associadas a essa praga, que podem chegar a 80% (OLIVEIRA et al. 2003; OLIVEIRA et al. 2017; ÁVILA et al. 2021).

Dalbulus maidis, popularmente conhecida como cigarrinha-do-milho, é um inseto vetor, possui a capacidade de migração por longas distâncias (OLIVEIRA, 2000), e tem se adaptado facilmente ao Brasil, pois encontra plantas hospedeiras praticamente o ano todo (OLIVEIRA; FRIZZAS, 2022). Apesar de o milho ser o único hospedeiro dessa praga, pois se reproduz somente no milho, a praga consegue sobreviver temporariamente em culturas como sorgo, trigo, braquiária ou em milho tigueria (SABATO et al. 2018).

O aumento da cigarrinha-do-milho no Brasil fez com que essa praga se tornasse primária na cultura do milho (OLIVEIRA et al., 2013). Há relatos que a cigarrinha-do-milho teve sua origem no México (DOEBLEY; ILTIS, 1980). No Brasil, o primeiro relato da praga foi em 1938 (MENDES, 1938) e, em 1971, foram observados os primeiros milhos com enfezamento no estado de São Paulo (COSTA et al., 1971) e, desde então, a praga e a doença têm sido observadas com maior frequência (OLIVEIRA; FRIZZAS, 2022). O aumento populacional da

cigarrinha-do-milho, está diretamente relacionado ao aumento de plantios de milho safra e safrinha e principalmente de milhos tiguera que ficam nas áreas após a colheita. Com o aumento na infestação da cigarrinha, o enfezamento se tornou uma das doenças de maior importância nas regiões produtoras de milho do Brasil (SABATO et al. 2018; FORESTI et al. 2021; OLIVEIRA; FRIZZAS, 2022).

Dalbulus maidis, por ser um inseto vetor, é capaz de transmitir os patógenos para a planta de milho. Essa transmissão, que ocorre através do hábito alimentar do inseto, é do tipo circulativa-propagativa, no qual, o inseto ao se alimentar do floema de plantas de milho infectadas é capaz de adquirir os patógenos e após um período de latência de três a quatro semanas, ou seja circulando no inseto, ocorre à multiplicação do vírus e da bactéria em seu organismo, e após esse período, as cigarrinhas-do-milho se tornam aptas a inocular os patógenos nas plantas, ao se alimentar novamente do floema de plantas saudáveis (OLIVEIRA et al., 2003).

Das doenças que a cigarrinha-do-milho transmite, a virose é causada pelo agente etiológico “Maize rayado fino vírus” (MRFV), mais conhecida como vírus da risca ou raiado fino, que coloniza os vasos floemáticos, causando pontos cloróticos na parte adaxial no limbo foliar e, à medida que esses pontos aumentam, formam riscas longitudinais com o desenvolvimento da doença (TALAMINI et al., 2017).

O enfezamento, por outro lado, está associado aos Mollicutes, bactérias sem parede celular. O sintoma do enfezamento pálido está associado ao espiroplasma (“Corn Stunt Spiroplasma – CSS”), a bactéria *Spiroplasma kunkelii*, coloniza o floema das plantas, causando manchas cloróticas a partir da base da folha, diminuição dos entrenós, redução na altura das plantas e no tamanho das espigas, menor absorção de nutrientes e aumento na proporção de grãos chocos. O sintoma do enfezamento vermelho “maize bushy stunt phytoplasma” (MBSP) está associado ao fitoplasma, multiplicando-se no floema de plantas de milho, e em tecidos do inseto vetor. A primeira evidência da infecção por este patógeno é o amarelecimento nas pontas das folhas novas, manchas vermelhas marginais nas folhas mais velhas, redução no porte e perfilhamento das plantas (NAULT, 1980).

O manejo desses fitopatógenos atualmente é realizado através do controle químico dos insetos vetores. Alguns estudos mostram que a inoculação desses patógenos em plantas nos estádios iniciais causa danos mais severos às plantas de milho (HRUSKA; PERALTA, 1997). Dentre as estratégias de manejo recomendadas para *D. maidis*, os inseticidas químicos sintéticos são os mais utilizados na agricultura, porém, o controle cultural, o uso de variedades de milho resistentes e o controle biológico também estão presentes na literatura e têm mostrado eficiência

de controle (MARTINS et al., 2008). Para os inseticidas químicos, o grupo dos neonicotinoides, via tratamento de sementes tem se destacado (MARTINS et al., 2008), bem como sua aplicação adicional via pulverização foliar (ALBUQUERQUE et al., 2006).

Outro método de manejo é o controle biológico que tem crescido a cada ano, favorecendo a redução no uso de inseticidas químicos, sendo um método importante a fim de minimizar o impacto dos pesticidas sobre as populações de inimigos naturais de artrópodes pragas (DELLA LIBERA et al., 2022). Vários fungos patogênicos para invertebrados estão sendo amplamente comercializados e usados na agricultura em todo o mundo, como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., (FARIA; WRIGHT, 2007; VAN LENTEREN et al., 2018) e estudos recentes mostram que esses fungos entomopatogênicos vêm sendo eficazes no controle de diversos insetos como percevejos e cigarrinhas (RIBEIRO JUNIOR, 2020).

Considerando-se que o manejo da cigarrinha do milho é fundamental para a diminuição da transmissão dos patógenos, e sabendo-se que existe uma relação propagativa entre a cigarrinha-do-milho e os fitopatógenos, é de grande importância entender a relação patógeno/hospedeiro. Nault et al. (1984) observaram que os mollicutes do milho reduziram a taxa de sobrevivência da cigarrinha-do-milho *Dalbulus longulus* (DeLong). Em outro estudo, verificou-se que o fitopatógeno comprometeu significativamente a longevidade de *Dalbulus elimatus* (Ball) (GRANADOS; MEEHAN, 1975).

Silveira (2019) relatou que as cigarrinhas-do-milho infectadas com espiroplasma (*S. kunkelii*) apresentavam maior suscetibilidade à ação dos inseticidas, com menor tempo para o óbito, após a exposição aos inseticidas (metomil, tiametoxam + lambda-cialotrina, clorpirifós). Durante a colonização do espiroplasma em *D. maidis*, alguns tecidos são musculares danificados. Pesquisas indicam degradação das células musculares do mesêntero e dos túbulos de Malpighi em insetos infectados por *S. kunkelii*, levando a crer que o espiroplasma utiliza nutrientes provenientes das células musculares (ÖZBEK et al., 2003; KWON; WAYADANDE; FLETCHER, 2007; SILVEIRA, 2019).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Considerando-se os aspectos apresentados anteriormente, o objetivo do presente trabalho foi entender melhor a influência da infecção por patógenos que causam o enfezamento do milho, na mortalidade da cigarrinha-do-milho, quando exposta a diferentes inseticidas químicos e biológicos.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a suscetibilidade da cigarrinha-do-milho infectada e não infectada com molicutes a inseticidas químicos.

- Avaliar a suscetibilidade da cigarrinha-do-milho infectada e não infectada com molicutes a inseticidas biológicos (fungos entomopatogênicos).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Cultura do milho

O milho pertencente à família Poaceae, é uma gramínea do gênero *Zea* e da espécie *Zea mays* (SILVEIRA et al., 2015). É um cereal com grande valor nutricional e muito utilizado para o consumo humano e de animais domésticos. O milho é um dos alimentos mais antigos do mundo e até hoje é muito consumido (SMITH, 2002; RANUM; PEÑAROSAS; GARCIA-CASAL, 2014), sendo considerada a terceira cultura mais importante do mundo (ALI et al., 2020; ADNAN; BILAL, 2020; ASIF et al., 2020). Na literatura, há sete gêneros de milho, entre os quais, dois são de origem do hemisfério ocidental e cinco da Ásia (PATERNIANI et al., 2000). Porém, antes do descobrimento do continente americano, o milho era totalmente desconhecido na Europa e na Ásia (BEADLE, 1980). Atualmente, sua produção ultrapassa todas as fronteiras e tem alcance mundial, devido à sua importância, que vai muito além da alimentação humana (MARTINEZ HERNANDEZ; NG, 2018).

Essa commodity possui características bastante interessantes, pois apresenta base para avanços futuros (SILVA-PINHEIRO et al., 2021), fazendo com que o milho se torne um alimento básico com uma produção que supera o trigo e o arroz (REHMAN et al., 2021). Os maiores produtores dessa cultura são os Estados Unidos, a China e o Brasil. No território brasileiro, as regiões Centro Oeste, Sul e Sudeste têm se destacado na produção desse cereal (EICHOLZ et al., 2020).

O cultivo do milho contribuiu significativamente para o desenvolvimento econômico de diversos países, sendo utilizado como matérias-primas para a produção de etanol (OLESKOWICZ-POPIEL et al., 2008), na produção de xaropes, adoçantes de alimentos, bebidas (HANOVER; WHITE, 1993) e na alimentação de seres humanos e animais (DELGADO, 2003). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a produção de grãos de milho na 1ª safra 2024/2025 foi estimada em 22.533,7 mil toneladas, com uma área plantada de aproximadamente 3.717,0 mil hectares.

No território brasileiro, é possível realizar a colheita de milho até três vezes por ano, fazendo do país o único entre os principais produtores, capaz de colher três safras e manter a produção de milho anualmente. A primeira safra é considerada a cultura de verão, enquanto a terceira é conhecida como safra de inverno. Já a segunda safra de milho, ocorre entre essas duas (EQUIPE FIELDVIEW, 2024). Uma prática que tem crescido consideravelmente nos últimos anos é o milho de segunda safra, conhecido como “milho safrinha” sendo definido assim, pois

é cultivado entre janeiro e abril e quase sempre após a soja precoce (CRUZ et al., 2011). O milho da segunda safra, que nos últimos anos, têm sido a de maior produção (entre as três safras anuais), com produção estimada de 88,12 milhões de toneladas, para 2024 (CONAB, 2024).

Para se conseguir rendimentos elevados na produção, alguns fatores precisam ser levados em consideração para otimização da cultura, como por exemplo, as condições edafoclimáticas e, principalmente, o manejo utilizado em todo ciclo fenológico (JANINI et al., 2022). O Brasil possui condições consideradas muito boas que contribuem para o cultivo do milho em diversas regiões e, o principal, o ano todo. Porém, a produção enfrenta problemas fitossanitários que podem prejudicar o rendimento da cultura, como por exemplo: pragas, patógenos e plantas daninhas.

Dentre as pragas (e doenças transmitidas) destacam-se o enfezamento vermelho e o pálido (fitoplasma e *Spiroplasma kunkelii*) que são transmitidos pela cigarrinha-do-milho (*D. maidis*), lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda* (JE Smith)), lagarta-da-espiga (*Helicoverpa armigera* (Hübner)), broca-do-colo (*Elasmopalpus lignosellus* (Zeller)), larva-alfinete (*Diabrotica speciosa* (Germar)), pervevejo-barriga-verde (*Diceraeus melacanthus* (Dallas)), pulgão-do-milho (*Rhopalosiphum maidis* (Fitch)). Dentre os fungos, destacam-se: cercosporiose (*Cercospora zae-maydis* (Tehon & E. Y. Danils)), helmintosporiose (*Exserohilum turcicum* (Leonard & Suggs)), mancha-branca (*Pantoea ananatis* (Serrano Mergaert et al.)), ferrugem polissora (*Puccinia polysora* (Underw)), ferrugem comum (*Puccinia sorghi* (Schwein)), ferrugem branca ou tropical (*Physopella zae* (Cummins & Ramachar)), antracnose (*Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W.Wils.). E dentre as plantas daninhas destacam-se: capim-arroz (*Echinochloa crusgalli* [L.]), capim-colchão (*Digitaria horizontalis* Willd), capim-rabo-de-raposa (*Setaria faberi* R.A.W.Herrm.), dormideira (*Mimosa invisa* (Mart)), corda-de-viola (*Ipomoea* spp.), trapoeraba (*Commelina* spp.), entre outros (KARAM; MELHORANÇA; OLIVEIRA, 2006; WORDELL FILHO et al., 2016).

Estudos mostram os potenciais de perdas relacionadas às pragas (roedores, pássaros, aracnídeos e insetos), patógenos (vírus, bactéria e fungo) e plantas daninhas, de aproximadamente, 15,9%, 9,4% e 40,3%, respectivamente (OERKE, 2006). Levantamentos realizados por Deutsch et al. (2018) comprovaram que as perdas causadas por insetos-praga, em produções de milho, estão diretamente relacionadas com o aumento de temperatura, concluindo que a cada 2°C a mais, os danos elevam em 31%. O bem-estar das plantas é essencial para um bom desenvolvimento da cultura, pois uma diminuição de área foliar, mesmo que pequena, pode gerar prejuízos na produção de fotoassimilados e, consequentemente, na produção dos grãos (ALVIM et al., 2011).

3.2. Cigarrinha-do-milho

A cigarrinha-do-milho, *D. maidis* (Hemiptera: *Cicadellidae*), é um inseto sugador que possui aparelho bucal labial, em forma de um rostró, constituído pelo lábio articulado onde se alojam as demais peças bucais sugadoras (RINALDI, 2021). Tem sido considerada uma das principais pragas da cultura do milho (SILVA et al., 2021), pois causa danos diretos à cultura durante todo o seu desenvolvimento e sendo o inseto vetor do complexo de enfezamentos (WORDELL FILHO et al., 2016).

Tem sua distribuição geográfica limitada ao continente americano, sendo relatada em países da América do Norte, América Central e América do Sul. O México é considerado o país de origem de *D. maidis*, pela sua maior ocorrência em milho (NAULT; DELONG, 1980; NAULT, 1983; TRIPLEHORN; NAULT, 1985; SANTANA et al., 2019). A espécie *D. maidis* completa o seu ciclo de vida somente na cultura do milho, porém, pode utilizar outras espécies de plantas como abrigo e alimento, quando não há disponibilidade de plantas de milho no campo (PRADO RIBEIRO; CANALE, 2021).

Levantamentos efetuados no Brasil mostram que *D. maidis* foi encontrada em quase todo o território brasileiro, com exceção da região Norte, onde ainda não há registros (OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013; OLIVEIRA et al., 2007a, 2013; SANTANA et al., 2019). Ao se estabelecer nas lavouras de milho safra, em que as temperaturas são mais elevadas, a população de *D. maidis* é maior do que em outras épocas do ano, sendo que, as menores populações são observadas no inverno (LARSEN; NAULT; MOYA-RAYGOZA, 1992; WAQUIL, 1997). Entretanto, mesmo no inverno, com baixas temperaturas e tempo seco, é possível encontrar a cigarrinha-do-milho no campo. Isso ocorre devido à migração deste inseto para locais onde é realizado o cultivo de segunda safra, cultivo irrigado e com plantas de milho remanescentes de colheitas anteriores (OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013).

Dalbulus maidis, ao atingir a maturidade sexual, realiza postura de 400 a 600 ovos, do tipo endofítica, nas plantas hospedeiras (HEADY; MADDEN; NAULT, 1985; HEADY; NAULT, 1984). Após a postura, o desenvolvimento embrionário transcorre por aproximadamente 12 dias, dependendo da temperatura. Em seguida, ocorre a eclosão da ninfa que passa por cinco instares, com duração média de três dias cada, até se tornarem adultos, completando o ciclo biológico em 25 a 30 dias. Os adultos têm tamanho aproximado de 3,7 a 4,3 mm, sendo os machos menores que as fêmeas; apresentam coloração amarela pálida, podendo ter tons mais escuros, em regiões de maior altitude, e tons mais claros com manchas

em locais de baixa altitude (TRIPLEHORN; NAULT, 1985; OLIVEIRA, 1996); apresentam dois pontos negros na parte anterior da cabeça, que muitas vezes são confundidos com os olhos compostos; e apresentam antenas setáceas (NAULT; DELONG, 1980; OLIVEIRA et al., 2004; TRIPLEHORN; NAULT, 1985; ZURITA V.; ANJOS; WAQUIL, 2006).

Sua longevidade pode chegar a 79 dias em temperaturas de $26,5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $47,5 \pm 7,5\%$, com 12 h de fotoperíodo (DAVIS, 1966; WAQUIL et al., 1999; VAN NIEUWENHOVE; FRÍAS; VIRLA, 2016), sendo que, as condições climáticas podem influenciar a sua capacidade de transmissão de patógenos pois, uma vez infectada, a cigarrinha-do-milho pode transmitir os mollicutes por todo seu ciclo de vida. As temperaturas noturnas acima de 17°C e diurnas acima de 27°C favorecem uma multiplicação mais rápida dos mollicutes, tanto nas cigarrinhas-do-milho quanto nas plantas hospedeiras (COTA et al., 2018).

Os danos diretos dessa cigarrinha-do-milho causados pela sucção de seiva dos vasos do floema das plantas geralmente são de importância secundária; a maior importância dessa praga se deve principalmente à transmissão de fitoplasma, de espiroplasma e do vírus da risca do milho (NAULT, 1980; MARAMOROSCH; RAYCHAUDHURI, 1988). *Dalbulus maidis*, ao se alimentar da seiva de uma planta de milho doente, adquire os patógenos, que então se multiplicam nos seus tecidos, infectando as glândulas salivares; o período latente dura em média de 3 a 4 semanas, sendo o período que os patógenos levam para se multiplicar. Essas cigarrinhas-do-milho portadoras de mollicutes tornam-se então transmissoras e, quando se alimentam de plântulas de milho saudáveis, transmitem esses patógenos para o floema dessas plantas.

3.3. Enfezamentos do milho

Conhecidos como complexo de enfezamentos, são reportados os enfezamentos pálido e vermelho do milho, que são causados por patógenos da classe dos mollicutes e a transmissão é feita pela cigarrinha-do-milho (*D. maidis*) (OLIVEIRA et al., 2002). Quando a transmissão e a infecção ocorrem nos primeiros estádios fenológicos do milho, a planta fica pequena, com seu crescimento comprometido, por isso o nome de “enfezamento” (COTA et al., 2018).

Na década de 1970, quando surgiu o complexo de enfezamentos no Brasil, os enfezamentos não foram considerados de grande importância, sendo descritos como secundários, já que seus efeitos e prejuízos não eram tão expressivos (COSTA et al., 1971). Porém, com o passar dos anos, os enfezamentos foram se destacando entre as doenças mais preocupantes do milho, com perdas severas em diversas regiões do Brasil e, em alguns lugares,

chegando a 100%, dependendo da época de infecção e suscetibilidade do cultivar (SILVA et al., 2003). Esse aumento tem sido justificado pela longa permanência da cultura em campo (milhos safra e safrinha), que favorece a multiplicação do inseto vetor e, conseqüentemente, a disseminação dos patógenos, acarretando perdas associadas aos enfezamentos (SABATO, 2017).

Com o aumento da importância do complexo de enfezamentos em campo, houve a necessidade de se entender melhor as relações de entre os insetos vetores, os patógenos e as plantas hospedeiras, tendo sido realizadas diversas pesquisas sobre o tema nos últimos anos. Quando a infecção ocorre nos primeiros estádios fenológicos da planta, os sintomas são mais severos, os sintomas evoluem e se manifestam na fase de produção (COSTA et al., 1971; SABATO et al., 2015).

O complexo de enfezamentos afeta principalmente o sistema fotossintético das plantas, reduzindo a síntese e competindo por fotoassimilados (OLIVEIRA et al., 2004). Estão associados aos sintomas de virescência, com efeito sobre o desenvolvimento de cloroplastos em órgãos aclorofilados, como as flores, e de filoidia, que consiste na transformação de órgãos florais em estruturas foliares. Além disso, causam inúmeras alterações hormonais, como por exemplo, impossibilitando as estruturas reprodutivas de cumprirem seu papel (MICHEREFF, 2001).

Somando todos esses fatores há, conseqüentemente, redução na assimilação de nutrientes e no desenvolvimento das plantas, com diminuição do seu tamanho, encurtamento de entrenós e redução das espigas, associados a um aumento na porcentagem de grãos malformados, inviabilizando a produção (KIMATI et al., 1997). Há relatos de outras espécies de gramíneas que demonstraram potencial de serem infectadas pelo fitoplasma como a braquiária (*Brachiaria decumbens* (Stapf) RD Webster), o capim marmelada (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.) e o capim colônia (*Panicum maximum* Jacq.). Entretanto, é desconhecida a capacidade destas espécies de plantas de propagar a infecção desses patógenos para a cultura do milho (HAAS, 2010). Outros estudos mostram que a espécie *Exitianus obscurinervis* (Stal), uma cigarrinha da família Cicadellidae, foi considerada como vetor experimental do espiroplasma (CARLONI et al., 2011). Porém, a importância epidemiológica dessa espécie de cigarrinhas na disseminação dos mollicutes na cultura do milho ainda é pouco conhecida (OLIVEIRA et al., 2017).

3.4. Os molicutes

Molicutes são bactérias que apresentam uma membrana em vez de uma parede celular, o que causa o pleomorfismo celular, que é característico desse grupo, e são capazes de colonizar as células vegetais. Os mais conhecidos no Brasil são: *Spiroplasma* e *Phytoplasma*, que ocorrem somente em células do floema de plantas de milho doentes e são transmitidos pela cigarrinha-do-milho *D. maidis*, que ao se alimentar de plantas doentes, adquire os molicutes e os transmite para as plantas saudáveis, causando prejuízos fisiológicos e produtivos (COSTA et al. 2021).

A transmissão dos molicutes ocorre por insetos da ordem Hemiptera, nos quais as bactérias são capazes de se multiplicar (OSHIMA et al., 2013). São responsáveis por infectar mais de 700 espécies de plantas, sendo algumas delas de grande importância econômica, como é o caso do milho. Para a cultura do milho, Maize bushy stunt phytoplasma (MBSP), causador do enfezamento vermelho, e *Spiroplasma kunkelii* Whitcomb, causador do enfezamento pálido, são os que compõem o complexo de enfezamentos (WEINTRAUB; BEANLAND, 2006; OSHIMA et al., 2013).

O período latente é o tempo entre a aquisição dos patógenos e a sua transmissão pela cigarrinha, que pode variar entre três e quatro semanas. A suscetibilidade do cultivar é que irá determinar a incidência e a severidade dessas doenças, associada a outros fatores, como a época de semeadura (semeaduras tardias favorecem a doença), temperatura e umidade, e o tamanho da população do inseto vetor. A incidência de altas densidades populacionais de cigarrinhas, em condições de temperaturas e umidades elevadas, coincidindo com as fases iniciais de desenvolvimento do milho, favorece o desenvolvimento da doença em alta severidade (COSTA et al. 2021).

Fatores como a suscetibilidade do híbrido e a fase fenológica do milho interferem na incidência dos molicutes (OLIVEIRA; PAIVA, 2004). A transmissão pela cigarrinha é do tipo persistente propagativa, ou seja, quando o inseto vetor se alimenta do floema de plantas infectadas, ingere o patógeno que acaba se multiplicando no organismo do mesmo, principalmente nas glândulas salivares e, quando o inseto vetor se alimenta de plantas saudáveis, acaba infectando-as (FAJARDO; NICKEL, 2019). Os molicutes que causam os enfezamentos são considerados doenças sistêmicas e podem ser altamente prejudiciais ao milho, sendo uma grande preocupação o fato de que os sintomas podem ser facilmente confundidos com os de deficiência nutricional e outros tipos de estresses, dificultando sua identificação (EMBRAPA, 2018).

3.5. Enfezamento vermelho

O enfezamento vermelho do milho foi relatado pela primeira vez no México na década de 1950 (GORDON et al., 1981). No Brasil, a doença foi vista pela primeira vez na década de 1970, porém, foi considerada uma doença de importância secundária devido à baixa incidência dos sintomas (COSTA et al., 1971). Com o passar do tempo e o aumento do período da cultura no campo, associado ao incremento das áreas de plantio com a segunda safra (safrinha) de milho, houve um aumento na importância do enfezamento, em consequência do aumento da infestação do inseto vetor e aumento na frequência de plantas infectadas (LEE et al., 2000; MASSOLA JÚNIOR, 2001; MONTANO et al., 2007; KUMARI, et al., 2019).

O enfezamento vermelho é causado por um fitoplasma denominada Maize Bushy Stunt Phytoplasma (MBSP), que pertence ao grupo dos procariotos do Domínio Bacteria (Reino Monera), Filo Tenericutes, Classe Mollicutes, Ordem Acholeplasmatales, Família Acholeplasmataceae e Gênero ‘Candidatus Phytoplasma’ (FIRRAO et al., 2004; BEDENDO, 2018). Esse fitoplasma tem genoma reduzido (680 - 1.600 kb), sem parede celular, sendo a célula envolvida somente pela membrana plasmática (BEDENDO, 2018); possui grânulos densos e filamentos de DNA. Pode ser visualizado como corpúsculos circulares (variando de 60 a 1.100 nm) e/ou filamentos ramificados (que podem passar de 1 µm) (MICHEREFF, 2001). O desenvolvimento do microrganismo está restrito ao floema e à hemolinfa de insetos, e sua reprodução ocorre principalmente por fissão binária e gemulação. A célula possui característica pleomórfica e pode ser visualizada no floema de plantas infectadas com diferentes formas. As células de fitoplasmas são diminutas (200 a 800 nm) quando comparadas às células de outras fitobactérias (BERTACCINI; DUDUK, 2009).

É considerado parasita obrigatório e as plantas infectadas pelo fitoplasma começam a expressar os primeiros sintomas em torno de 20 dias (OLIVEIRA et al., 2002). A sintomatologia associada aos fitoplasmas é complexa, representada, geralmente, por um conjunto de distintos sintomas. As folhas mais velhas se tornam avermelhadas e, posteriormente, toda a planta se torna extensivamente avermelhada. Sintomas típicos são caracterizados por clorose, superbrotamento de ramos, avermelhamento foliar, escurecimento dos vasos do floema e enfezamento ou nanismo das plantas. Inicialmente, os sintomas se manifestam por clorose, seguida por avermelhamento dessas áreas cloróticas (DAVIS, 1995). O avermelhamento pode evoluir para o restante do limbo foliar, com a idade da folha. Em alguns casos, os bordos foliares podem se apresentar rasgados e as folhas torcidas, com tamanho

reduzido. Os colmos se mostram mais finos e os entrenós apresentam encurtamento, inclusive interferindo com o tamanho do pendão floral. Numerosas espigas podem se formar em cada planta, porém, essas espigas são de tamanho reduzido e praticamente não produzem grãos. Embora não seja comum, vários perfilhos podem aparecer nas axilas das folhas e, principalmente, na base das plantas (OLIVEIRA; PAIVA, 2004). As anormalidades relatadas no crescimento e desenvolvimento sugerem a ocorrência de intenso desbalanço hormonal. Contudo, o sintoma de filodia, desenvolvimento de folhas em órgãos florais, e de virescência, presença de cor verde em órgãos não clorofilados, estão quase que exclusivamente associados a este tipo de patógeno (BEDENDO, 2018). Os sintomas exibidos por plantas infectadas pelo fitoplasma são variáveis de acordo com o híbrido ou variedade de milho (BEDENDO, 1995).

O diagnóstico desse patógeno é fundamentado principalmente na observação dos sintomas e na presença do patógeno no tecido do hospedeiro. A detecção do patógeno pode ser realizada de forma direta, pela observação de cortes ultrafinos de tecidos vegetais em microscópio eletrônico de transmissão, para visualização de corpúsculos pleomórficos no interior dos vasos do floema (BEDENDO, 2018). Indiretamente, a detecção pode ser realizada pela extração de DNA da planta e aplicação da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) conduzida com ‘primers’ específicos para a região 16S rRNA do fitoplasma; ou pelo fragmento genômico amplificado, que pode ser sequenciado para fins de identificação e classificação, usando-se, para tanto, análise filogenética e análise virtual de RFPL (Restriction Fragment Length Polymorfism) (DAVIS, 1995; LEE et al., 2000).

3.6. Enfezamento pálido

O enfezamento pálido do milho foi observado pela primeira vez na década de 1940, no Texas, EUA (OLIVEIRA et al., 2003) e espalhou-se naturalmente por todo o continente americano, havendo relatos de ocorrência de epidemias no início da década de 1970 no estado do Mississippi, EUA (CHOUDHURY et al., 1973). No início da década de 1970 também foram reportados danos consideráveis em plantios tardios da região da Costa do Pacífico, na Nicarágua (MÁRQUEZ SÁNCHEZ, 1982). No Brasil, o espiroplasma (*S. kunkelii*) tem sido encontrado praticamente o ano inteiro, em várias regiões do país (KITAJIMA; COSTA, 1972; CHEN; LIAO, 1975; WHITCOMB et al., 1986; GUSSIE; FLETCHER; CLAYPOOL, 1995).

Os espiroplasmas são bactérias com formato helicoidal que não possuem parede celular (WHITCOMB et al., 1986; RAZIN; YOGEV; NAOT, 1998), colonizam os vasos do floema e tecidos de alguns insetos de diferentes ordens, como Hemiptera, Diptera, Coleoptera e

Hymenoptera (CLARK, 1982). O enfezamento pálido é causado por *S. kunkelii*, que pertence ao grupo dos espiroplasmas. Estudos mostram que seu genoma reduzido (0,5 a 2,0 Mpb) é resultado da evolução redutiva de bactérias Gram-positivas que perderam parte do seu material genético. Diante disso, algumas vias metabólicas foram comprometidas, necessitando de um hospedeiro para o fornecimento de nutrientes para a sua sobrevivência (MOUCHES et al., 1983; CLARK et al., 1985; WOESE, 1987; WILLIAMSON et al., 1998; OSHIMA et al., 2004; REGASSA; GASPARICH, 2006; CARLE et al., 2009). Outros estudos mostram que estes microrganismos podem trocar informações genéticas por transferência horizontal com outros indivíduos, contribuindo também para a sua adaptabilidade (CITTI et al., 2018; TSAI; CHANG; KUO, 2018). Um estudo realizado por Chang (1998), utilizando *Spiroplasma citri* Saglio et al., mostrou que este fitopatógeno alterou as concentrações de auxina e citocianina presentes em plantas infectadas, comprometendo o desenvolvimento do vegetal, uma vez que esses hormônios são fundamentais para vários processos metabólicos. Gaurivaud et al. (2000) concluíram que os carboidratos, presentes no floema, são fontes nutricionais para *S. citri*, sendo que não ocorrem sintomas diagnósticos da doença na ausência desses açúcares.

Estudos mostram que a aquisição do patógeno pela cigarrinha *D. maidis* pode acontecer logo na primeira hora (0,25 h) de alimentação no tecido vegetal infectado, porém, observam-se maiores eficiências de transmissão em períodos mais longos de aquisição (ALIVIZATOS; MARKHAM, 1986). Ao entrar no corpo do inseto, o espiroplasma circula e se multiplica em alguns órgãos e tecidos do intestino médio, túbulos de Malpighi, tecidos musculares, glândulas salivares, tecido adiposo, traqueia e órgãos reprodutivos, onde pode permanecer até a morte do inseto (ÖZBEK et al., 2003; AMMAR; HOGENHOUT, 2005). Quando há o estabelecimento de colônias nas glândulas salivares, que leva em torno de 20 dias, o espiroplasma, junto com a saliva, é transferido para novas plantas, quando o inseto se alimenta do floema (ALIVIZATOS; MARKHAM, 1986; NAULT, 1997; BOVÉ et al., 2003).

O patógeno *S. kunkelii* ao colonizar os vasos floemáticos das plantas, ocasiona a doença conhecida como enfezamento pálido (“corn stunt” - CS). A sintomatologia é dada pela formação de estrias esbranquiçadas irregulares, nas folhas, provocando sintomas de manchas cloróticas iniciadas na base que se estendem por todo o limbo foliar, com encurtamento dos entrenós, proliferação e malformação das espigas (CHEN; LIAO, 1975; NAULT, 1980; HRUSKA; PERALTA, 1997). Como no caso do enfezamento vermelho, há o encurtamento dos internódios, proliferação de espigas e diminuição no enchimento de grãos, característicos de alterações hormonais. Quando a inoculação ocorre em plantas nos primeiros estádios fenológicos, as manifestações da doença são mais severas (HRUSKA; PERALTA, 1997).

Enfim, as plantas doentes ficam enfraquecidas e secam rapidamente, de maneira precoce e atípica, podendo causar reduções em graus variáveis na produção de grãos de milho, podendo chegar a 100%, causando grandes prejuízos ao produtor (OLIVEIRA et al., 1998).

3.7. Vírus da risca

Maize rayado fino virus (MRFV) é conhecido como o vírus da risca e possui partículas virais de forma isométrica ou poliédrica, com 31 nm de diâmetro, genoma formado por RNA, e suas partículas são restritas ao floema das plantas infectadas. São pertencentes ao gênero Marafivirus, da família Tymoviridae (KITAJIMA, 1979; GÁMEZ, 1980, 2015). *Dalbulus maidis* adquire o vírus ao se alimentar de plantas infectadas, após um período latente, que varia de 10 a 20 dias, se torna virulífero, e passa a transmiti-lo para plantas saudas. As cigarrinhas quando adultas têm grande capacidade migratória, por isso a transmissão de uma lavoura de milho com plantas infectadas pelo vírus para lavouras com plantas saudas é alta. Gramíneas de outras espécies, como *Rottboellia exaltata* (L.) Lf (capim-camalote) e as dos gêneros *Zea* e *Tripsacum*, podem ser hospedeiras desse vírus, apesar de serem raras no Brasil (OLIVEIRA et al, 2003).

Os sintomas são bem característicos, começando com pequenos pontos cloróticos na base e ao longo das nervuras das folhas jovens que, quando se fundem, formam aspecto de riscas curtas; além de as plantas infectadas poderem apresentar também espigas e grãos de tamanho menores que o normal. Os sintomas do vírus da risca podem ser visualizados ao se observar as folhas infectadas contra a luz (OLIVEIRA et al, 2003). Esses sintomas são mais evidentes em folhas de plantas de milho nos estádios iniciais de desenvolvimento, porém, também podem ser observados nas folhas das plantas adultas (GÁMEZ, 1980; SABATO et al., 2013). A incidência e a severidade dessa virose são normalmente influenciadas pelo grau de suscetibilidade do cultivar, pela densidade populacional das cigarrinhas, período de infecção (nas fases iniciais de desenvolvimento do milho ou posteriores) e pelas condições climáticas. Somando todos esses fatores, essa virose pode causar reduções na produção em até 30% (OLIVEIRA et al, 2003).

3.8. Métodos de controle

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) é a base para um bom controle de pragas e deve considerar os vários fatores que participam das tomadas de decisão: a praga, o cultivo e as condições ambientais (OLIVEIRA et al., 2007). Para *D. maidis* por se tratar de um vetor, os danos causados pelo inseto sugador não apresentam tanta relevância como as causadas pela transmissão dos patógenos, sendo necessária a adoção de medidas preventivas para o controle da praga (OLIVEIRA et al., 2007).

Medidas de controle isoladas para o complexo de enfezamentos não são capazes de reduzir as perdas de produção. Porém, o uso de medidas preventivas, em conjunto com outras abordagens de controle pós-plantio, é indicado visando à diminuição da doença no campo (WAQUIL, 2004).

As principais medidas para o controle das cigarrinhas incluem: sincronização da semeadura, evitando-se realizar o plantio sequencial, para reduzir a incidência de plantas de milho em diferentes estágios no campo; não semear próximo a plantios muito afetados por enfezamentos; eliminar os milhos tiguerras, que geralmente são fonte de inóculo para as safras seguintes; realizar o tratamento de sementes com inseticidas sistêmicos e rotacionar cultivares de milho. Essas medidas fazem parte do manejo integrado de pragas, responsável pela redução de prejuízos causados pela praga e patógenos associados. Além dessas estratégias, o monitoramento do inseto-vetor é fundamental, desde a germinação até o estágio final da cultura (ALVES; FORESTI, 2017).

Visando o sucesso do controle dessa praga, unir algumas das principais ferramentas de manejo é necessário para contribuir para a redução dos danos provocados na cultura do milho. O uso de cultivares resistentes, tratamentos culturais, controle biológico e químico são medidas que se forem conduzidas corretamente podem auxiliar no manejo integrado da cigarrinha *D. maidis*.

Estudos realizados por Oliveira et al. (2002) indicam que a manifestação dos sintomas de *S. kunkelii* é diferente entre os cultivares. Com isso, o melhoramento genético do milho pode representar uma importante ferramenta para o manejo dos enfezamentos transmitidos por *D. maidis*. Estudos envolvendo a genética da resistência aos enfezamentos do milho indicam que as combinações híbrida e recíproca entre os genitores resistentes (C 333B; P 3041) apresentaram baixa incidência dos sintomas de enfezamentos. Entretanto, as combinações híbridas entre os resistentes x suscetíveis apresentaram incidência intermediária, o que indica

que a resistência aos enfezamentos é controlada por mais de um gene, com possível ausência de dominância (SILVA et al., 2003).

Além do controle genético, o trato cultural é muito importante, uma vez que as plantas servem de abrigo aos insetos provenientes de lavouras recém-colhidas, sendo também de relevância, o monitoramento do inseto-vetor nas plantas voluntárias e o manejo dessas plantas (OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013).

O controle químico é uma ferramenta frequentemente utilizada no manejo de pragas. O uso de medidas de controle populacional de *D. maidis* contribui para a redução na incidência das doenças transmitidas pelas cigarrinhas. O uso de inseticidas sistêmicos está associado a reduções nas taxas de aquisição e inoculação destes patógenos pelos insetos vetores nas plantas de milho (BHIRUD; PITRE, 1972).

Segundo dados do Ministério da Agricultura (Agrofit), há 80 produtos químicos registrados para o controle de *D. maidis*, sendo a maioria pertencente aos grupos químicos dos neonicotinoides, piretroides, organosfosforados e carbamatos (MAPA, 2024). Apesar de existirem algumas pesquisas sobre manejo da cigarrinha-do-milho, ainda faltam muitas informações sobre a praga e a influência do controle químico nesse patossistema envolvendo o complexo de enfezamentos, o inseto-vetor (*D. maidis*) e as plantas de milho. Uma das estratégias de controle mais utilizadas para *D. maidis* é o uso de inseticidas neonicotinoides, os quais geralmente são aplicados às sementes de milho, podendo ter eficácias superiores a 50% sobre as cigarrinhas-do-milho (OLIVEIRA et al., 2007b).

O controle biológico vem ganhando espaço no manejo de *D. maidis*, utilizando-se inimigos naturais que atacam diferentes estágios de vida do inseto. Vários parasitoides atacam os ovos, podendo-se mencionar: *Ufens niger* (Ashmead) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Anagrus nigriventris* Giraut (Hymenoptera: Mymaridae), *Anagrus breviphragma* Soyka (Hymenoptera: Mymaridae), *Anagrus flaveolus* Waterhouse (Hymenoptera: Mymaridae), *Polynema orientale* Girault (Hymenoptera: Mymaridae); *Polynema* sp. near *Polynema reticulatum* (Ogloblin) (Hymenoptera: Mymaridae); *Aphelinoidea semifuscipennis* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae); *Oligosita clarimaculosa* (Girault) (Hymenoptera: Trichogrammatidae); *Oligosita girault* Crawford (Hymenoptera: Trichogrammatidae); *Oligosita desantisi* (Viggiani) (Hymenoptera: Trichogrammatidae); *Paracentrobia tapajosae* (Viggiani) (Hymenoptera: Trichogrammatidae); *Pseudoligosita longifrangata* (Viggiani) (Hymenoptera: Trichogrammatidae); *Zagella nanula* De Santis (Hymenoptera: Trichogrammatidae); *Encarsia dalbulae* Polaszek & Luft Albarracim (Hymenoptera:

Aphelinidae) (TRIAPITSYN, 1997; MOYA-RAYGOZA; TORRESMORENO; TRIAPITSYN, 2017).

Os parasitoides de adultos e ninfas de *D. maidis* mais conhecidos são: *Gonatopus bartletti* Olmi (Hymenoptera: Dryinidae); *Gonatopus moyaraygozai* Olmi (Hymenoptera: Dryinidae); *Gonatopus caraibicus* (Olmi) (Hymenoptera: Dryinidae); *Anteon pilicorne* (Ogloblin) (Hymenoptera: Dryinidae) (MOYA-RAYGOZA; TRUJILLO-ARRIAGA, 1993; VIRLA; OLMÍ, 2007; VIRLA; ESPINOSA; MOYA-RAYGOZA, 2011).

Além dos parasitoides, a utilização de fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. tem sido uma alternativa amplamente utilizada para o controle da cigarrinha-do-milho. Esses fungos utilizam insetos como hospedeiros para germinação e produção de conídios (estruturas de dispersão do fungo) (NOGUEIRA et al., 2021). Porém, fatores externos como temperatura, luminosidade, umidade e radiação solar, influenciam na eficiência dos fungos e na suscetibilidade do hospedeiro, assim como, na viabilidade e virulência dos propágulos do patógeno (SILVA, 2019).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no laboratório e em casa-de-vegetação da empresa Corteva Agriscience localizada em Mogi Mirim, SP. As cigarrinhas-do-milho para esse estudo foram coletadas nas coordenadas 22°26'59.8"S 47°04'30.3"W.

4.1. Criação de *Dalbulus maidis*

A criação de cigarrinha-do-milho foi realizada em casa-de-vegetação climatizada a $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ aos cuidados da equipe do Insetário da empresa Corteva. Os insetos foram acondicionados em cinco gaiolas, com tecido antiafídico, de 95 cm x 46 cm (Figura 1), oferecendo-se plantas de milho da variedade P30F53 VYHR, no estágio fenológico v6, cultivadas em vasos de 3,2 L. Em cada vaso foram semeadas três sementes e em cada gaiola foram acondicionados quatro vasos; o solo utilizado foi composto de 50% de terra e 50% de substrato (sendo o substrato da marca Vida Verde).

Para este estudo, foram separadas duas populações *D. maidis* em duas casas-de-vegetação: em uma delas foi mantida a população da cigarrinha-do-milho infectada com molicutes e na outra foi mantida a população não infectada com molicutes.



Figura 1. Gaiola para criação de cigarrinha-do-milho.

4.2. Criação de *Dalbulus maidis* infectada

A formação de uma população da cigarrinha-do-milho infectada se iniciou com a coleta de plantas de milho de um campo com sintomas de enfezamento para servir de fonte de inóculo, e as plantas coletadas foram replantadas em vasos de 5 litros. Após a confirmação da infecção dessas cigarrinhas por meio de testes de PCR, Dneasy Plant Mini Kit (Qiagen, USA), descrito no item 4.6, a população foi utilizada para a transmissão dos mollicutes para novas plantas de milho ainda não infectadas.

Para manter um banco constante de plantas infectadas, eram realizados plantios semanais de 25 vasos com três plantas e essas quando atingiam o estágio fenológico V2 eram colocadas em gaiolas antiafídicas de tamanho 44 x 16 cm (Figura 2). Em cada gaiola, 20 adultos infectados da cigarrinha-do-milho foram liberados por sete dias e, após esse período, as plantas eram retiradas das gaiolas, e sobre as plantas era pulverizado o inseticida metomil (Lannate[®]), na dose de campo indicada na bula do produto para cigarrinha-do-milho, visando o controle dos possíveis insetos remanescentes. Este procedimento foi repetido semanalmente, ao longo de todo o experimento para o estabelecimento de um banco de plantas infectadas e continuidade da criação das cigarrinhas-do-milho infectadas.

As plantas infectadas em v2, quando atingiam o estágio fenológico v6 e apresentavam os primeiros sintomas de enfezamento, seguindo o período de latência de três a quatro semanas descrito por Costa et al. (2021), eram ofertadas para a nova geração de cigarrinhas-do-milho. Essa nova geração de ovos e ninfas era proveniente de plantas infectadas com sintomas avançados de enfezamento, porém, essas plantas não aguentavam tempo suficiente para a continuidade desse ciclo. Portanto, era necessário a troca por novas plantas infectadas em v6.



Figura 2. Gaiolas usadas para a contaminação de plantas.

4.3. Criação de *Dalbulus maidis* não infectada

Para a população não infectada, as plantas de milho do híbrido P30F53VHR foram cultivadas em vasos de 3,2 L com a mistura descrita no item 4.1 e ao chegarem ao estágio fenológico v6, as plantas foram fornecidas para as cigarrinhas-do-milho nas gaiolas. Cuidados (isolamento) foram tomados para que essas plantas de milho não fossem expostas a nenhuma cigarrinha-do-milho antes de serem levadas para a criação, para que não houvesse nenhum risco de infecção durante o período de estudo, levando também em consideração que esses patógenos não são transmitidos de geração para geração.

A seleção de indivíduos não infectados se iniciou com a coleta dos insetos em campo, com o auxílio de um puçá, e os indivíduos coletados foram colocados em gaiolas com plantas de milho saudáveis para oviposição pelos adultos de *D. maidis*. Após três dias de oviposição, essas plantas foram transferidas para uma nova gaiola, isolando-as de possíveis adultos infectados. Quando as ninfas começaram a eclodir, essas plantas de milho foram cortadas e colocadas no fundo de uma outra gaiola a qual continha novas plantas de milho saudáveis. Para confirmação de que os indivíduos não estavam infectados, semanalmente era realizada coleta de amostras para PCR, conforme descrito no item 4.6.

Em cada gaiola, foram mantidos quatro vasos com três plantas cada, utilizando-se 5 a 8 gaiolas e várias reposições de plantas (pelo menos uma vez por semana), durante todo o tempo do estudo. O hábito de sucção das plantas de milho pela cigarrinha-do-milho na fase de ninfas é maior em comparação à fase adulta, por isso, nessa fase, o número de vezes que as plantas foram trocadas na semana foi maior.

4.4. Metodologia dos bioensaios com inseticidas químicos

A presente pesquisa com as cigarrinhas-do-milho foi idealizada em 2022, porém, somente em 2023, foram geradas as primeiras curvas de concentração-mortalidade de inseticidas químicos, para diversas populações da cigarrinha-do-milho, para a definição de futuros estudos de monitoramento da suscetibilidade das populações de campo.

Até o momento, foi realizado o monitoramento com sete populações de diferentes regiões do Brasil para 15 produtos químicos. Para esta pesquisa foram escolhidos, dentre esses 15 produtos, quatro produtos que se destacaram, quanto à eficiência de controle para a cigarrinha-do-milho. A metodologia descrita nessa pesquisa, foi baseada no artigo publicado pelo IRAC-BR (MACHADO, 2024).

Os quatro inseticidas selecionados para a realização dos bioensaios foram: metomil (Lannate[®]), bifentrina + Carbossulfano (Talisman[®]), sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition[®]) e tiodicarbe (Larvin[®] 800WG) (Tabela 1).

Tabela 1: Lista de produtos químicos utilizados nos bioensaios com *Dalbulus maidis*, em condições de laboratório.

Produtos químicos			
Ingredientes ativos	Produto comercial	Concentração (ppm)	Grupos químicos
Metomil	Lannate [®]	CL ₅₀ - 5ppm CL ₉₅ – 30ppm Campo – 1430ppm	Metilcarbamato de oxima
Bifentrina; Carbossulfano	Talisman [®]	CL ₅₀ – 50 ppm CL ₉₅ – 100 ppm Campo – 930 ppm	Piretroide; Metilcarbamato de benzofuranila
Sulfoxaflor; Lambda-cialotrina	Expedition [®]	CL ₅₀ – 1800 ppm CL ₉₅ – 7200 ppm Campo – 500 ppm	Sulfoxaminas; Piretroide
Tiodicarbe	Larvin [®] 800WG	CL ₅₀ – 37,5 ppm CL ₉₅ – 75 ppm Campo – 2800 ppm	Metilcarbamato de oxima

Foram utilizadas três concentrações por produto e sete repetições (folhas de milho) infestadas com sete adultos da cigarrinha-do-milho. Foram avaliadas duas populações de *D. maidis*, sendo uma delas infectada com molicutes e a outra isenta de patógenos. Esse experimento foi repetido por três vezes ao longo do ano de 2024.

Em vasos de 1,5 L, foram cultivadas plantas de milho da variedade P30F53VYHR na mistura descrita no item 4.1 e quando elas chegaram ao estágio V4, as folhas foram cortadas e levadas ao laboratório.

Para a realização dos bioensaios, foram utilizados tubos de ensaio, com espuma fenólica no fundo, com aproximadamente 2,0 cm de espessura. As folhas de milho foram cortadas na forma retangular, deixando-se uma pequena extensão da nervura central (na parte basal) de cada folha, para possibilitar o encaixe das folhas na espuma (Figura 3). A espuma de cada tubo foi umedecida com 3 mL de água.

As diluições foram realizadas seguindo os protocolos estabelecidos (Corteva), através de ensaios anteriores e as doses foram estabelecidas pelo software Polo Plus (Probit and Logit Analysis) nas seguintes concentrações: concentração de campo, CL₅₀ e CL₉₅ (Figura 4). Adicionou-se o adjuvante Tween-20®, a 0,1% v/v, em todos os tratamentos, para melhorar a aderência do produto à folha. Após o preparo das diluições dos inseticidas, com o auxílio de uma pinça, foi feita a imersão das folhas na calda de 100 ml de água com inseticida por 10 segundos e, em seguida, deixando-as secar em bandejas com papel toalha em temperatura ambiente. Para cada experimento foram utilizadas 14 folhas por concentração de cada produto (Figura 5). As concentrações de campo foram equivalentes às concentrações recomendadas (registradas) de cada produto, para o controle da cigarrinha-do-milho no Brasil, utilizando o volume de calda de 150L por hectare (MAPA, 2024).

Esperou-se as folhas secarem completamente em temperatura ambiente e, com o auxílio de uma pinça, as folhas foram encaixadas nas espumas, dentro dos tubos de ensaio devidamente identificados (Figura 6).

O próximo passo foi a infestação dos tubos com as cigarrinhas-do-milho. Para a coleta dos insetos, foi utilizado um sugador constituído de uma mangueira de silicone de aproximadamente 45 cm, uma ponteira de 5 ml e um pedaço de tecido “voil” (Figura 7). Foram colocadas sete cigarrinhas por tubo de ensaio e o tubo foi fechado com *Parafilm “M”*®. Para haver troca de ar foram feitos pequenos furos no *Parafilm “M”*® com uma agulha, conforme Figura 8. As unidades experimentais foram mantidas em uma sala com fotoperíodo 12h de luz e temperatura de 26±2°C, durante todo o período de avaliação.

As avaliações foram realizadas 1 e 2 dias após a instalação dos experimentos em laboratório. A avaliação foi contagem de indivíduos mortos por cada tudo.



Figura 3. Folhas de milho cortadas para encaixar na espuma fenólica.

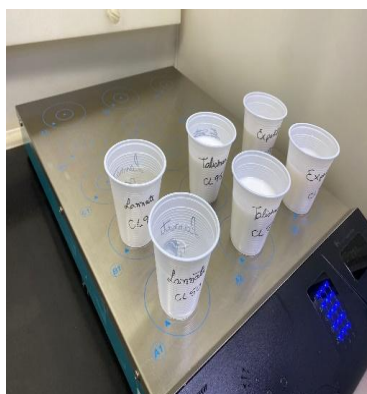


Figura 4. Diluições feitas conforme protocolos estabelecidos (Corteva).



Figura 5. Folha de milho sendo colocada para imersão por 10 segundos.



Figura 6. Procedimento para colocar a folha de milho na espuma fenólica.



Figura 7. Sugador feito para a coleta das cigarrinhas-do-milho.



Figura 8. Cigarrinhas-do-milho após a colocação nos tubos de ensaio.

4.5. Metodologia dos bioensaios com produtos biológicos

Para esses ensaios foram utilizados três produtos biológicos com as seguintes cepas: *Beauveria bassiana* isolado Simbi BB 15, *Isaria fumosorosea* CEPA 1296 e *Metarhizium anisopliae* IBCB425 (Tabela 2). Para cada população foram testados os três produtos biológicos e a testemunha, utilizando-se apenas a concentração de campo de cada produto.

Tabela 2. Lista de produtos biológicos utilizados nos bioensaios com *Dalbulus maidis*, em condições de laboratório.

Produtos Biológicos			
Ingrediente ativo (espécie de fungo entomopatogênico)	Produto comercial	CEPA	Dose (ppm)
<i>Beauveria bassiana</i>	Tezpetix™	Simbi BB 15	7 mg/L
<i>Isaria fumosorosea</i>	Octane®	CEPA 1296	26 mg/L
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Meta-Turbo SC®	IBCB425	44 mg/L

Plantas de milho da variedade 30F53R foram semeadas em vasos de 90 ml, contendo apenas substrato, e os bioensaios foram iniciados quando as plantas de milho chegaram ao estágio V1.

As diluições foram feitas de acordo com as concentrações de campo de cada produto, para um volume de calda de 150 L por hectare. A aplicação foi realizada com a imersão de toda planta em copos contendo 100 mL de suspensão por dez segundos, para cada um dos produtos biológicos (Figura 9). Utilizou-se o adjuvante Tween-20®, a 0,1% v/v, em todos os tratamentos, para melhorar a aderência do produto à folha. Para evitar o contato do substrato com a solução, foi utilizada uma proteção feita de papel toalha.

Após a imersão, as plantas foram deixadas para secar, em temperatura ambiente, e depois de secas, as plantas foram colocadas em um copo de 700 mL com a base recortada para o encaixe do vaso de 90 mL (Figura 10).

Com o auxílio do sugador foram colocadas sete cigarrinhas por copo, conforme descrito no item 4.5 e, em seguida, os copos foram tampados com tecido “voil” e elástico (Figura 11).

Após a infestação, as plantas de milho foram mantidas em uma sala com fotoperíodo de 12h de luz e uma temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ e permaneceram nessa sala até a finalização do estudo.

As contagens de insetos vivos e mortos foram realizadas aos 3, 7 e 10 dias após a aplicação.



Figura 9. Procedimento de aplicação por imersão de folhas em planta de milho.



Figura 10. Planta de milho após a aplicação (imersão de folhas), secagem e colocação no copo de 700ml.



Figura 11. Planta de milho após a aplicação (imersão de folhas), secagem, infestação com cigarrinhas e fechamento do copo com tecido “voil” e elástico.

4.6. Análise de PCR para detecção de mollicutes em *Dalbulus maidis*

Os testes de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foram realizados no laboratório de Biologia Molecular da empresa Corteva, em Mogi Mirim-SP, visando confirmar a infecção por mollicutes em 100% das cigarrinhas estudadas, e ausência de patógenos nas cigarrinhas não infectadas.

A extração de DNA das cigarrinhas foi realizada utilizando Dneasy Plant Mini Kit (Qiagen, USA), seguindo as recomendações do fabricante. Na reação de PCR, foi utilizado o reagente Go Taq[®] Green Master Mix (Promega, EUA), juntamente com dois controles positivos contendo DNA de espiroplasma e fitoplasma, e dois controles negativos contendo apenas água Milli-Q[®], sem espiroplasma e fitoplasma. As amostras foram submetidas a um termociclador programado para pré-desnaturação a 94°C por 30 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 15 segundos para desnaturação, 50°C por 15 segundos para o anelamento e 72°C por 15 segundos para alongamento, finalizando com uma extensão final a 72°C por 5 minutos.

Após a PCR, as amostras foram distribuídas em um gel de agarose a 2%, com Sybr[®] Safe (DNA Gel Stain) contendo solução tampão TBE (Tris; acetato; EDTA) 0,5X. Em seguida, foram submetidas à eletroforese com uma voltagem de 65 V por 60 minutos. Ao final do processo, foi possível analisar os fragmentos de DNA amplificados sob a luz UV.

Para a detecção de mollicutes, foram utilizados iniciadores (primers) para detecção simultânea do fitoplasma e do espiroplasma – CSSR6 (5' gttacttcaacagtagttgcg 3') /CSSF2 (5' ggcaaagatgtaacaaaagt 3') (BARROS et al., 2001) e R16R2 (5' tgacgggcggtgtgtacaaaccccg 3') /R16F2 (5' acgactgctgctaagactgg 3') (LEE et al., 1993), respectivamente. Amplificando uma

sequência de nucleotídeos pertencente ao gene 16S rDNA, no caso do fitoplasma, e ao gene da espiralina, no caso do espiroplasma, gerando fragmentos de aproximadamente 1200 pb (fitoplasma) e 500 pb (espiroplasma) (Figura 13), para as cigarrinhas-do-milho infectadas. Para as cigarrinhas não infectadas esses genes não foram expressos (Figura 12).

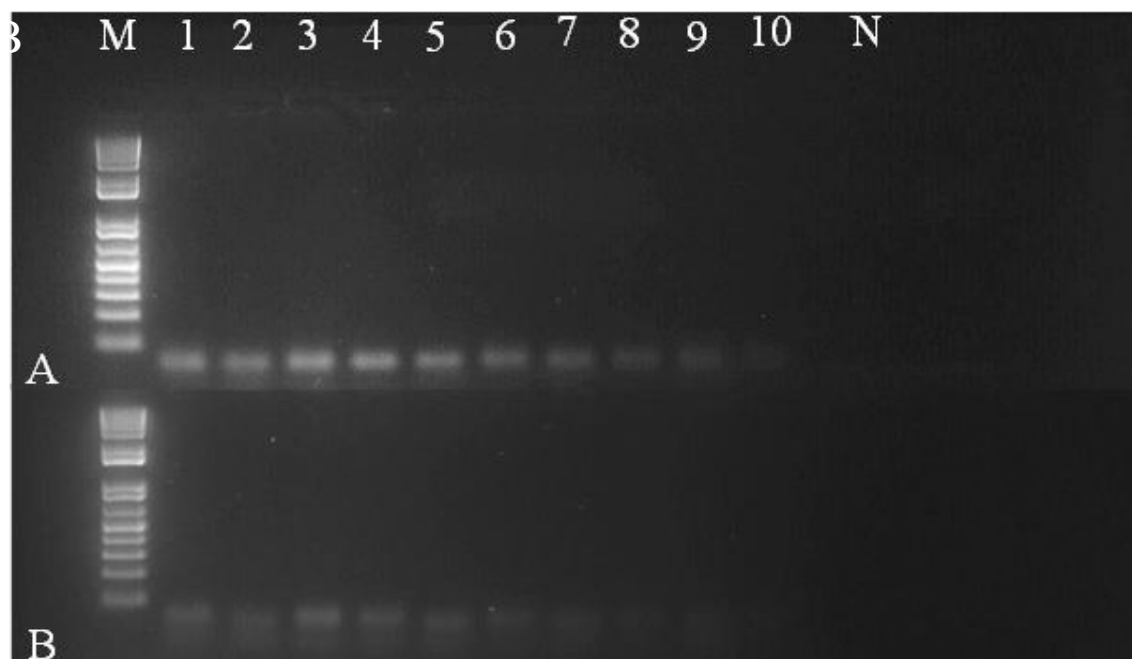


Figura 12. Gel de agarose para cigarrinhas *D. maidis* não infectadas. M: 1kb DNA ladder; Linhas 1-10 amostras de cigarrinhas; N: negativo.

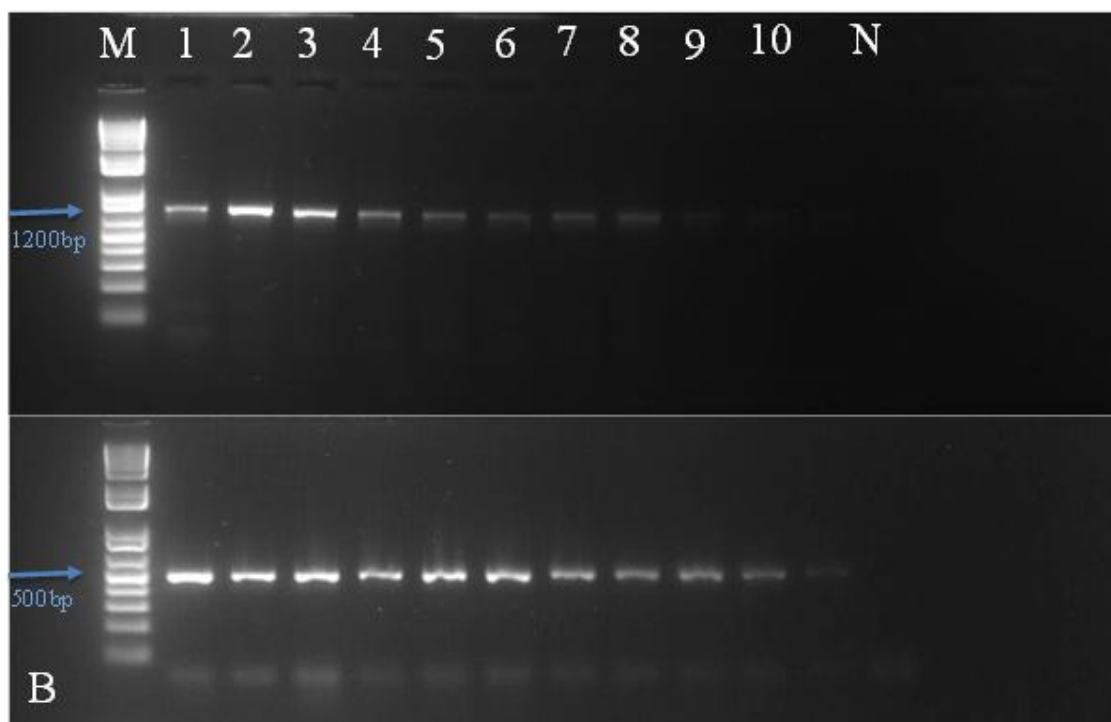


Figura 13. Gel de agarose para cigarrinhas *D. maidis* infectadas com fitoplasma (A) e espiroplasma (B). M: 1kb DNA ladder; Linhas 1-10 amostras de cigarrinhas; N: negativo.

4.7. Análises da taxa de alimentação da cigarrinhas-do-milho

Para esse estudo, cinco vasos de 1,5 L contendo como substrato a mistura descrita no item 4.1, foram semeados com três sementes de milho por vaso, e esperou-se as plantas chegarem ao estágio fenológico v4, para o início dos testes.

As duas populações de *D. maidis* (infectada com mollicutes e não infectada) foram testadas na mesma planta, utilizando-se gaiolas plásticas de 60 x 15 mm. Foram colocadas duas gaiolas (*clipcage*) com cores distintas (por população) em cada planta, para permitir a identificação das populações (infectada e não infectada). As gaiolas foram confeccionadas utilizando duas placas circulares de poliestireno transparente, sendo que em um dos lados a superfície foi revestida de poliestireno expandido (EPS) impedindo a passagem do inseto para a parte adaxial da folha, no lado abaxial onde a cigarrinha-do-milho foi colocada, foi deixada uma abertura coberta com tecido “voil” para melhorar a circulação do ar e evitar a fuga dos insetos. Sobre o tecido “voil” foi colocado um papel filtro cortado em formato circular com raio de 1,16 cm para reter as gotas de “honeydew” excretadas pelas cigarrinhas-do-milho ao se alimentarem da planta (Figura 14).

A avaliação da taxa de ingestão de seiva do floema pelas cigarrinhas-do-milho foi realizada de acordo com o descrito por Silveira (2019), utilizando-se a técnica de detecção de aminoácidos presentes nos excrementos com solução de ninidrina. Sendo assim, 24 horas após a infestação dos insetos, o papel filtro foi retirado da gaiola e deixado para secar por mais 24 horas.

Após este período o papel filtro foi imerso por um minuto em uma solução de ninidrina (Sigma N4876-25G) a 1% em acetona absoluta, com o objetivo de ativar uma reação, na qual as excretas absorvidas no papel passam a apresentar coloração roxa (machas roxas) devido à reação da ninidrina com os aminoácidos presentes no “*honeydew*”, que foram absorvidos e excretados pelas cigarrinhas (BOINA et al., 2009; CHEN; SEO; STELINSKI, 2017). Para a determinação das áreas tingidas (manchas roxas) resultantes da alimentação de *D. maidis* por 24 horas, foi utilizado o software WinFOLIA 2014 por Leaf Analysis,



Figura 14. Gaiolas confeccionadas para o aprisionamento das cigarrinhas-do-milho.

4.8. Análise estatística dos dados

Os pressupostos normalidade e homocedasticidade das variâncias dos dados de mortalidade foram verificados através do teste de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Para a validação dos testes, a mortalidade do grupo controle não excedeu 10%. A fim de comparar se houve diferença na mortalidade dos insetos adultos expostos aos diferentes inseticidas químicos e produtos biológicos, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Para a comparação entre as duas populações de *D. maidis* (infectada e não infectada) expostas ao mesmo produto,

foi realizado o teste de Kruskal Wallis, sendo as médias comparadas pelo teste Wilcoxon ($P < 0,05$).

Para a estimativa da eficiência de controle, os dados de mortalidade dos insetos adultos foram corrigidos pela fórmula de Schneider-Orelli. Utilizou-se o programa R[®] (R Development Core Team 2023) para execução das análises dos experimentos.

Para os testes de alimentação, os dados de porcentagem de áreas tingidas (manchas de excreção em papel de filtro) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), comparando-se as médias dos tratamentos (populações de *D. maidis* infectadas com mollicutes e não infectadas) pelo teste *t* a 5% de significância. Utilizou-se o programa Minitab[®] 20.4 para a realização dessas análises.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Bioensaios com inseticidas químicos

Os resultados do experimento com os produtos químicos, em cigarrinhas infectadas, na avaliação de um dia após a aplicação, são apresentados na Figura 15. Os inseticidas metomil (Lannate®) e bifentrina + carbossulfano (Talisman®), nas concentrações de campo, e sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®) nas concentrações de CL₅₀ e CL₉₀ apresentaram as maiores eficiências de controle de *D. maidis*, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Os produtos metomil e tiodicarbe (Larvin® 800WG), nas concentrações equivalentes a CL₅₀ e CL₉₅, foram os que apresentaram os piores desempenhos no controle das cigarrinhas infectadas por mollicutes, não diferindo estatisticamente da testemunha.

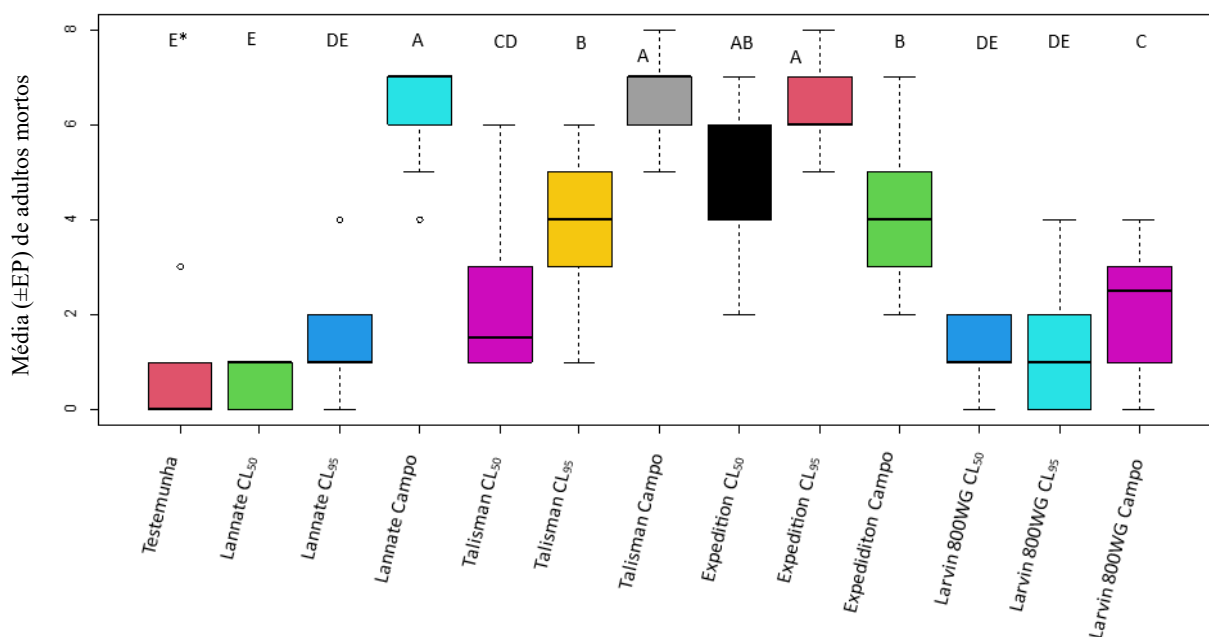


Figura 15. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* infectados, um dia após a aplicação dos inseticidas metomil (Lannate®), bifentrina + Carbossulfano (Talisman®), sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®) e tiodicarbe (Larvin® 800WG), nas concentrações de CL₅₀, CL₉₅ e campo *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

Na avaliação de dois dias após a aplicação, observou-se um aumento significativo na mortalidade de *D. maidis*, em relação à primeira avaliação (de 1 dia), para a maioria dos tratamentos com inseticidas, para a população infectada da cigarrinha (Figura 16).

As maiores mortalidades foram observadas para os tratamentos com metomil (Lannate®), na concentração de campo; bifentrina + carbossulfano (Talisman®), nas concentrações de CL₉₅ e campo; e sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®), nas concentrações de CL₅₀ e CL₉₅, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Apenas os tratamentos com metomil (Lannate®), nas concentrações de CL₅₀ e CL₉₅, e bifentrina + carbossulfano (Talisman®), na concentração de CL₅₀, não diferiram estatisticamente da testemunha, observando-se aumento significativo na mortalidade provocada por tiodicarbe (Larvin® 800WG), na avaliação realizada dois dias após a aplicação.

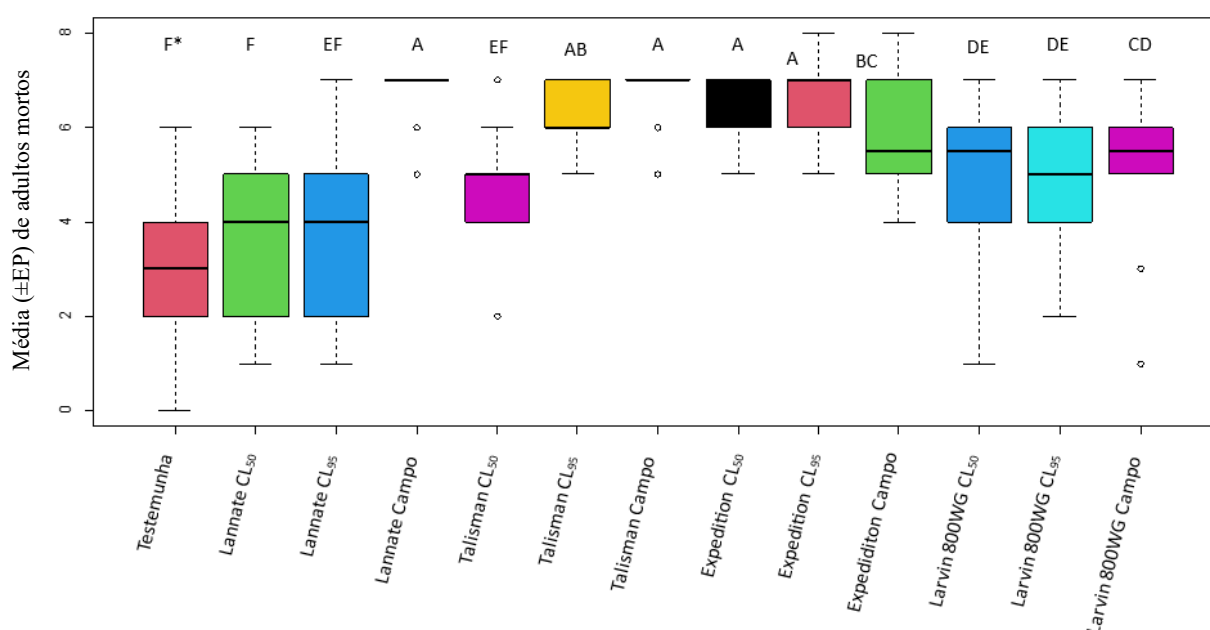


Figura 16. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* infectados, dois dias após a aplicação dos inseticidas metomil (Lannate®), bifentrina + carbossulfano (Talisman®), sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®) e tiodicarbe (Larvin® 800WG), nas concentrações de CL₅₀, CL₉₅ e campo
*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

Os resultados indicam influência significativa da concentração dos produtos e do tempo de exposição (24 ou 48 h) dos insetos aos inseticidas na mortalidade da cigarrinha-do-milho, sendo que, para os produtos metomil e a mistura de bifentrina e carbossulfano observou-se alta eficiência na concentração de campo, porém, baixos desempenhos em concentrações inferiores (CL₅₀ e/ou CL₉₅). No caso de tiodicarbe, foram observadas mortalidades relativamente baixas para as três concentrações avaliadas, na primeira avaliação (1 dia), porém, aumentos significativos na mortalidade da cigarrinha (acima dos observados para a testemunha) em todas as concentrações, na avaliação realizada aos dois dias após o tratamento. Essas diferenças

observadas entre os inseticidas avaliados podem estar associadas aos modos de ação dos inseticidas e efeito dos produtos no comportamento dos insetos após o tratamento.

No bioensaio utilizando cigarrinhas não infectadas com molicutes, as maiores mortalidades foram observadas para os tratamentos com metomil (Lannate[®]), bifentrina + carbossulfano (Talisman[®]) e tiodicarbe (Larvin[®] 800WG), na concentração de campo para os três produtos, além de sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition[®]), na concentração de CL₉₅, na avaliação realizada um dia após a aplicação (Figura 17).

No caso dos tratamentos com metomil e com as misturas de bifentrina e carbossulfano e de sulfoxaflor e lambda-cialotrina, os resultados foram semelhantes aos do bioensaio com os insetos infectados (Figura 1), porém, no caso de tiodicarbe, houve um melhor desempenho do produto quando aplicado sobre as cigarrinhas não infectadas, indicando influência da presença de molicutes na suscetibilidade dos insetos ao tratamento químico.

Considerando-se os produtos com pior desempenho, observou-se que apenas os tratamentos com metomil (Lannate[®]) e bifentrina + carbossulfano (Talisman[®]), nas concentrações equivalentes à CL₅₀, não diferiram significativamente da testemunha, no bioensaio com cigarrinhas não infectadas (Figura 17).

Em comparação com o bioensaio com insetos infectados (Figura 15), verificou-se o mesmo comportamento para metomil, porém, houve uma piora no desempenho da mistura de bifentrina e carbossulfano, que se mostrava mais tóxico para os insetos infectados (em relação à testemunha), passando a não mostrar efeito tóxico significativo nos insetos não infectados. Esses resultados corroboram a hipótese de influência dos molicutes na suscetibilidade da cigarrinha-do-milho aos tratamentos com inseticidas.

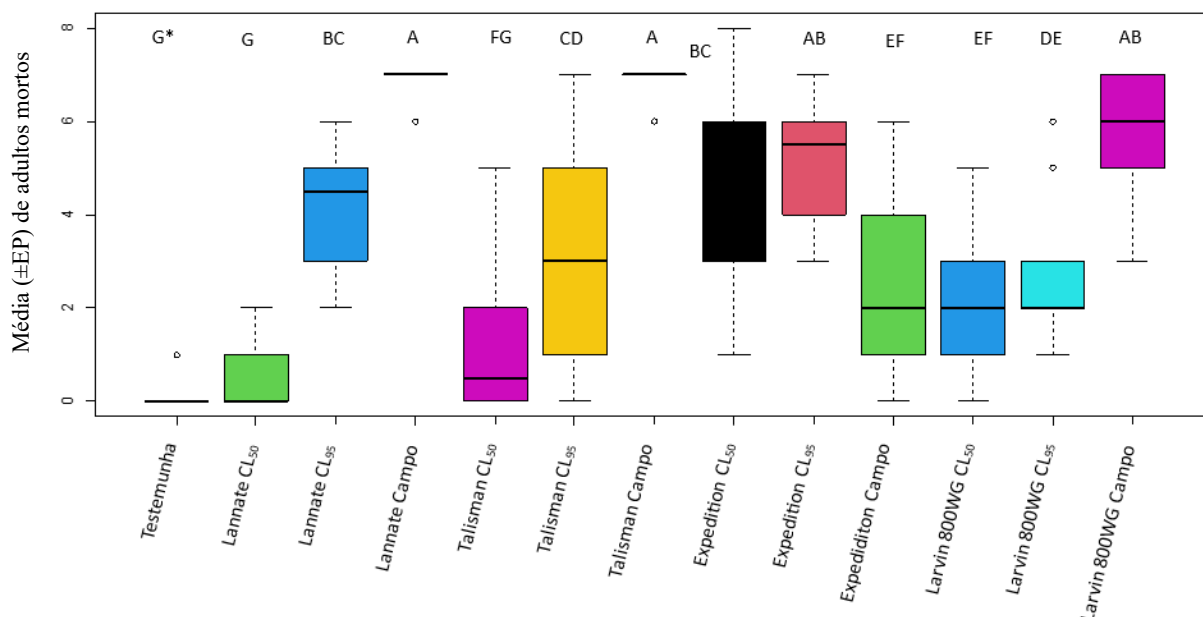


Figura 17. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, um dia após a aplicação dos inseticidas metomil (Lannate[®]), bifentrina + carbossulfano (Talisman[®]), sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition[®]) e tiodicarbe (Larvin[®] 800WG), nas concentrações de CL₅₀, CL₉₅ e campo
*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

No bioensaio com insetos não infectados, na avaliação realizada aos dois dias após a aplicação, observou-se que as maiores mortalidades foram registradas para os tratamentos com metomil (Lannate[®]), bifentrina + carbossulfano (Talisman[®]) e tiodicarbe (Larvin[®] 800WG), na concentração de campo para os três produtos, além de sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition[®]), na concentração de CL₉₅ (Figura 18), mantendo a mesma tendência de resultados observada na avaliação realizada um dia após a aplicação.

Para os produtos com pior desempenho, observou-se que apenas o tratamento com metomil (Lannate[®]), na concentração de CL₅₀, não diferiu significativamente da testemunha, no bioensaio com cigarrinhas não infectadas (Figura 4). Nesse caso, observou-se um aumento significativo na mortalidade da cigarrinha-do-milho causada pela mistura de bifentrina e carbossulfano (Talisman[®]), na segunda avaliação, passando a diferir do tratamento com metomil e da testemunha.

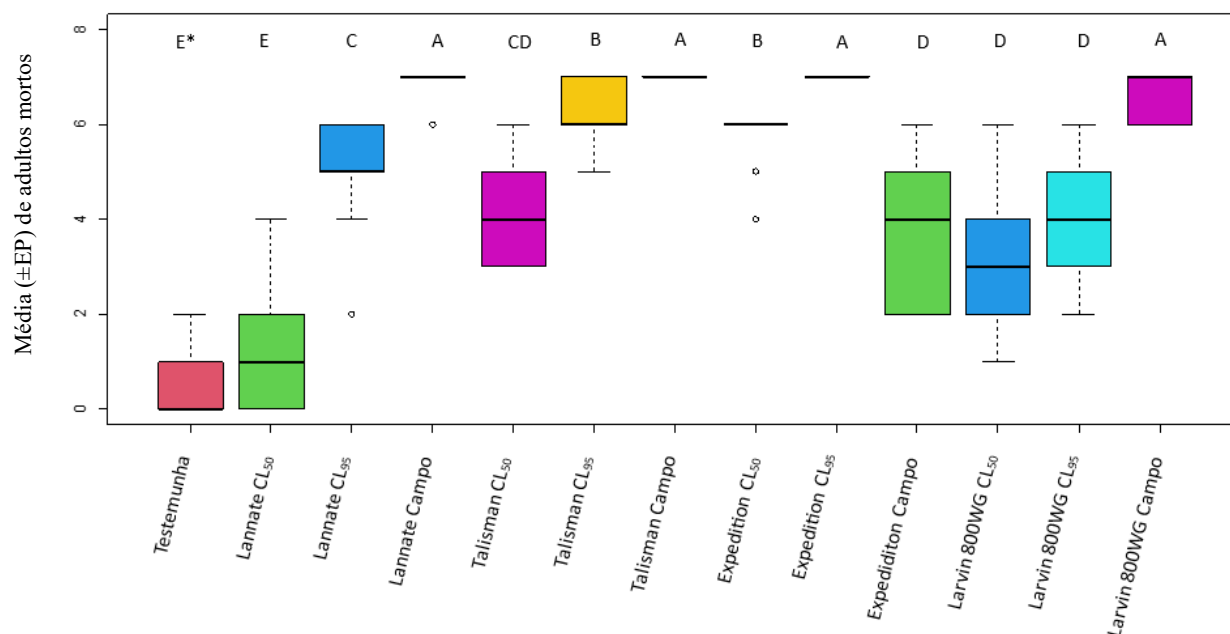


Figura 18. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, dois dias após a aplicação dos inseticidas metomil (Lannate®), bifentrina + carbossulfano (Talisman®), sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®) e tiodicarbe (Larvin® 800WG), nas concentrações de CL₅₀, CL₉₅ e campo *Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

5.2. Bioensaios com produtos biológicos

Os tratamentos com os fungos entomopatogênicos *Isaria fumosorosea* (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (Meta-Turbo SC®), ambos na dose de campo, não diferiram estatisticamente da testemunha, com sobrevivência de todos os insetos tratados, aos três dias após a aplicação. Somente o tratamento com *Beauveria bassiana* (Tezpetix™), na concentração de campo, causou mortalidade significativa das cigarrinhas nos primeiros três dias após a aplicação, para as cigarrinhas não infectadas com molícutes (Figura 19).

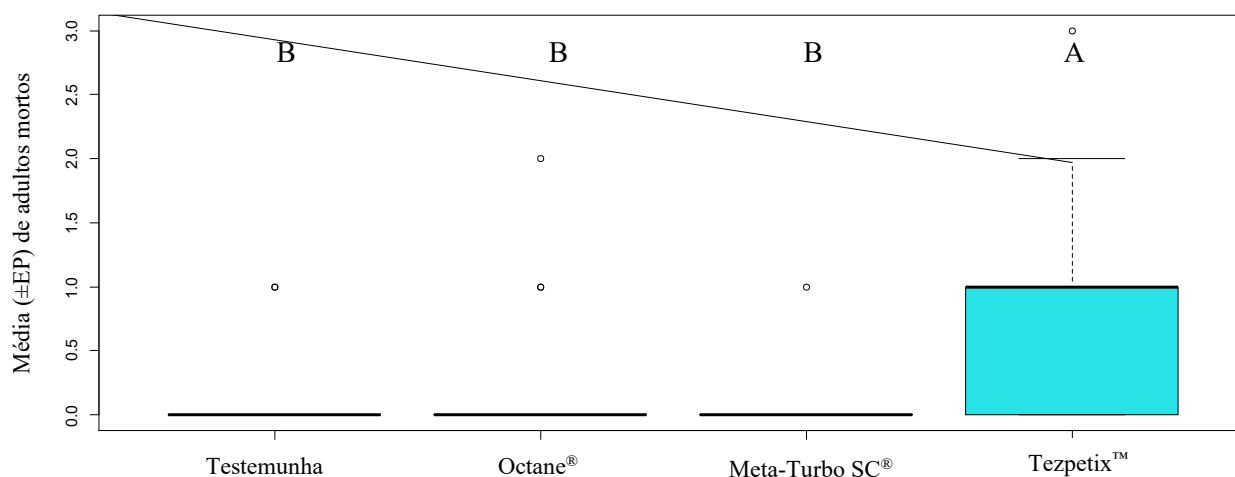


Figura 19. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, três dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®).

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$).

Na avaliação realizada aos sete dias após a aplicação, todos os tratamentos com os fungos entomopatogênicos causaram mortalidade significativa nas cigarrinhas-do-milho, diferindo significativamente da testemunha, com destaque para *B. bassiana* (Tezpetix™) e *I. fumosorosea* (Octane®), para os quais foram observadas as mais altas mortalidades do inseto-vetor (Figura 20).

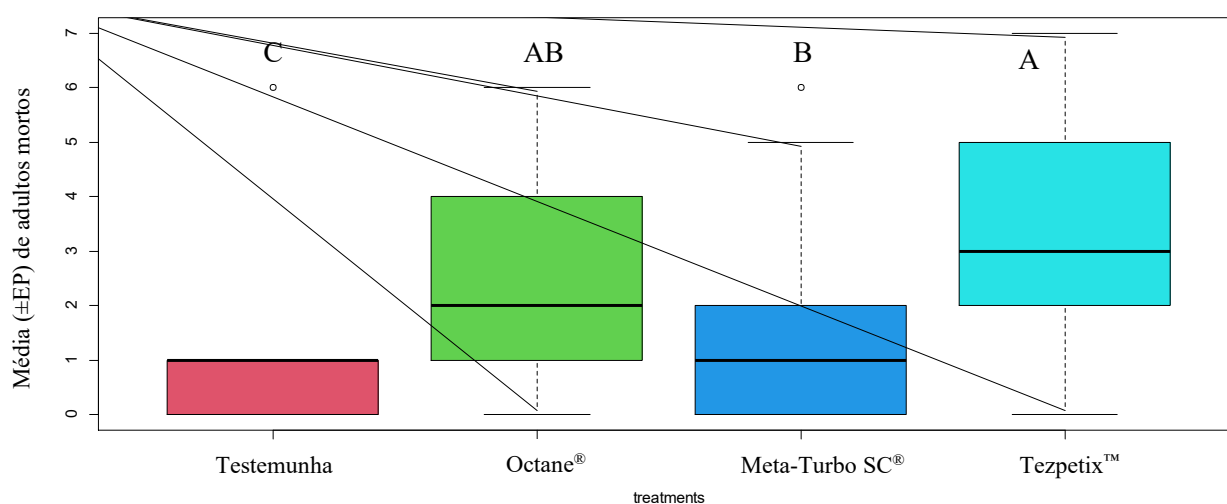


Figura 20. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, sete dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®).

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$).

Na avaliação realizada aos dez dias após a aplicação, embora a mortalidade de cigarrinhas tenha sido elevada nos três tratamentos com fungos entomopatogênicos, chegando a 7,0 insetos mortos por parcela (de 7,0 insetos avaliados), nenhum dos tratamentos apresentou diferença significativa em relação à testemunha. Este fato está provavelmente associado à mortalidade relativamente elevada das cigarrinhas-do-milho na testemunha nesta avaliação (Figura 21).

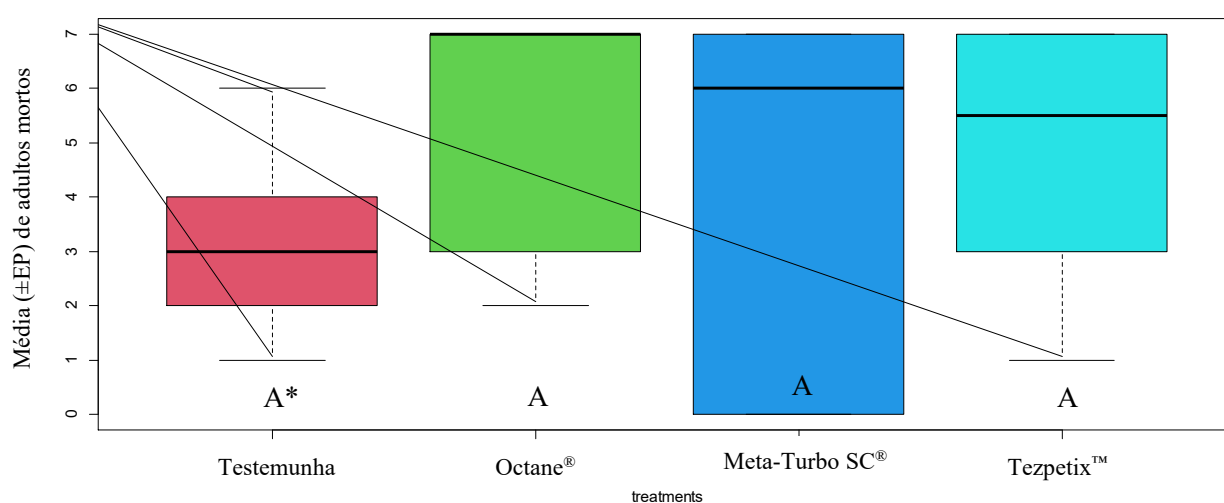


Figura 21. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* não infectados, dez dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®).

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$).

Na avaliação realizada aos três dias após a aplicação dos fungos entomopatogênicos, observou-se mortalidade das cigarrinhas para os três produtos biológicos, chegando a 2,0 insetos mortos por parcela (de 7,0 insetos avaliados), porém, sem diferença significativa em relação à testemunha, para o bioensaio utilizando insetos infectados com mollicutes (Figura 22).

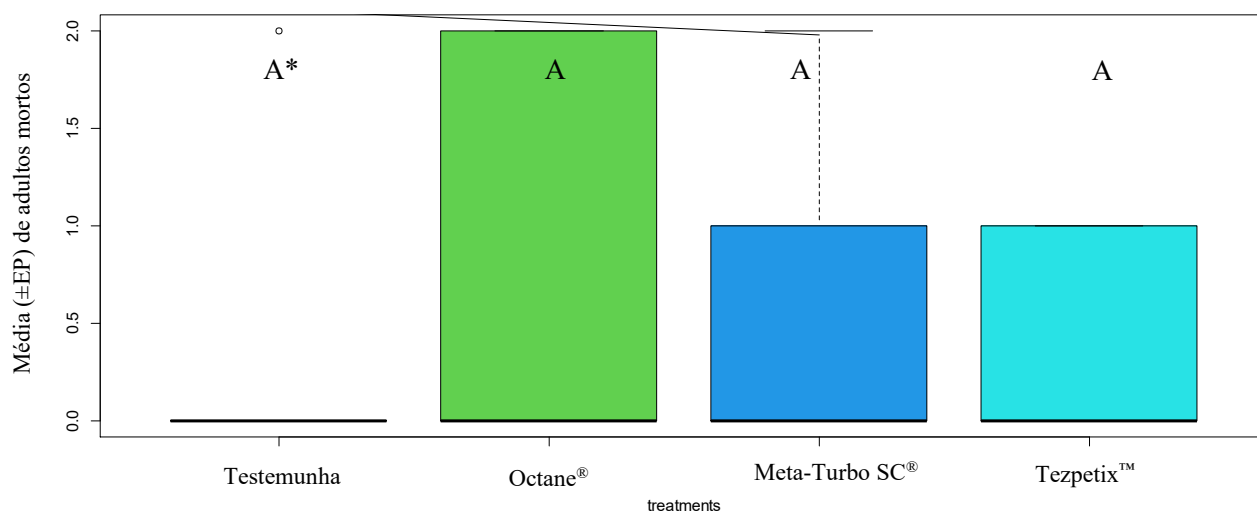


Figura 22. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* infectados, três dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®).

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$).

Na avaliação realizada aos sete dias após a aplicação dos fungos entomopatogênicos, observou-se uma mortalidade maior das cigarrinhas para os três produtos biológicos, chegando a 4,0 insetos mortos em média por parcela (de 7,0 insetos avaliados), para o tratamento com *I. fumosorosea*, porém, sem diferença significativa em relação à testemunha, para o bioensaio com insetos infectados (Figura 23).

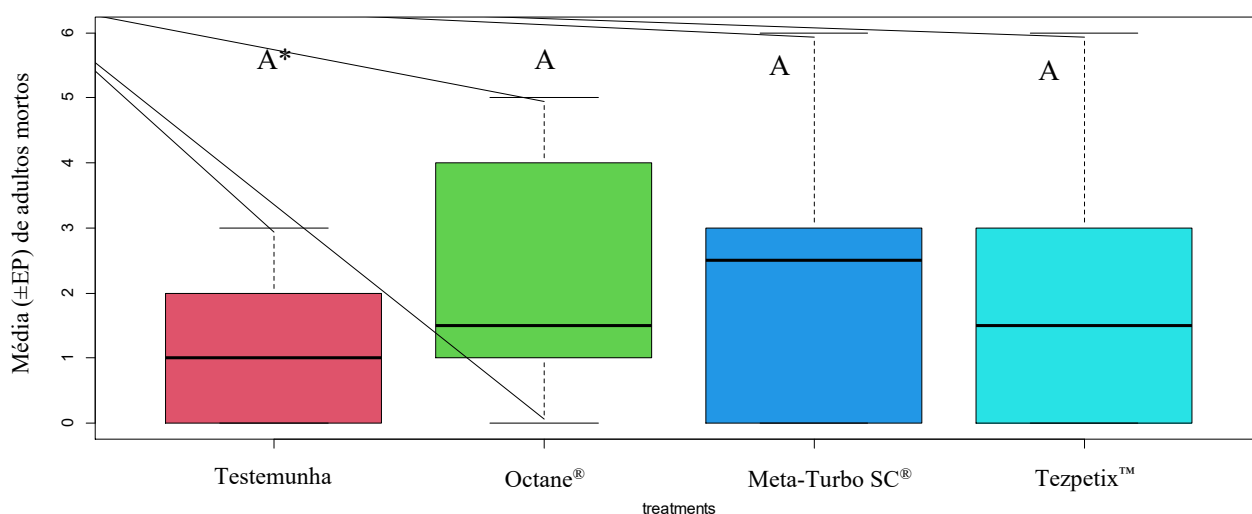


Figura 23. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* infectados, sete dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®).

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$).

Na avaliação realizada aos dez dias após a aplicação dos produtos biológicos, observou-se um aumento mortalidade das cigarrinhas para os três fungos entomopatogênicos testados, chegando a 6,0 insetos mortos em média por parcela (de 7,0 insetos avaliados), para o tratamento com *B. bassiana*, porém, sem diferença significativa em relação à testemunha, para o teste com insetos infectados (Figura 24). Este resultado está provavelmente associado à mortalidade relativamente elevada (até 4,0 insetos mortos em média por parcela) das cigarrinhas-do-milho na testemunha nesta avaliação (Figura 24).

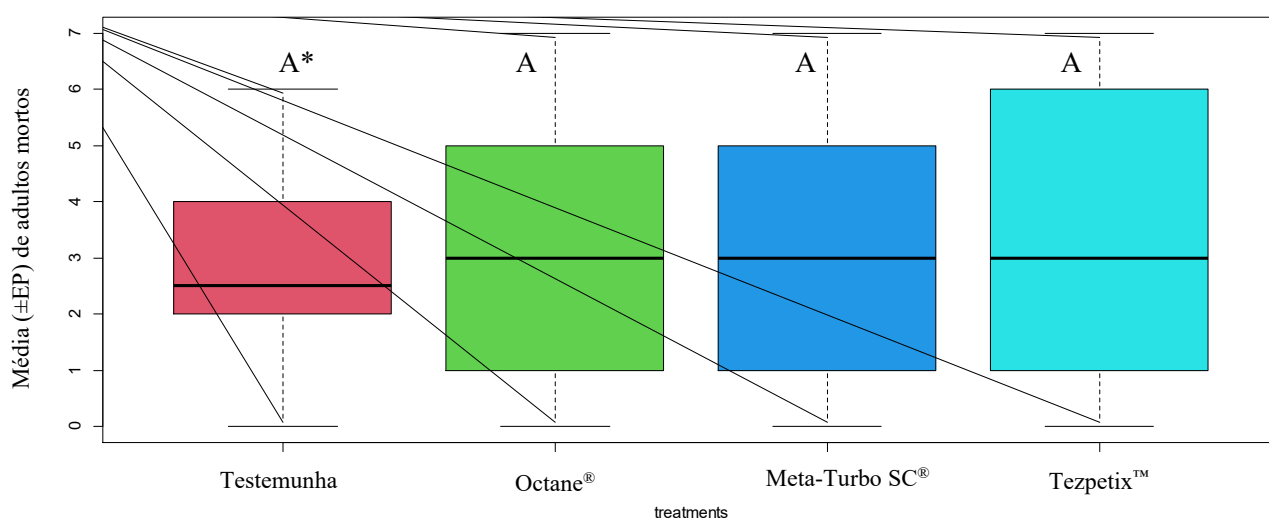


Figura 24. Médias ($\pm$ EP) de adultos mortos de *Dalbulus maidis* infectados, dez dias após a aplicação de concentrações de campo dos produtos biológicos *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®) e *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®).

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni ($p < 0.05$).

5.3. Análises dos dados comparando as populações para produtos químicos

Foram observadas diferenças significativas entre as mortalidades das cigarrinhas-do-milho infectadas e não infectadas com molícutes para os tratamentos com sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®) e tiodicarbe (Larvin® 800WG), para as duas datas de avaliação, indicando influência significativa da infecção por molícutes na suscetibilidade aos dois inseticidas testados.

No caso da testemunha, observou-se mortalidade maior dos insetos infectados, em relação aos não infectados, na avaliação realizada aos dois dias após o início do bioensaio, indicando influência significativa dos molícutes na sobrevivência da cigarrinha-do-milho (Tabela 3).

Tabela 3: Número de adultos mortos (média $\pm$ erro padrão) de *Dalbulus maidis* aos um e dois dias após a aplicação (DAA) dos produtos químicos: sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®); metomil (Lannate®), tiodicarbe (Larvin® 800WG); e bifentrina + carbossulfano (Talisman®), em condições de laboratório.

Produtos Químicos	Condição de infecção com molícutes	Adultos mortos (1 DAA) (Média $\pm$ EP)	Adultos mortos (2 DAA) (Média $\pm$ EP)
Expedition®	Infectada	4,21 ($\pm$ 0,08) a*	5,71 ($\pm$ 0,34) a*
	não infectada	2,28 ($\pm$ 0,22) b	3,71 ($\pm$ 0,37) b
Lannate®	Infectada	3,98 ($\pm$ 0,43) b*	6,72 ($\pm$ 0,15) a*
	não infectada	6,92 ($\pm$ 0,24) a	6,92 ($\pm$ 0,06) a
Larvin® 800WG	Infectada	2,28 ($\pm$ 0,52) b*	5,14 ($\pm$ 0,38) b*
	não infectada	5,78 ($\pm$ 0,59) a	6,71 ($\pm$ 0,12) a
Talisman®	Infectada	6,57 ($\pm$ 0,24) a*	6,85 ($\pm$ 0,17) a*
	não infectada	7,00 ($\pm$ 0,00) a	7,00 ($\pm$ 0,00) a
Testemunha	Infectada	0,42 ($\pm$ 0,21) a*	3,42 ($\pm$ 0,42) a*
	não infectada	0,07 ($\pm$ 0,06) a	0,50 ($\pm$ 0,16) b

*Número médio de insetos mortos seguido da mesma letra, para cada produto no mesmo dia de avaliação, não diferiu significativamente pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$).

No caso do tratamento com a mistura de sulfoxaflor e lambda-cialotrina (Expedition®), observou-se maior mortalidade (aproximadamente 85%) de insetos infectados com molícutes, em relação aos não infectados, indicando aumento da suscetibilidade dos insetos infectados ao tratamento químico com esta mistura (Tabela 3). Esses resultados corroboram com Silveira

(2019), que relacionou a infecção com espiroplasma às altas mortalidades ocasionadas pela exposição a diversos inseticidas químicos. O produto Expedition[®] tem em sua composição, um piretroide (lambda-cialotrina), que atua como modulador de canais de sódio (3A) (IRAC-BR, 2023), apresentando efeito de “knockdown”, que inicialmente paralisa os insetos, podendo ou não resultar na morte do inseto (QUINLAN; GATEHOUSE, 1981). O outro componente do produto (Expedition[®]) é sulfoxaflor, pertencente ao grupo das sulfoxaminas (4C), que são moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina (IRAC-BR, 2024). Nesse caso, com a infecção de molicutes, o sistema de defesa dos insetos pode ter sido afetado, resultando em menor desempenho do sistema de ativação de enzimas de metabolização dos diferentes grupos de inseticidas envolvidos (piretroide e sulfoxamina), tornando os insetos mais suscetíveis à ação do composto químico.

Para Talisman[®], que é uma mistura de um inseticida piretroide (bifentrina) e um metilcarbamato de benzofuranila (carbossulfano), não foram observadas diferenças significativas nas mortalidades provocadas pelo inseticida entre as populações de *D. maidis* infectadas e não infectadas com molicutes. Embora Talisman[®] tenha um piretroide como componente (bifentrina) ele é do tipo I, e no caso de Expedition[®], o piretroide envolvido (lambda-cialotrina) é do tipo II. Os piretroides podem ser classificados em duas categorias com base em seu modo de ação: tipo I que atuam nos canais de sódio das células nervosas, prolongando sua abertura e causando despolarização da membrana e tipo II, que, além de afetarem os canais de sódio, também antagonizam os receptores de GABA, um neurotransmissor inibitório, resultando em uma maior excitação nervosa e despolarização da membrana (CASIDA, 1980; WATKINSON, 1989; TAYLOR, 2001). Os piretroides, como um todo, afetam o sistema nervoso periférico e central do inseto, estimulando as células nervosas a produzirem descargas repetitivas, causando hiperexcitação e morte dos insetos (BRAGA; VALE, 2007), porém, pode haver diferenças na suscetibilidade dos insetos infectados com molicutes, dependendo do tipo (I ou II) do piretroide utilizado para o controle da cigarrinha-dormilho.

No caso de tiodicarbe (Larvin[®]800WG), o produto é um metilcarbamato de oxima (1A), que atua como inibidor de acetilcolinesterase (AChE), na fenda sináptica do sistema nervoso dos insetos. Comparando-se as populações infectada e não infectada com molicutes, a população infectada foi menos afetada pelo inseticida carbamato que a população não infectada. Uma das possíveis explicações para esse resultado seria o fato de os molicutes afetarem o comportamento de movimentação dos insetos infectados, que apresentariam menores taxas de caminhamento e/ou de alimentação que os insetos não infectados, havendo menor exposição

desses insetos (infectados) aos resíduos tóxicos do inseticida carbamato, em relação aos insetos não infectados.

A mesma tendência de maior mortalidade dos insetos não infectados foi observada para metomil (Lannate[®]), que também é um inseticida carbamato (metilcarbamato de oxima), porém, sem uma diferença significativa entre as populações infectada e não infectada para metomil. Os inseticidas derivados do ácido carbâmico que, assim como os organofosforados, têm um efeito de choque sobre os insetos, apesar de seu curto poder residual. Eles também inibem a acetilcolinesterase (AChE), mas, nesse caso, a reação envolvida é a carbamilação. Embora possuam mecanismos de ação semelhantes, existem duas diferenças principais em relação aos organofosforados. Primeiramente, alguns carbamatos são potentes inibidores da aliesterase (uma esterase alifática cuja função exata é desconhecida) e apresentam seletividade pronunciada contra a AChE de certas espécies. A segunda diferença é que a inibição da AChE pelos carbamatos é reversível (COUTINHO et al., 2005). Além de que o tiodicarbe é principalmente um inseticida de ingestão, com ação de contato limitada. Em contraste, o metomil possui uma ação de contato mais pronunciada, além de ser também um inseticida de ingestão, tendo uma menor atividade de contato em relação ao metomil. Assim sendo, diferenças nas propriedades químicas entre esses dois carbamatos podem ter influenciado na maior suscetibilidade dos insetos infectados a metomil (principalmente para a concentração de campo) que a tiodicarbe, não resultando em diferenças significativas entre as populações infectadas e não infectadas, para metomil.

Considerando-se os outros produtos, além de Lannate[®] (metomil) e Larvin[®] (tiodicarbe), foram utilizados Expedition[®] (sulfoxaflor + lambda-cialotrina) e Talisman[®] (bifentrina + carbossulfano). Nesses dois casos, os inseticidas são misturas com piretroides (lambda-cialotrina ou bifentrina), que em muitos casos apresentam efeito repelente, alterando o comportamento de movimentação (fuga) de diversas espécies de insetos e ácaros (MORETI, MARCHINI, NAKANO, 1988; MITIDIERI, 1990; FIGUEIREDO, 2014). Nesse aspecto, o efeito repelente provocado pelos piretroides, componentes desses dois inseticidas, podem ter induzido a um maior caminhar dos insetos sobre as plantas tratadas, mascarando a possível influência dos mollicutes na redução de movimentação (ou alimentação) dos insetos infectados sobre as plantas.

5.4. Análises dos dados comparando as populações para produtos biológicos

Foram observadas diferenças significativas entre as mortalidades das cigarrinhas-do-milho infectadas e não infectadas com mollicutes apenas para o tratamento com o fungo *B. bassiana* (Tezpetix™), nas avaliações realizadas aos 3 e 10 dias após a aplicação (Tabela 4). Nesse caso, os insetos infectados com mollicutes apresentaram mortalidade mais baixa que os insetos não infectados. Esse resultado também pode estar associado à possível menor movimentação dos insetos infectados com mollicutes, fazendo que os insetos fiquem menos expostos à ação do fungo entopatogênico.

Tabela 4: Mortalidade (número médio $\pm$ erro padrão) de adultos de *Dalbulus maidis* aos três, sete e dez dias após a aplicação (DAA) de produtos biológicos: *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®); *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®); *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), em condições de laboratório.

Produtos Biológicos	Condição de infecção com mollicutes	Nº médio ($\pm$ EP) 3 DAA	Nº médio ($\pm$ EP) 7 DAA	Nº médio ($\pm$ EP) 10 DAA
Meta-Turbo®	Infectada	0,56 ($\pm$ 0,19) a*	2,14 ($\pm$ 0,52) a*	3,21 ($\pm$ 0,57) a*
	não infectada	0,07 ($\pm$ 0,06) a	1,50 ($\pm$ 0,52) a	4,21 ($\pm$ 0,82) a
Octane®	Infectada	0,71 ($\pm$ 0,23) a*	2,14 ($\pm$ 0,48) a*	3,21 ($\pm$ 0,36) a*
	não infectada	0,28 ($\pm$ 0,15) a	2,35 ($\pm$ 0,45) a	3,21 ($\pm$ 0,58) a
Tezpetix™	Infectada	0,36 ($\pm$ 0,15) b*	2,07 ($\pm$ 0,50) a*	2,14 ($\pm$ 0,42) b*
	não infectada	1,00 ($\pm$ 0,22) a	3,21 ($\pm$ 0,57) a	4,07 ($\pm$ 0,43) a
Testemunha	Infectada	0,14 ($\pm$ 0,13) a*	1,28 ($\pm$ 0,27) a*	2,92 ($\pm$ 0,42) a*
	não infectada	0,50 ($\pm$ 0,13) a	1,00 ($\pm$ 0,39) a	3,35 ($\pm$ 0,63) a

*O número médio de insetos mortos seguido da mesma letra, para cada produto no mesmo dia de avaliação, não diferiu significativamente pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$).

Não foram observadas diferenças significativas entre as mortalidades das populações infectadas com mollicutes e não infectadas, tanto para o tratamento *I. fumosorosea* (Octane®), quanto para *M. anisopliae* (Meta-Turbo® SC), embora os dois fungos tenham causado mortalidade nos insetos tratados, com ênfase para *M. anisopliae*, que causou mortalidade relativamente elevada, principalmente nos insetos não infectados, seguindo a mesma tendência observada para *B. bassiana*. Segundo Dal Pogetto (2009), produtos biológicos à base de *M. anisopliae* mostraram-se eficientes no controle das ninfas psilídeo-de-concha, *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae), sendo que o tratamento com *M. anisopliae*

(Toyobo) apresentou, quando pulverizado, eficiência de 61,72%, com 62,8% de declínio da população.

No mesmo estudo, Dal Pogetto (2009) obteve baixa mortalidade de *G. brimblecombei*, quando utilizou produtos biológicos á base de *B. bassiana*, reportando valores de 54,08% de mortalidade, que foram significativamente menores que os observados para *M. Anisopliae*, com mortalidades iguais ou acima 61%.

Puterka et al. (1994) avaliaram a eficácia de dois isolados de *B. bassiana* e um isolado de *L. lecanii* no controle do psilídeo-da-pêra, *Cacopsylla pyricola* (Foerster) (Hemiptera: Psylloidea). Eles aplicaram uma concentração de 1×10^7 conídios/mL sobre ninfas de terceiro ínstar. Após três, cinco e sete dias da aplicação, os percentuais de mortalidade observados foram de 40,6%, 85,6% e 92,5% para o isolado de *B. bassiana* 2430, e de 57,4%, 93,8% e 96,0% para o isolado de *B. bassiana* 2860. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos no presente trabalho, utilizando a cigarrinha-do-milho.

Em um estudo realizado por Toledo et al, 2007, o fungo *Beauveria bassiana* apresentou desempenho inferior em comparação à espécie *Metarhizium anisopliae* para controle da cigarrinha-do-milho. Testes laboratoriais utilizando diferentes cepas de *B. bassiana* e *M. anisopliae* também apontaram resultados superiores para a mortalidade de *D. maidis* (Toledo et al. 2007).

Aparicio et al., 2005 realizou experimentos com indivíduos de *D. maidis* tratados com *M. anisopliae* (isolados M362, M366 e M379) e *B. bassiana* (B517, B874 e B992), em concentração de 1×10^7 e foi observado uma mortalidade dos indivíduos em torno de 40% para ambos os tratamentos. O tempo de mortalidade dos insetos com o fungo *M. anisopliae* foi de 10-12 dias, enquanto por *B. bassiana* ocorreu por volta dos 12-15 dias.

Corroborando com os resultados obtidos nesse projeto, CECCHIN, 2022 avaliou as aplicações dos produtos biológicos Metamip (*M. anisopliae*), e Bovemip (*B. bassiana*) durante o 7º e o 14º dia após a aplicação e não obteve um controle tão satisfatório, observando o resultado de 36% para os dois dias de avaliação e para os dois produtos biológicos utilizados.

5.5. Análises da mortalidade de *Dalbulus maidis* nos bioensaios com produtos químicos

Considerando-se as mortalidades corrigidas observadas para as populações da cigarrinha-do-milho, não infectada e infectada com molicutes, verificou-se que as maiores mortalidades ($\geq 90\%$) foram observadas para as concentrações de campo de metomil (Lannate®) e bifentrina + carbossulfano (Talisman®), chegando a 100% de mortalidade para a população

não infectada, em pelo menos uma das datas de avaliação (1 ou 2 dias após a aplicação). Considerando-se todas as concentrações avaliadas, as maiores mortalidades foram obtidas para a população não infectada para metomil, e para a população infectada para a mistura de bifentrina com carbossulfano (Tabela 5).

Tabela 5. Mortalidade corrigida das populações contaminadas e não contaminadas de *Dalbulus maidis* aos produtos químicos sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®); metomil (Lannate®), tiodicarbe (Larvin® 800WG); e bifentrina + carbossulfano (Talisman®), aos um e dois dias após a aplicação, em condições de laboratório.

Produtos químicos	População infectada		População não infectada	
	Mortalidade (%) 1 DAA	Mortalidade (%) 2 DAA	Mortalidade (%) 1 DAA	Mortalidade (%) 2 DAA
Lannate® CL ₅₀	2,49	9,58	6,22	9,83
Lannate® CL ₉₅	11,15	16,14	57,47	67,35
Lannate® Campo	90,77	95,69	100	100
Talisman® CL ₅₀	23,48	34,17	14,3	57,06
Talisman® CL ₉₅	55,49	80,19	45,06	85,82
Talisman® Campo	97,64	100	98,96	100
Expedition® CL ₅₀	72,85	88,11	65,59	84,9
Expedition® CL ₉₅	89,14	92,06	75,77	100
Expedition® Campo	57,62	34,58	32,3	51,53
Larvin® 800WG CL ₅₀	12,07	27,24	33,85	45,12
Larvin® 800WG CL ₉₅	12,8	22,78	38,65	52,63
Larvin® 800WG Campo	28,9	80,19	82,47	95,60
Testemunha	-	-	-	-

No caso de tiodicarbe (Larvin®), as maiores mortalidades (entre 82,47 e 95,6 %) foram observadas para a concentração de campo, para a população não infectada. Para sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®), as mortalidades mais elevadas (entre 89,14 e 92,06%), considerando-se os dois dias de avaliação, foram registradas para a CL₉₅, para a população infectada (Tabela 5).

Os resultados indicam que todos os inseticidas testados podem ser efetivos para o controle da cigarrinha-do-milho, havendo influência da concentração utilizada e da infecção por mollicutes nos insetos, conforme discutido no item 5.4.

5.6. Análises de mortalidade de *Dalbulus maidis* nos bioensaios com produtos biológicos

Com relação às mortalidades corrigidas observadas para as populações da cigarrinha-do-milho, não infectada e infectada com molícutes, para os produtos biológicos testados, as maiores mortalidades (entre 37,30 e 44,74%) foram observadas para *B. bassiana* (Tezpetix™), para a população não infectada (Tabela 6).

As baixas taxas de mortalidade corrigida, observadas para os fungos entomopatogênicos no presente estudo, foram parcialmente influenciadas pelas mortalidades relativamente elevadas na testemunha, a partir do sétimo dia após a aplicação, principalmente para a população infectada com molícutes (Figuras 22 e 23).

Outro fator que pode ter contribuído para o baixo desempenho dos fungos entomopatogênicos seria a forma de aplicação, por contato residual dos insetos aos fungos, que foram aplicados apenas nas plantas, limitando o contato dos insetos com os esporos (e hifas) dos entomopatógenos. Fatores como umidade relativa do ar e temperatura também podem ter influenciado no desempenho dos diferentes fungos avaliados (ALVES, 1998; ALVES; LOPES, 2008).

Tabela 6: Mortalidade corrigida das populações infectadas e não infectadas de *Dalbulus maidis* aos produtos biológicos: *Metarhizium anisopliae* (cepa IBCB425) (Meta-Turbo SC®); *Isaria fumosorosea* (cepa 1296) (Octane®); *Beauveria bassiana* (cepa Simbi BB 15) (Tezpetix™), aos três, sete e dez dias após a aplicação, em condições de laboratório.

Produtos biológicos	População infectada			População não infectada		
	Mort. (%) 3 DAA	Mort. (%) 7 DAA	Mort. (%) 10 DAA	Mort. (%) 3 DAA	Mort. (%) 7 DAA	Mort. (%) 10 DAA
Meta-Turbo® SC	1,02	15,00	7,01	1,02	25,00	11,78
Octane®	8,33	15,00	7,01	2,08	22,62	0,00
Tezpetix™	3,12	13,76	1,75	12,49	37,30	44,74
Testemunha	-	-	-	-	-	-

Apesar da eficiência relativamente baixa obtida para os fungos entomopatogênicos avaliados no presente trabalho, os resultados indicam influência da infecção com molícutes no comportamento e sobrevivência dos insetos expostos aos produtos biológicos, com menor

mortalidade dos insetos infectados (com mollicutes) sobre as plantas tratadas. Nesse aspecto, há necessidade da condução de estudos complementares, realizando-se a aplicação desses entomopatógenos diretamente sobre as cigarrinhas-do-milho, para avaliar a influências desses fungos sobre o comportamento e sobrevivência dos insetos infectados com mollicutes e não infectados.

5.7. Análises da taxa de alimentação da cigarrinhas-do-milho

As análises realizadas através da medição das áreas tingidas (com honeydew), em papel filtro, resultantes da alimentação (e excreção) das cigarrinhas *D. maidis* em folhas de milho, por 24 horas, indicaram que houve diferença significativa ($t = - 5,77$; g.l. = 16; $p < 0,0001$) na taxa de alimentação, entre as populações de cigarrinhas infectada com mollicutes e não infectada, com maior atividade de alimentação observada para a população não infectada de *D. maidis* (Figuras 25, 26 e 27).

A porcentagem de área tingida (resultante de excreção) para a população não infectada (Figura 25) foi visivelmente maior que a observada para a população infectada (Figura 26). Pela análise realizada pelo software WinFOLIA 2014 observou-se para a população não infectada uma área média tingida de 1,778 cm² o que corresponde a aproximadamente 44% da área total do papel filtro, porém, para a população infectada, a média da área tingida foi de 1,039 cm², correspondendo a aproximadamente 23% da área total.

Não houve mortalidade das cigarrinhas-do-milho em nenhuma das repetições de ambas as populações, indicando que as condições ambientais para os insetos de ambos os tratamentos foram adequadas e semelhantes para ambos os tratamentos, não afetando as taxas de excreção observadas na presente pesquisa.

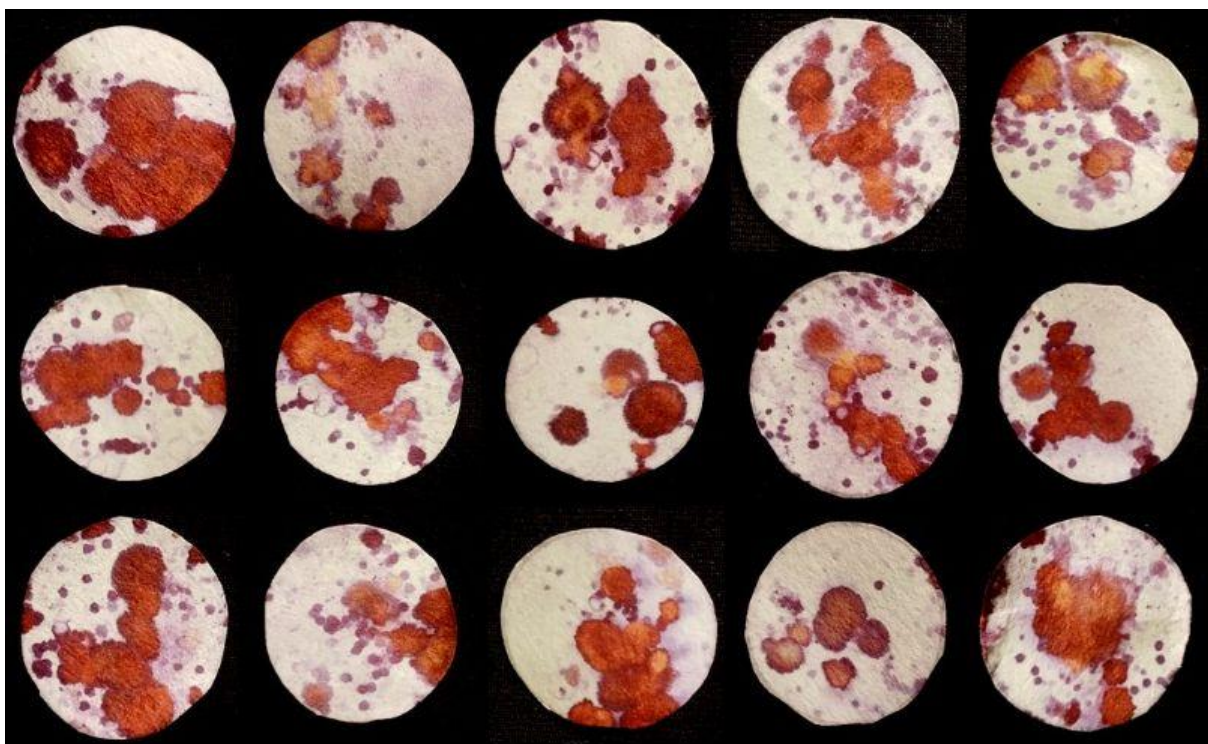


Figura 25. Papeis filtro com manchas roxas (honeydew) resultantes da alimentação das cigarrinhas-do-milho não infectadas em folhas de milho por 24 horas.

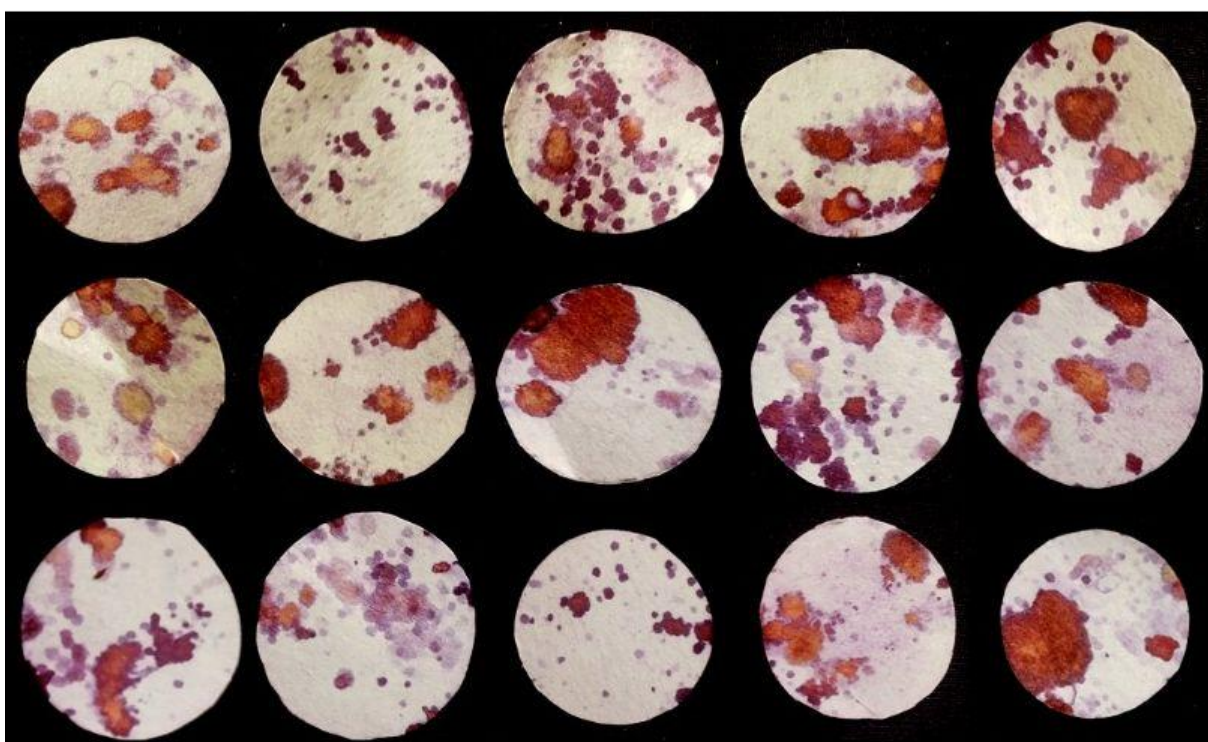


Figura 26. Papeis filtro com manchas roxas (honeydew) resultantes da alimentação das cigarrinhas-do-milho infectadas com mollicutes em folhas de milho por 24 horas.

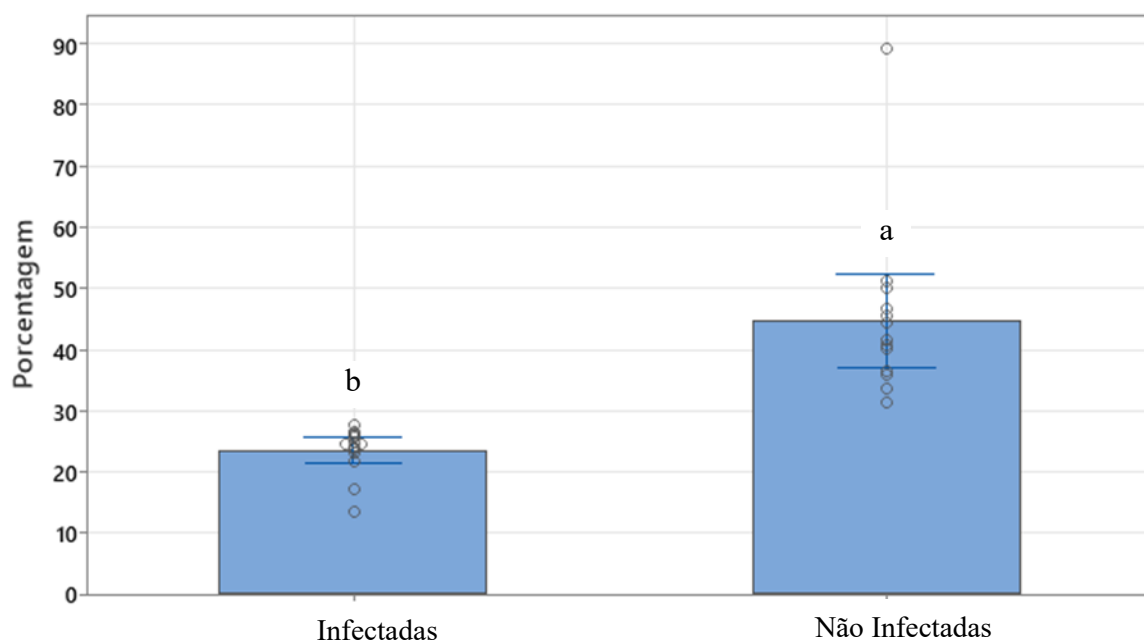


Figura 27. Porcentagens (médias $\pm$ EP) de áreas tingidas com manchas roxas (honeydew), em papel de filtro, resultantes da alimentação de cigarrinhas-do-milho ($n = 15$) infectadas com molicutes e não infectadas, em folhas de milho por 24 horas. Colunas com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste t a 5% de significância.

Os resultados dessas análises indicam que os molicutes podem afetar o comportamento de alimentação da cigarrinha-do-milho, com tendência de redução nas taxas de alimentação para os insetos infectados. Essa diferença na alimentação, associada a infecção por molicutes, pode auxiliar na compreensão de alguns resultados apresentados no item 5.3 (Tabela 3), referentes a mortalidade de cigarrinhas infectadas e não infectadas, quando expostas a ação de diferentes produtos químicos.

Para os inseticidas metomil (Lannate[®]) e tiodicarbe (Larvin[®]), houve diferença significativa na mortalidade de adultos entre as populações infectada e não infectada de *D. maidis* (Tabela 3), provavelmente, devido à maior taxa de alimentação das cigarrinhas não infectadas, em relação às infectadas, resultando em maior exposição dos insetos não infectados aos inseticidas químicos presentes nas plantas, com consequente aumento na mortalidade desses insetos.

Para a mistura bifentrina + carbossulfano (Talisman[®]) não houve diferença significativa nas taxas de mortalidade entre as populações infectada e não infectada, indicando que a possível influência dos molicutes na redução das taxas de alimentação não afetou o desempenho do

produto. Uma das diferenças entre os produtos anteriores (Lannate® e Larvin®) e Talisman® é à presença do piretroide bifentrina na mistura, que pode ter influenciado o comportamento de movimentação dos insetos (MITIDIERI, 1990; FIGUEIREDO, 2014), levando a um aumento na movimentação (ou paralisia total do inseto, dependendo da concentração), afetando a exposição das cigarrinhas ao inseticida nas plantas de milho.

No caso de sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition®), observou-se maior mortalidade de insetos infectados com molicutes, indicando que a presença do piretroide lambda-cialotrina na mistura também pode ter afetado o comportamento das cigarrinhas e sua exposição ao inseticida, minimizando a possível influência dos molicutes na redução da mortalidade das cigarrinhas infectadas, devido à menor ingestão de alimento (e do inseticida presente na planta).

Esse estudo sobre a influência dos molicutes no comportamento de alimentação de *D. maidis* foi realizado visando entender melhor os resultados obtidos nesta pesquisa, porém ainda há necessidade da condução de outros estudos bioquímicos e moleculares, em condições de laboratório, assim como, em casa-de-vegetação (testes com aplicação de produtos químicos e biológicos em plantas de milho infestadas com insetos infectados e não infectados com molicutes), para a confirmação das hipóteses levantadas no presente trabalho e esclarecimento dos mecanismos de interação entre molicutes, insetos-vetores e plantas hospedeiras.

Esse trabalho é um braço das possíveis estratégias que podem ser utilizadas contra a cigarrinha-do-milho *D. maidis*, que atualmente é um dos principais problemas para a cultura do milho no Brasil. O manejo integrado de pragas (MIP) é um conjunto de estratégias de controle que visa preservar e aumentar os fatores naturais de mortalidade das pragas que afetam as lavouras. Para isso, utiliza uma combinação de técnicas baseadas em parâmetros técnicos, econômicos, ecológicos e sociológico (PICANÇO, 2010). Sabendo-se que para controlar a cigarrinha-do-milho é preciso adotar diversas estratégias de manejo, tais como, a rotação de culturas, eliminação das plantas de milho tiguera, vazio sanitário, tratamento das sementes de milho, e a rotação de produtos químicos e biológicos. Os produtos químicos e biológicos avaliados nesta pesquisa foram selecionados com o intuito de entender melhor a contribuição desses compostos no controle da cigarrinha-do-milho, tanto das populações infectadas com molicutes quanto das populações livres desses patógenos.

6. CONCLUSÕES

- Há influência da infecção com mollicutes na sobrevivência da cigarrinha-do-milho, quando exposta a inseticidas químicos, podendo haver maior mortalidade dos insetos infectados [ex.: sulfoxaflor + lambda-cialotrina (Expedition[®])] ou não infectados [tiodicarbe (Larvin[®] 800WG)], dependendo do produto utilizado.
- Há influência da infecção com mollicutes na sobrevivência das cigarrinhas-do-milho, quando expostas a fungos entomopatogênicos, como os da espécie *Beauveria bassiana*, com tendência de maior sobrevivência dos insetos infectados sobre as plantas tratadas com os produtos biológicos.
- Há influência dos mollicutes no comportamento de alimentação de *D. maidis* em plantas de milho, com redução na atividade de alimentação nos insetos infectados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADNAN, M.; BILAL, H. M. Role of boron nutrition on growth, phenology and yield of maize (*Zea mays* L.) hybrids: A review. **Journal of Biogenic Science and Research**, v.4, n.1, p.1-8, 2020.
- ALBUQUERQUE, F.A.; BORGES, L.M.; IACONO, T.O.; CRUBELATI, N.C.S.; SINGER, A.C. Eficiência de inseticidas aplicados em tratamento de sementes e pulverização, no controle de pragas iniciais do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.5, n.1, p.15- 25, 2006.
- ALI, A.; ADNAN, M.; ABBAS, A.; JAVED, M.A.; SAFDAR, M.E.; ASIF, M.; IMRAN, M.; IQBAL, T.; REHMAN, F.U.; AHMAD, R. Comparative performance of various maize (*Zea mays* L.) cultivars for yield and related attributes under semi-arid environment. **Agricultural and Biological Research**, v.36, n.4, p.63-66, 2020.
- ALIVIZATOS, A.S.; MARKHAM, P.G. Acquisition and transmission of corn stunt spiroplasma by its leafhopper vector *Dalbulus maidis*. **Annals of Applied Biology**, v.108, n.3, p.535-544, 1986.
- ALVES, E.; FORESTI, J. Manejo da cigarrinha e dos enfezamentos do milho. In: BIOGENE ARTIGOS. Anais eletrônicos. **BioGene**, 2017. Disponível em: <http://www.biogene.com.br/media-center/artigos/33/manejo-da-cigarrinha-e-dos-enfezamentos-do-milho>. Acesso: 09 de out. de 2024.
- ALVES, S.B. (Coord.). **Controle microbiano de insetos**. ALVES, S.B. (Ed.). Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008. 414p.
- ALVIM, K.R.D.T.; DE BRITO, C.H.; BRANDÃO, A.M.; GOMES, L.S.; LOPES, M.T.G. Redução da área foliar em plantas de milho na fase reprodutiva. **Ceres**, v.58, n.4, 2011.
- AMMAR, E.D.; HOGENHOUT, S.A. Use of immunofluorescence confocal laser scanning microscopy to study distribution of the bacterium corn stunt spiroplasma in vector leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae) and in host plants. **Annals of the Entomological Society of America**, v.96, n.6, p.820-826, 2005.
- ASIF, M.; NADEEM, M.A.; AZIZ, A.; SAFDAR, M.E.; ADNAN, M.; ALI, A.; ULLAH, N.; AKHTAR, N.; ABBAS, B. Mulching improves weeds management, soil carbon and productivity of spring planted maize (*Zea mays* L.). **International Journal of Botany Studies**, v.5, n.2, p.57-61, 2020.
- APARICIO, G. A.; RAYGOSA, G. M.; PADILLA, A. B. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre chicharrita del maíz (*Dalbulius maidis*) (Delong y Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae). **Folia Entomológica Mexicana**, v. 44, p. 1-6, 2005.
- ÁVILA, C.J. et al. A cigarrinha *Dalbulus maidis* e os enfezamentos do milho no Brasil. **Revista Plantio Direto**, v.30, n.182, p.18-25, 2021.

- BEADLE, G.W. The ancestry of corn. **Scientific American**, v.242, n.1, p.112-119, 1980.
- BEDENDO, I.P. Fitoplasmas e espiroplasmas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, p.181-190, 2018.
- BEDENDO, I.P. Micoplasmas e espiroplasmas de plantas: importância, diagnose, detecção e identificação. **Summa Phytopatologica**, v.21, p.84-85, 1995.
- BERTACCINI, A.; DUDUK, B. Phytoplasma and phytoplasma diseases: a review of recent research. **Phytopathologia Mediterranea**, v.48, n.3, p.355-378, 2009.
- BHIRUD, K.M.; PITRE, H.N. Bioactivity of systemic insecticides in corn: relationship to leafhopper vector control and corn stunt disease incidence. **Journal of Economic Entomology**, v.65, n.4, p.1134-1140, 1972.
- BOVÉ, J.M.; RENAUDIN, J.; SAILLARD, C.; FOISSAC, X.; GARNIER, M. *Spiroplasma citri*, a plant pathogenic mollicute: relationships with its two hosts, the plant and the leafhopper vector. **Annual Review of Phytopathology**, v.41, n.1, p.483-500, 2003.
- CARLE, P.; LAIGRET, F.; TULLY, J.G.; BOVE, J.M. Heterogeneity of genome sizes within the genus *Spiroplasma*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.45, n.1, p.178-181, 2009.
- CARLONI, E.; CARPANE, P.; PARADELL, S.; LAGUNA, I.; PECCI, M.P.G. Presence of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and of *Spiroplasma kunkelii* in the temperate region of Argentina. **Journal of Economic Entomology**, v.106, n.4, p.1574-1581, 2013.
- CASIDA, J.E. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. **Environmental Health Perspectives**, v.34, p.189-202, 1980.
- CECCHIN, C.A. **Controle biológico de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae) com *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metschn) Sorokin**. Trabalho de Conclusão de Curso, Engenharia Agrônômica, Universidade de Caxias do Sul, Nova Prata, 2022.
- CHANG, C. J. Pathogenicity of aster yellows phytoplasma and *Spiroplasma citri* on periwinkle. **Phytopathology**, v.88, p.1347-1350, 1998.
- CHEN, T.A.; LIAO, C.H. Corn stunt spiroplasma: isolation, cultivation, and proof of pathogenicity. **Science**, v.188, n.4192, p.1015-1018, 1975.
- CHOUDHURY, M. M.; ROSENKRANZ, E. Differential transmission of Mississippi and Ohio corn stunt agents by *Graminella nigrifrons*. **Phytopathology**, v.53, n.1, p.127-133, 1973.
- CITTI, C.; FRISONI, E.D.; KUO, C.; BARANOWSKI, E. Horizontal gene transfers in mycoplasmas. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 29, p.3-22, 2018.
- CLARK, T.B. Diversity of arthropod reservoirs and spiroplasmas: relationships host parasite. **Advancement of Science**, v.217, n.4554, p.57-59, 1982.

CLARK, T.B.; WHITCOMB, R.F.; TULLY, J.G.; MOUCHES, C.; SAILLARD, C.; BOVE, J.M.; WROBLEWSKI, H.; CARLE, P.; ROSE, D.L.; HENEGAR, R.B.; WILLIAMSON, D. L. *Spiroplasma rnelliferum*, a new species from the honeybee (*Apis mellifera*). **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.35, n.3, p.296-308, 1985.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Produção e balanço de oferta e demanda de grãos. 2024. Disponível em: https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/41380_1353e587f0d8a7bf425a3a0e1e5bb959. Acesso em: 30 mar. 2024.

COSTA, A.S.; KITAJIMA, E.W.; ARRUDA, S.C. Moléstias de vírus e de micoplasma no milho em São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, v.4, n.4, p.39-41, 1971.

COSTA, R.V.; CASELA, C.R.; COTA, L.V. **Doenças causadas por mollicutes e por vírus**. Embrapa Milho e Sorgo, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao/pragas-e-doencas/doencas/doencas-causadas-por-mollicutes-e-por-virus>. Acesso em: 09 Nov. 2024.

COTA, L.V.; SILVA, D.D. da; AGUIAR, F.M.; COSTA, R.V. da. **Resistência de genótipos de milho aos enfezamentos**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 11, 2018.

CRUZ JC et al. **Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Informação Tecnológica. Brasília: Embrapa, 2011. 333 p.

CRUZ, I.; VALICENTE, F.H. Controle biológico. In: CRUZ, J. C.; MAGALHAES, P. C.; PEREIRA FILHO, I.A.; MOREIRA, J.A.A. (Ed.). **Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. cap. 12, p.193-201. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/81021/1/Controle-biologico-2.pdf>. Acesso em: 09 Nov. 2024.

DAVIS, R. Biology of the leafhopper *Dalbulus maidis* at selected temperatures. **Journal of Economic Entomology**, v.59, n.3, p.766-767, 1966.

DAVIS, R.E. Fitoplasmas: fitopatógenos procarióticos sem parede celular, habitantes de floema e transmitidos por artrópodes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.3, p.1-27, 1995.

DELGADO, C.L. Rising consumption of meat and milk in developing countries has created a new food revolution. **The Journal of Nutrition**, v.133, n.11, p.3907-3910, 2003.

DELLA LIBERA, D.S.; ANDRADE, J.A.C.; BARROS, F.A.D. de; REZENDE, J.L.B.; SILVA, T.C.; NUNES, T.C.; CERESINI, P.C. Controle biológico da cigarrinha (*Dalbulus maidis*) e da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) do milho com *Beauveria* ssp. **Brazilian Journal of Development**, v.8, n.5, p.41727-41738, 2022.

DEUTSCH, C.A.; HUEY, R.B.; TEWKSBURY, J.J.; TIGCHELAAR, M.; BATTISTI, D.S.; MERRILL, S.C.; NAYLOR, R.L. Increase in crop losses to insect pests in a warming climate. **Science**, v.361, n.6405, p.916-919, 2018.

DOEBLEY, J.F.; ILTIS, H.H. Taxonomy of *Zea* (Gramineae). I. A subgeneric classification with key to taxa. **American Journal of Botany**, v.67, n.6, p.982-993, 1980.

EICHOLZ, E.D.; BREDEMEIER, C.; BERMUDEZ, F.; MACHADO, J.R.A.; GARRAFA, M.; BISPO, N.B.; AIRES, R.F. Informações técnicas para o cultivo do milho e sorgo na região subtropical do Brasil: safras 2019/20 e 2020/21. 2020. In: MISOSUL, Reunião Técnica Sul-Brasileira de Pesquisa de Milho e Sorgo, 1, Chapecó, SC, 2019. Associação Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG, 2020.

EMBRAPA. News. Cigarrinhas e enfezamentos no milho: manejo do risco e convivência. Publicada em: 12/03/2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/32498191/cigarrinha-e-enfezamentos-no-milho-manejo-do-risco-e-convivencia>. Acesso em: 09 Nov. 2024.

EQUIPE FIELDVIEW. Plantio de safrinha 2024: o que esperar da safra de milho no Brasil (publicada em: 08/02/2024). Disponível em: <https://blog.climatefieldview.com.br/plantio-safrinha>. Acesso em: 09 Nov. 2024.

FAJARDO, T.V.M.; NICKEL, O. **Transmissão de vírus e controle de viroses em plantas**. EMBRAPA Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, 2019. Documentos, 110. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1107832>. Acesso em: 09 Nov. 2024.

FARIA, M.; WRIGHT, S.P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v.43, p.237-256, 2007.

FAVARATO, L.F.; SOUZA, J.L.; GALVÃO, J.C.C.; SOUZA, C.M.; GUARCONI, R.C.; BALBINO, J.M.S. Crescimento e produtividade do milho-verde sobre diferentes coberturas de solo no sistema plantio direto orgânico. **Bragantia**, v.75, p.497-506, 2016.

FIGUEIREDO, A.C.P. **Piretroides: Uma nova geração de insecticidas**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2014. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/48582216.pdf>. Acesso em: 09 Nov. 2024.

FIRRAO, G.; ANDERSEN, M.; BERTACCINI, A.; BOUDON, E.; BOVÉ, J. M.; DAIRE, S.; DAVIS, R. E.; FLETCHER, J.; GARNIER, M.; GIBB, K. S.; GUNDERSEN-RINDAL, D. E.; HARRISON, N.; HIRUKI, C.; KIRPATRICK, B. C.; JONES, P.; KUSKE, C. R.; LEE, I. M.; LIEFTING, L.; MARCONE, C.; NAMBA, S.; SCHNEIDER, B. SEARS, B. B.; SEEMUELLER, E.; SMART, C. D.; STRETEN, C.; WANG, K. 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.54, p.1243-1255, 2004.

FORESTI, J., PEREIRA, R.R.; SANTANA JÚNIOR, P.A.; NEVES, T.N.; SILVA, P.R.; ROSSETO, J.; ISTCHUK, A.N.; ISHIZUKA, T.K.; HARTER, W.; SCHWERTNER, M.H.; PICAÑO, M.C. Spatial-temporal distribution of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and factors affecting its abundance in Brazil corn. **Pest Management Science**, v.78, n.6, p.2196-2203, 2022.

GÁMEZ, R. Maize rayado fino disease: the virus. In: GORDON, D.T.; KNOKE, K.J.; NAULT, R.L.; RITTER, R.M. (Ed.) **Proceedings: International Maize Virus Disease colloquium and workshop**. The Ohio State University, Wooster, 1983. 261 p.

GAURIVAUD, P.; LAIGRET, F.; GARNIER, M.; BOVE, J.M. Fructose utilization and pathogenicity of *Spiroplasma citri*: characterization of the fructose operon. **Gene**, v.252, p.61-69, 2000.

GORDON, D.T.; KNOKE, J.K.; SCOTT, G.E. **Virus and viruslike diseases of maize in the United States**. Wooster: Ohio Agricultural Research and Development Custer, 1981. 210 p.

GRANADOS, R.R.; MEEHAN, D.J. Pathogenicity of the corn stunt agent to an insect vector, *Dalbulus elimatus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.26, n.3, p.313-320, 1975.

GUSSIE, J.S.; FLETCHER, J.; CLAYPOOL, P.L. Movement and multiplication of *Spiroplasma kunkelii* in corn. **Phytopathology**, v.85, n.10, p.1093-1098, 1995.

HAAS, I.C.R. **Potenciais hospedeiros alternativos para o fitoplasma e o espiroplasma, agentes do enfezamento do milho, e alterações bioquímicas em plantas infectadas pelo espiroplasma**. 73 p. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2010.

HANOVER, L. M.; WHITE, J. S. Manufacturing, composition, and applications of fructose. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.58, n.5 (Suppl.), p.724-732, 1993. doi: 10.1093/ajcn/58.5.724S.

HEADY, S. E.; NAULT, L. R. Leafhopper egg microfilaments (Homoptera: Cicadellidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.77, n.5, p.610-615, 1984.

HEADY, S.E.; MADDEN, L.V.; NAULT, L.R. Oviposition behavior of *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.78, n.6, p.723-727, 1985.

HRUSKA, A.J.; PERALTA, M.G. Maize response to corn-leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) infestation and achaparramiento disease. **Journal of Economic Entomology**, v.90, p.604-610, 1997.

IRAC-BR. Comitê de Ação à Resistência a Inseticidas - Brasil. Modo de ação de inseticidas e acaricidas. Disponível em: <https://www.ira-br.org/modo-de-acao>. Acesso em: 09 Nov. 2024.

JANINI, M. A.; CRUCIOL, G. C.; CATALANI, G.; PERSEGIL, E. O.; BARROS, L. M. Doses crescentes de fertilizante mineral no tratamento de sementes de milho. **Enciclopédia Biosfera**, v. 19, n. 40, 2022.

KARAM, D.; MELHORANÇA, A.L.; OLIVEIRA, M. F. de. **Plantas Daninhas na Cultura do Milho**. EMBRAPA, Circular Técnica 79, 2006. 8p.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**, 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2. 1997. 663 p.

KITAJIMA E.W.; RIBEIRO, R.L.D.; LIN, M.T.; RIBEIRO, M.I.S.D.; KIMURA, O.; COSTA C.L.; PIMENTEL, J.P. Lista comentada de vírus e organismos do tipo micoplasma em plantas cultivadas e silvestres do estado do Rio de Janeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.9, n.3, p.607-625, 1984.

KITAJIMA, E.W.; COSTA, A.S. Microscopia eletrônica de microrganismos tipo micoplasma nos tecidos de milho afetado pelo enfezamento e nos órgãos da cigarrinha vectora portadora. **Bragantia**, v. 31, n.6, p.75-87, 1972.

KUMARI, S.; NAGENDRAN, K.; RAI, A. B.; SINGH, B.; RAO, G. P.; BERTACCINI, A. Global status of phytoplasma diseases in vegetable crops. **Frontiers in Microbiology**, v.10, p.1-15, 2019.

KWON, M.-O.; WAYADANDE, A.C.; FLETCHER, J. *Spiroplasma citri* movement into the intestines and salivary glands of its leafhopper vector, *Circulifer tenellus*. **Phytopathology**, v.89, n.12, p.1144-1151, 2007.

LARSEN, K.J.; NAULT, L.R.; MOYA-RAYGOZA, G. Overwintering biology of *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae): adult populations and drought hardiness. **Environmental Entomology**, v.21, n.3, p.566-577, 1992.

LEE, I.-M.; DAVIES, R.E.; GUNDERESEN-RINDAL, D.E. Phytoplasmas: phytopathogenic mollicutes. **Annual Review of Microbiology**, v.54, p.221-255, 2000.

MACHADO, E.P.; SOUZA, E.V.; DIAS, G.S.; SACILOTTO, M.G.; OMOTO, C. Is insecticide resistance a factor contributing to the increasing problems with *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) in Brazil? **Pest Management Science**, v.80, n.10, p.5120-5130, 2024.

MARAMOROSCH, K.; RAYCHAUDHURI, S.P. **Mycoplasma Diseases of Crops**; Basic and Applied Aspects. New York: Springer-Verlag, 1988.

MARQUEZ SANCHEZ, F. The genetic improvement of resistance to the maize diseases stunt and downy mildew in Nicaragua. Project CP-UACH-UNAN. **Revista Chapingo**, v.7, n.35-36, p.26-27, 1982.

MARTINEZ HERNANDEZ, E.; NG, K.S. Design of biorefinery systems for conversion of corn stover into biofuels using a biorefinery engineering framework. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v.20, n.7, p.1501-1514, 2018.

MARTINS, G.; TOSCANO, C.; TOMQUELSKI, G.; MARUYAMA, W.I. Eficiência de inseticidas no controle de *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) na cultura do milho. **Revista Caatinga**, v.21, n.4, p.196-200, 2008.

MASSOLA JÚNIOR, N.S. Enfezamento vermelho e pálido: doenças em milho causadas por mollicutes. **Semina Ciências Agrárias**, v. 22, p.237-243, 2001.

MENDES, L.O.T. Observações sobre alguns insetos coletados sobre algodoeiro durante os anos de 1936 e 1937. **Boletim técnico do Instituto Agrônômico**, v.45, p.1-15, 1938.

MICHEREFF, S.J. **Fundamentos de Fitopatologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, 2001. 172 p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília, DF, 2024. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 12 de jun. 2024.

MITIDIÉRI, M.V.M.M. Efeito de piretroides sobre o acaro rajado *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae). Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, Piracicaba, 1990. DOI: <https://doi.org/10.11606/D.11.2018.tde-20181127-160715>.

MONTANO, H.G.; BRIOSO, P.S.T.; PIMENTEL, J.P. List of phytoplasma hosts in Brazil. **Bulletin of Insectology**, v.60, n.2, p.129-130, 2007.

MORETI, A.C.C.C.; MARCHINI, L.C.; NAKANO, O. Efeito repelente de piretroides sobre abelhas, em cultura de girassol. **Boletim de Indústria Animal**, v.45, n.1, p. 157-163, 1988.

MOUCHES, C.; BOVÉ, J.M.; TULLY, J.G.; ROSE, D.L.; MCCOY, R.E.; CARLE-JUNCA, P.; GARNIER, M.; SAILLARD, C. *Spiroplasma apis*, a new species from the honey-bee *Apis mellifera*. **Annales do Instituto Pasteur - Microbiologia**, v.134, p.383-397, 1983.

MOYA-RAYGOZA, G.; TORRES-MORENO, R.; TRIAPITSYN, S. V. Two New Records of Egg Parasitoids for *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae): *Ufens niger* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Anagrus nigriventris* (Hymenoptera: Mymaridae). **Florida Entomologist**, v.100, n.4, p.807-808, 2017.

MOYA-RAYGOZA, G.; TRUJILLO-ARRIAGA, J. Dryinid (Hym.: Dryinidae) parasitoids of *Dalbulus* leafhopper (Hom.: Cicadellidae) in Mexico. **Entomophaga**, v.38, n.1, p.41-49, 1993.

NAULT, L.R. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. **Annals of the Entomological Society of America**, v.90, n.5, p.521-541, 1997.

NAULT, L.R. Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogens host ranges, and vectors. **Phytopathology**, v.70, p.659-662, 1980.

NAULT, L.R.; DELONG, D.M.; TRIPLEHORN, B.W.; STYER, W.E.; DOEBLEY, J.F. More on the association of *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae) with Mexican Tripsacum (Poaceae), including the description of two new species of leafhoppers. **Annals of the Entomological Society of America**, v.76, n.2, p.305- 309, 1983.

NAULT, L.R.; MADDEN, L.V.; STYER, W.E.; TRIPLEHORN, B.W.; SHAMBAUGH, G.F.; HEADY, S.E. Phyto-genicity of corn stunt spiroplasma and maize bushy stunt mycoplasma to their vector, *Dalbulus longulus*, **Phytopathology**, v.74, n.8, 1984; DOI: 10.1094/Phyto-74-977.

NAUT, L. R. *Dalbulus maidis* identification, biology, ecology and pest status. In: CASELA, C. R.; RENFRO, R. B.; KRATTIGER, A. F (Ed.). **Diagnosing maize diseases in Latin America**. Ithaca: ISAAA; Brasília: Embrapa, p.18- 21 (ISAAA Briefs , 9), 1998.

NOGUEIRA, G.C.; YOCIO, J.M.; OLIVEIRA, M. D.C.S. de. **Controle e manejo da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) no Brasil**. Trabalho de Conclusão de Curso, Ciências Biológicas. Universidade Anhembí Morumbi, São Paulo, 2022. Disponível em: <https://repositorio-api.animaeducacao.com.br/server/api/core/bitstreams/1321fd86-a38b-4de1-b613-d16649d01ca6/content>. Acesso em: 09 Nov. 2024.

OERKE, E.C. Crop losses to pests. **Journal of Agricultural Science**, v.144, n.1, p.31-43, 2006.

OLESKOWICZ-POPIEL, P.; LISIECKI, P.; HOLM-NIELSEN, J.B.; THOMSEN, A.B.; THOMSEN, M.H. Ethanol production from maize silage as lignocellulosic biomass in

anaerobically digested and wet-oxidized manure. **Bioresource Technology**, v.99, n.13, p.5327-5334, 2008.

OLIVEIRA, C.M. de; OLIVEIRA, E.; CANUTO, M.; CRUZ, I. Controle químico da cigarrinha-do-milho e incidência dos enfezamentos causados por molicutes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 3, p. 297-303, 2007b.

OLIVEIRA, C.M. **Variação genética entre populações de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae) e mecanismos de sobrevivência na entressafra do milho**. 167f. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

OLIVEIRA, C.M.; FRIZZAS, M.R. Eight decades of *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera, Cicadellidae) in Brazil: what we know and what we need to know. **Neotropical Entomology**, v.51, n.1, p.1-17, 2022.

OLIVEIRA, C.M.; LOPES, J.R.; NAULT, L.R. Survival strategies of *Dalbulus maidis* during maize off-season in Brazil. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.147, n.2, p.141-153, 2013.

OLIVEIRA, C.M.; LOPES, J.R.S. Cigarrinha-do-milho: aspectos taxonômicos e ecológicos, sobrevivência na entressafra. In: OLIVEIRA, E. de; OLIVEIRA, C.M. de (Ed.). **Doenças em milho: molicutes, vírus, vetores, mancha por *Phaeosphaeria***. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p.61-88, 2004.

OLIVEIRA, C.M.; SABATO, E.O. (Ed.). **Doenças em milho: insetos-vetores, molicutes e vírus**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 278 p.

OLIVEIRA, E.D.E.; OLIVEIRA, C.M.D.E.; SOUZA, I.R.P.D.E.; MAGALHÃES, P.C.; CRUZ, I. Enfezamentos em milho: expressão de sintomas foliares, detecção dos molicutes e interação com genótipos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, n.1, p.53-62, 2002.

OLIVEIRA, E.; PAIVA, F.A. Diagnose e manejo dos enfezamentos causados por molicutes. In: OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M. (Ed.). **Doença em milho: molicutes, vírus, vetores e mancha por *Phaeosphaeria***. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.133-146, 2004.

OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, A.C. Incidência de enfezamentos e da risca (Maize rayado fina vírus - MRV) em milho em diferentes épocas de plantio e relação entre a expressão de sintomas foliares de enfezamentos e produção. **Summa Phytopathologica**, v.29, p.221-224, 2003.

OLIVEIRA, E.; SANTOS J.C.; MAGALHÃES, P.C.; CRUZ, I. Maize bushy stunt phytoplasma transmission is affected by spiroplasma acquisition and environmental conditions. **Bulletin of Insectology**, v. 60, n. 2, p. 229-230, 2007.

OLIVEIRA, E.; WAQUIL, J.M.; FERNANDES, F.T.; PAIVA, E.; RESENDE, R.O.; KITAJIMA, E.W. “Enfezamento pálido” e “Enfezamento vermelho” na cultura do milho no Brasil Central. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, n.1, p.45-47, 1998.

OSHIMA, K.; KAKIZAWA, S.; NISHIGAWA, H.; JUNG, H.; WEI, W.; SUZUKI, S.; ARASHIDA, R.; NAKATA, D.; MIYATA, S.; UGAKI, M.; NAMBA, S. Reductive evolution

suggested from the complete genome sequence of a plant-pathogenic phytoplasma. **Nature Genetics**, v.36, n.1, p.27-29, 2004.

OSHIMA, K.; MAEJIMA, K.; NAMBA, S. Genomic and evolutionary aspects of phytoplasmas. **Frontiers in Microbiology**, v.4, p.1-8, 2013.

ÖZBEK, E.; MILLER, S.A.; MEULIA, T.; HOGENHOUT, S.A. Infection and replication sites of *Spiroplasma kunkelii* (Class: Mollicutes) in midgut and Malpighian tubules of the leafhopper *Dalbulus maidis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.82, n.3, p.167-175, 2003.

PATERNIANI, E.; NASS, L.L; SANTOS, M.X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil. In: UDRY, C.V.; DUARTE, W. (Orgs.). **Uma história brasileira do milho - o valor dos recursos genéticos**. Brasília, Paralelo 15 Editores, 2000. 136 p.

PRADO RIBEIRO, L. DO; CANALE, M.C. Cigarrinha-do-milho e o complexo de enfezamentos em Santa Catarina: panorama, patossistema e estratégias de manejo. **Agropecuária Catarinense**, v.34, n.2, p.22-25, 2021

PRESTES, I.D.; ROCHA, L.O.; NUÑEZ, K.V.M.; SILVA, N.C.C. Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências. **Scientia Agropecuaria**, v.10, p.559-570, 2019.

PUTERKA, G.J.; HUMBER, R.A.; POPRAWSKI, T.J. Virulence of fungal pathogens (Imperfect fungi: Hyphomycetes) to pear psylla (Homoptera: Psyllidae). **Environmental Entomology**, v.23, n.2, p.514-520, 1994.

QUINLAN, R.J.; GATEHOUSE, A.G. Characteristics and implications of knockdown of the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans* Westw. by deltamethrin. **Pesticide Science**, v.12, n.4, p.439-442, 1981.

RANUM, P.; PEÑA-ROSAS, J.P.; GARCIA-CASAL, M.N. Global maize production, utilization, and consumption. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1312, n.1, p.105-112, 2014.

RAZIN, S.; YOGEV, D.; NAOT, Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. **Microbe Magazine**, v.4, p.1094-1156, 1998.

REGASSA, L.B.; GASPARICH, G.E. Spiroplasmas: Evolutionary relationships and biodiversity. **Frontiers in Bioscience**, v.11, p.2983-3002, 2006.

REHMAN, F. U.; ADNAN, M.; KALSOOM, M.; NAZ, N.; HUSNAIN, M.G.; ILAHI, H.; ILYAS, M.A.; YOUSAF, G.; TAHIR, R.; AHMAD, U. Seed-borne fungal diseases of Maize (*Zea mays* L.): A review. **Agriana: Jurnal Agroteknologi Dan Perkebunan**, v.4, n.1, p.43-60, 2021.

RIBEIRO JUNIOR, L.F. **Performance de fungos entomopatogênicos no controle das principais pragas do milho em condições de cerrado**. Dissertação (Mestrado), Universidade de Rio Verde, 2020.

RIBEIRO, J.P.F; TELES, J.B.Q; NUNES, P.S; SILVA, G.M.; PEREIRA, J.L. Tratamento de sementes no controle de *Dalbulus maidis* no milho. In: Congresso Técnico-Científico da Engenharia e da Agronomia (Contecc), 2021. Disponível em: <https://www.confec.org.br/>

midias/uploads-imce/Contecc2021/Agronomia/TRATAMENTO%20DE%20SEMENTES%20NO%20CONTROLE%20DE%20DALBULUS%20MAIDIS%20NO%20MILHO.pdf. Acesso em: 09 Nov. 2024.

RINALDI, A.J. **Análise de componentes moleculares da espuma e da toxina presente na glândula salivar de cigarrinha das pastagens**. 51 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Aplicada) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2021.

SABATO, E. de O.; BARROS, A.C. da S.; OLIVEIRA, I.R. de (Ed.). **Cenário e manejo de doenças disseminadas pela cigarrinha no milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 8 p.

SABATO, E.O.; OLIVEIRA, C. M. de; SILVA, R. B. Q. da. **Transmissão dos agentes causais de enfezamentos através da cigarrinha *Dalbulus maidis*, em milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica 209, 2015. 8 p.

SABATO, E.O. Enfezamentos do milho. In: OLIVEIRA, C.M.; SABATO, E.O (Eds). **Doenças em milho: insetos-vetores, mollicutes e vírus**. Brasília, DF: EMBRAPA CNMS, p.11-24, 2017.

SABATO, E.O.; PINTO, N.F.J.A.; FERNANDES, F.T. **Identificação e controle de doenças do milho**. 2. Ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2013. 145 p.

SANTANA JÚNIOR, P.A.; KUMAR, L.; DA SILVA, R.S.; PEREIRA, J.L.; PICAÑO, M.C. Assessing the impact of climate change on the worldwide distribution of *Dalbulus maidis* (DeLong) using MaxEnt. **Pest Management Science**, v.75, n.10, p.2706-2715, 2019.

SILVA, D.D. da; COTA, L.V.; MEIRELLES, W.F.; SOUZA, I.R.P. de; AGUIAR, F.M.; OLIVEIRA, I.R. de; COSTA, R.V. da; MENDES, S.M. **Problemas fitossanitários ocorridos em lavouras de milho na região de Marechal Cândido Rondon, Oeste do Paraná, na safra 2018/2019 e safrinha 2019**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, Nota técnica. 2019. 23 p.

SILVA, D.D.; SOUZA, I.R.P.; OLIVEIRA, I.R.; MENDES, S.M.; COTA, L.V.; COSTA, R.V.; OLIVEIRA, C.M.; MEIRELLES, W.F.; BORDIN, I.; BIANCO, R.; ANDROCIOLI, H.G.; SILVA, M.R.L.; LEMISKA, A.; ARAÚJO, M.M. **Protocolos para experimentação, identificação, coleta e envio de amostras da cigarrinha *Dalbulus maidis* e de plantas com enfezamentos em milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2021. 23p.

SILVA, R.G.; GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V.; DE OLIVEIRA, E. Controle genético da resistência aos enfezamentos do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.8, p.921-928, 2003.

SILVA-PINHEIRO, L.; SILVA, R. C.; CONCEIÇÃO-VIEIRA, R.; AGUIAR, R. O.; NASCIMENTO, M. R.; VIEIRA, M.M.; SOUSA, R.F.; OLIVEIRA, J.T.; SILVA, J.N.; SILVA, V.F.A.; SILVA, P.A. Análise de trilha dos atributos físicos de milho (*Zea mays* L.) em sistema de cultivo convencional. **Research, Society and Development**, v.10, n.1, p.e8010110832-e8010110832, 2021.

SILVEIRA, C.H. **Eficácia de inseticidas no controle de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) e da transmissão de espiroplasma do milho**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

SILVEIRA, D.C.; BONETTI, L.P.; TRAGNAGO, J.L.; NETO, N.; MONTEIRO, V. Caracterização agromofológica de variedades de milho crioulo (*Zea mays* L.) na região noroeste do Rio Grande do Sul. **Ciência & Tecnologia**, v.1, n.1, p.01-11, 2015.

SMITH, B.D. Documenting plant domestication: The consilience of biological and archaeological approaches. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.98, n.4, p.1324-1326, 2002.

TALAMINI, V.; SABATO, E.O.; OLIVEIRA, F.A. Viroses na cultura do milho no Brasil. In: OLIVEIRA, C.M. de; SABATO, E. de O. (Ed.). **Doenças em milho: insetos-vetores, mollicutes e vírus**. Brasília, DF: Embrapa. p.387-403. 2017.

TOLEDO, A.V.; LENICOV, A.M.M.R.; LASTRA, C.C.L. Pathogenicity of fungal isolates (Ascomycota: Hypocreales) against *Peregrinus maidis*, *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae), and *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae), vectors of corn diseases. **Mycopathologia**, v.163, p.225-232, 2007.

TRIAPITSYN, S.V. The genus *Anagrus* (Hymenoptera: Mymaridae) in America south of the United States: a review. **Ceiba**, v. 38, n.1, p.1-12, 1997.

TRIPLEHORN, B.W.; NAULT, L.R. Phylogenetic classification of the genus *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae), and notes on the phylogeny of the Macrostelini. **Annals of the Entomological Society of America**, v.78, n.3, p.291-315, 1985.

TSAI, Y.-M.; CHANG, A.; KUO, C.-H. Horizontal gene acquisitions contributed to genome expansion in insect-symbiotic *Spiroplasma clarkii*. **Genome Biology and Evolution**, v.10, n.6, p.1526-1532, 2018.

VAN LENTEREN, J.C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W.J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **Biocontrol**, v.63, p.39-59, 2018.

VAN NIEUWENHOVE, G.A.; FRÍAS, E.A.; VIRLA, E.G. Effects of temperature on the development, performance and fitness of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong) (Hemiptera: Cicadellidae): Implications on its distribution under climate change. **Agricultural and Forest Entomology**, v.18, n.1, p.1-10, 2016.

VIDAL, M.F. Produção e mercado de etanol. **Caderno Setorial ETENE**, ano 5, p.1-10, 2020.

VIRLA, E.G.; ESPINOSA, M.S.; MOYA-RAYGOZA, G. First host record for *Anteon pilicorne* (Ogloblin) (Hymenoptera Dryinidae), a parasitoid of Cicadellidae, including the corn leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae). **Neotropical Entomology**, v.40, n.2, p.285-287, 2011.

VIRLA, E.G.; OLMÍ, M. Dryinidae (Hymenoptera: Chrysidoidea) parasitoids of the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), in Argentina, with description of the male of *Gonatopus moyaraygozai* Olmi. **Interciencia**, v.32, n.12, p.847-849, 2007.

WALKER, G.M.; STEWART, G.G. *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. **Beverages**, v.2, p.30, 2016.

WAQUIL, J.M. amostragem e abundância de cigarrinhas e danos de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae) em plântulas de milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.26, n.1, p. 27-33, 1997.

WAQUIL, J.M. **Cigarrinha-do-milho**: vetor de mollicutes e virus. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. EMBRAPA, Circular Técnica, n. 41, 2004.

WAQUIL, J.M.; VIANA, P.A.; CRUZ, I.; SANTOS, J.P. Ecologia, comportamento e bionomia. Aspectos da biologia da cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, n.3, p.413-420, 1999.

WEINTRAUB, P.G; BEANLAND, L. Insect vectors of phytoplasmas. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.91-111, 2006.

WHITCOMB, R.F.; CHEN, T.A.; WILLIAMSON, D.L.; LIAO, C.; TULLY, J.G.; BOVE, J.M.; MOUCHES, C.; ROSE, D.L.; COAN, M.E.; CLARK, T.B. *Spiroplasma kunkelii* sp. nov.: characterization of the etiological agent of corn stunt disease. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.36, n.2, p.170-178, 1986.

WILLIAMSON, D.L.; WHITCOMB, R.F.; JOSEPH, G.T.; KEVIN, J.; CHASTE, C.; FRENCH, F.E. Revised group classification of the genus. **International Journal of Bacteriology**, v.48, p.1-12, 1998.

WinFOLIA. 2014. WinFOLIA **Software Program for leaf analysis**. v. Reg. 2014a. Regent Instruments Inc.

WOESE, C.R. Bacterial evolution. **Microbiological Reviews**, v.51, n.2, p. 221-271, 1987.

WORDELL FILHO, J.A.; RIBEIRO, L. do P.; CHIARADIA, L.A.; MADALÓZ, J.C.; NESI, C.N. **Pragas e doenças do milho**: Diagnose, danos e estratégias de manejo. Florianópolis: Epagri, 2016. 82 p. Boletim Técnico, 170.

ZURITA V., Y.A.; ANJOS, N. dos; WAQUIL, J.M. Aspectos biológicos de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) em híbridos de milho (*Zea mays* L.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n.2, p.347-352, 2006.