

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

WÍLLIAM IORDI DOS ANJOS

CONTROLE MICROBIANO DA CIGARRINHA-DO-MILHO *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) COM OS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Cordyceps fumosorosea* e *Beauveria bassiana* SEUS EFEITOS SOBRE O COMPLEXO DE ENFEZAMENTOS DA CULTURA DO MILHO E IMPACTO SOBRE A PRODUTIVIDADE

PONTA GROSSA  
2023

WÍLLIAM IORDI DOS ANJOS

CONTROLE MICROBIANO DA CIGARRINHA-DO-MILHO *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) COM OS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Cordyceps fumosorosea* e *Beauveria bassiana* SEUS EFEITOS SOBRE O COMPLEXO DE ENFEZAMENTOS DA CULTURA DO MILHO E IMPACTO SOBRE A PRODUTIVIDADE

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez

PONTA GROSSA  
2023

A599 Anjos, William Iordí dos  
Controle microbiano da cigarrinha-do-milho *Dalbulus maidis*  
(DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) com os fungos  
entomopatogênicos *Cordyceps fumosorosea* e *Beauveria bassiana* seus efeitos  
sobre o complexo de enfezamentos da cultura do milho e impacto sobre a  
produtividade / William Iordí dos Anjos. Ponta Grossa, 2023.  
63 f.

Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração: Fitotecnia e  
Fitossanidade), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez.

1. *Dalbulus maidis*. 2. Controle microbiano. 3. Enfezamentos. 4. Milho. 5.  
Produtividade. I. Sosa-Gómez, Daniel Ricardo. II. Universidade Estadual de Ponta  
Grossa. Fitotecnia e Fitossanidade. III.T.

CDD: 633



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

### **Declaração - MS-AGRONOMIA**

**Título da Dissertação: “CONTROLE MICROBIANO DA CIGARRINHA-DO-MILHO *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) COM OS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Cordyceps fumosorosea* e *Beauveria bassiana* SEUS EFEITOS SOBRE O COMPLEXO DE ENFEZAMENTOS DA CULTURA DO MILHO E IMPACTO SOBRE A PRODUTIVIDADE”.**

Nome: **William Iordi dos Anjos**

Orientador: **Daniel Ricardo Sosa-Gómez**

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez

Prof. Dr. Orcial Ceolin Bortolotto

Dr. Charles Martins de Oliveira

Ponta Grossa 20 de junho de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Ricardo Sosa-Gómez**, **Usuário Externo**, em 04/07/2023, às 11:08, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Charles Martins de Oliveira**, **Usuário Externo**, em 04/07/2023, às 14:46, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Orcial Ceolin Bortolotto, Professor(a)**, em 06/07/2023, às 10:12, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.

---



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **1496904** e o código CRC **CODE2202**.

---

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela concretização de mais este objetivo, por me conceder saúde e sabedoria para seguir sempre em frente.

Aos meus pais, que auxiliaram na formação do meu caráter, me apontando a direção certa, meu eterno agradecimento pelo apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Ao professor e orientador Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez pela dedicação, apoio e compreensão durante o período de orientação

À minha esposa Amanda, por todo amor, carinho, compreensão e apoio em todos os momentos desta caminhada. Obrigado por estar ao meu lado.

Agradeço à empresa da qual faço parte, Fundação ABC - Pesquisa e Desenvolvimento Agropecuário, pela liberdade e apoio na concretização de mais uma etapa em minha carreira profissional. Em especial ao setor de Entomologia que me ofereceu total apoio, sendo compreensível nos momentos em que necessitei me ausentar das atividades.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) pela oportunidade de fazer parte do seu corpo docente.

Aos colegas Elderson Ruthes, Patricia Aparecida Calisz Baptista, Eliezer Ferreira Silva, Leonardo Machado Bembem, Dioclesio Ricardo Dalzotto, Edson Giovanni Kochinski, Giovana Paola Teixeira Bochnia e Lucas Haiduki pelo incentivo e contribuição positiva no desenvolvimento deste trabalho.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

## RESUMO

ANJOS, W. I. dos. **Controle microbiano da cigarrinha-do-milho *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) com os fungos entomopatogênicos *Cordyceps fumosorosea* e *Beauveria bassiana* seus efeitos sobre o complexo de enfezamentos cultura do milho e impacto sobre a produtividade.** 2023. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2023.

A cigarrinha-do-milho *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) tem se tornado um desafio para o manejo de pragas na cultura do milho como vetor dos enfezamentos. Neste contexto, é fundamental compreender a dinâmica de ocorrência da doença e sua relação com os danos ocasionados na cultura do milho, de modo a nortear o manejo do inseto-vetor. Esta pesquisa se propõe a entender como o controle microbiano com os fungos *Cordyceps fumosorosea* e *Beauveria bassiana* pode ser utilizado no manejo da cigarrinha-do-milho e seus efeitos na redução do complexo de enfezamentos na cultura do milho. Para isso, realizaram-se experimentos a fim de avaliar a eficácia dos inseticidas biológicos (Octane, FlyControl, Ecobass, Ballvéria e Bometil) em pulverizações isoladas, intercaladas ou associadas ao acefato na redução populacional do inseto-praga, atestar a patogenicidade dos fungos presentes nos inseticidas biológicos e seus efeitos sobre a incidência dos enfezamentos. Além disso, monitorou-se a densidade populacional de *D. maidis* durante as safras e entressafra por meio de armadilhas amarelas instaladas no entorno da área de condução do ensaio e os insetos coletados foram submetidos a teste de PCR em laboratório para verificar a presença dos patógenos. As pulverizações foliares tiveram baixa eficácia no controle de adultos de *D. maidis*. A incidência de enfezamentos foi superior quando as plantas conviveram com uma maior densidade populacional da praga nos estádios iniciais de desenvolvimento. Análises de laboratório indicaram a prevalência de fitoplasma em relação ao espiroplasma nas plantas de milho, em contrapartida, as cigarrinhas analisadas não apresentaram prevalência de espiroplasma ou fitoplasma. A média de cigarrinhas infectadas com fungos pela pulverização de inseticidas a base de *B. bassiana* foi de 25,7%, a associação de *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae* infectou 74% das cigarrinhas coletadas, ao passo que *C. fumosorosea* resultou em 35% de infecções. Os tratamentos que proporcionaram os maiores rendimentos na safra 2021/2022 foram Octane intercalado com acefato com 743 kg ha<sup>-1</sup>, seguido de acefato com 558 kg ha<sup>-1</sup> e Ecobass intercalado com acefato com 477,2 kg ha<sup>-1</sup>. Na média a produtividade dos tratamentos biológicos isolados foi de 300 kg ha<sup>-1</sup>, enquanto a utilização intercalada de biológicos e químicos resultou em 516 kg ha<sup>-1</sup>. Enquanto na safra 2022/2023 os tratamentos Ballvéria (100) e FlyControl (500) obtiveram os maiores saldos de produtividade com 666,8 e 616,6 kg ha<sup>-1</sup>. Na pulverização associada entre inseticidas biológicos e químicos, o tratamento acefato (1000) + Ballvéria (100) apresentou um saldo de 768,3 kg ha<sup>-1</sup>, sendo 104,5 kg ha<sup>-1</sup> superior ao tratamento de acefato (1000) + Octane (500) e 187,1 kg ha<sup>-1</sup> superior ao tratamento com acefato (1000) + FlyControl (100). Pode-se concluir que os fungos *C. fumosorosea* e *B. bassiana* apresentam-se como promissores agentes de controle de *D. maidis* e fornecem bases para a utilização de inseticidas biológicos no manejo da cigarrinha-do-milho aplicados de forma isolada ou em associação com os inseticidas químicos.

**Palavras-chave:** *Dalbulus maidis*; enfezamentos; controle microbiano; milho.

## ABSTRACT

ANJOS, W. I. dos. **Microbial control of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) with the entomopathogenic fungi *Cordyceps fumosorosea* and *Beauveria bassiana* their effects on the corn stunt complex and impact on production.** 2023. Dissertação (Master Science in Agronomy) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2023.

The corn leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) has become a challenge for the management of pests in the corn crop as a vector of stunting. In this context, it is essential to understand the dynamics of disease occurrence and its relationship with the damage caused to the corn crop, in order to guide the management of the insect vector. This research aims to understand how microbiological control with the fungi *Cordyceps fumosorosea* and *Beauveria bassiana* can be used in the management of the corn leafhopper and its effects in reducing the stunting complex in the corn crop. For this, experiments were carried out in order to evaluate the effectiveness of biological insecticides (Octane, FlyControl, Ecobass, Ballveria and Bometil) in isolated spraying, intercalated or associated with acephate in reducing the population of corn leafhopper, attesting to the pathogenicity of the fungi present in biological insecticides and their effects on the incidence of stunting. In addition, the population density of *D. maidis* was monitored during the crops of grain and intercrop period through yellow traps installed around the area where the test was conducted and the collected insects were submitted to a PCR test in the laboratory to verify the presence of stunting. Foliar sprays had low efficacy in controlling adults of *D. maidis*. The incidence of stunting was higher when the plants coexisted with a high population density of the pest in the early stages of development. Laboratory analyzes indicated the prevalence of phytoplasma in relation to spiroplasma in corn plants, on the other hand, the leafhoppers analyzed did not show prevalence of spiroplasma or phytoplasma. The average number of leafhoppers infected with fungi after spraying *B. bassiana* was 25,7%, the association of *B. bassiana* and *Metarhizium anisopliae* caused infection on 74% of the collected leafhoppers, while *C. fumosorosea* resulted in 35% of infections. The treatments that resulted highest yields in the 2021/2022 crop year were Octane intercalated with acephate with 743 kg ha<sup>-1</sup>, followed by acephate with 558 kg ha<sup>-1</sup> and Ecobass intercalated with acephate with 477,2 kg ha<sup>-1</sup>. On average, the isolated biological treatments resulted an economic result of 300 kg ha<sup>-1</sup>, while the intercalated use of biological and chemical treatments resulted in 516 kg ha<sup>-1</sup>. While in the 2022/2023 crop year, Ballveria (100) and FlyControl (500) treatments had the highest productivity balances with 666,8 and 616,6 kg ha<sup>-1</sup>. In the spraying associated with biological and chemical insecticides, the acephate (1000) + Ballveria (100) treatment showed a balance of 768,3 kg ha<sup>-1</sup>, being 104,5 kg ha<sup>-1</sup> higher than the acephate (1000) + Octane treatment (500) and 187,1 kg ha<sup>-1</sup> higher than treatment with acephate (1000) + FlyControl (100). In conclusion *C. fumosorosea* and *B. bassiana* are promising agents for the control of *D. maidis* and provide bases for the use of biological insecticides in the management of corn leafhopper applied in isolation or in association with chemical insecticides.

**Keywords:** *Dalbulus maidis*; stunting; microbiological control; corn.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Processo infectivo de artrópode suscetível por um fungo entomopatogênico .....	20
Figura 2 – Armadilhas adesivas posicionadas na área experimental para monitoramento populacional da cigarrinha-do-milho ( <i>Dalbulus maidis</i> ), Itaberá-SP.....	28
Figura 3 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas em comparação ao número médio de cigarrinhas nas plantas da testemunha no estágio vegetativo da cultura do milho durante a safra 2021/2022, híbrido DKB 290 PRO3, Itaberá-SP.....	32
Figura 4 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas nos estádios reprodutivos da cultura do milho durante a safra 2021/2022, híbrido DKB 290 PRO3, Itaberá-SP.....	33
Figura 5 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas durante a entressafra na cultura da aveia preta, Itaberá-SP.....	34
Figura 6 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas em comparação ao número médio de cigarrinhas nas plantas da testemunha no estágio vegetativo da cultura do milho durante a safra 2022/2023, híbrido DKB 360 PRO3, Itaberá-SP.....	35
Figura 7 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas nos estádios reprodutivos da cultura do milho durante a safra 2022/2023, híbrido DKB 360 PRO3, Itaberá-SP.....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Inseticidas, ingredientes ativos e doses utilizadas na safra 2021/2022 em Itaberá-SP.....	24
Tabela 2 – Descrição dos tratamentos e programas de manejo adotados no controle da cigarrinha na safra 2021/2022 em Itaberá-SP.....	25
Tabela 3 – Descrição dos tratamentos e programas de manejo adotados no controle da cigarrinha na safra 2022/2023 em Itaberá-SP.....	26
Tabela 4 – Escala de notas utilizadas na avaliação de severidade de enfezamentos.....	30
Tabela 5 – Número de cigarrinhas por planta de milho nos diferentes momentos de avaliação e valores acumulados de cigarrinhas na safra 2021/2022 em Itaberá-SP.....	37
Tabela 6 – Número de cigarrinhas por planta de milho nos diferentes momentos de avaliação e valores acumulados de cigarrinhas na safra 2022/2023 em Itaberá-SP.....	40
Tabela 7 – Porcentagem de cigarrinhas infectadas com fungos aos sete dias após a quinta pulverização na safra 2022/2023 em Itaberá-SP. ....	41
Tabela 8 – Incidência e índice de plantas com enfezamento no estágio R4 durante a safra 2021/2022, híbrido DKB 290 PRO3, Itaberá-SP. ....	44
Tabela 9 – Incidência e índice de plantas com enfezamento no estágio R4 durante a safra 2022/2023, híbrido DKB 360 PRO3, Itaberá-SP. ....	46
Tabela 10 – Determinação da concentração de fungos entomopatogênicos e contaminantes presentes nos inseticidas testados em comparação as especificações comerciais dos produtos.....	48
Tabela 11 – Determinação da concentração e viabilidade dos conídios presentes no inseticida testado em comparação as especificações comerciais dos produtos. ....	48
Tabela 12 – Produtividade, saldo e resultado econômico na comparação entre os manejos adotados na safra 2021/2022, híbrido DKB 290 PRO3, Itaberá-SP.....	50
Tabela 13 – Produtividade, saldo e resultado econômico na comparação entre os manejos adotados na safra 2022/2023, híbrido DKB 360 PRO3, Itaberá-SP.....	52

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 HIPÓTESE E OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
2.1 HIPÓTESE .....	13
2.2 OBJETIVO GERAL.....	13
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>14</b>
3.1 CIGARRINHA-DO-MILHO <i>Dalbulus maidis</i> .....	14
3.2 ENFEZAMENTOS DO MILHO .....	15
3.2 FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS .....	19
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	24
4.1.1 Experimentos conduzidos na safra 2021/2022 .....	24
4.1.2 Experimentos conduzidos na safra 2022/2023 .....	26
4.2 CONTROLE DE QUALIDADE DE BIOPRODUTOS.....	27
4.3 COLETA DE CIGARRINHAS EM ARMADILHAS ADESIVAS .....	28
4.4 CONTAGEM DE CIGARRINHAS.....	29
4.5 RECUPERAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NOS INSETOS .....	29
4.6 COMPLEXO DE ENFEZAMENTOS .....	30
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>32</b>
5.1 MONITORAMENTO DE CIGARRINHAS.....	32
5.1.1 Experimentos conduzidos na safra 2021/2022 .....	32
5.1.2 Experimentos conduzidos na safra 2022/2023 .....	35
5.2 CONTAGEM DE CIGARRINHAS NAS PLANTAS DE MILHO .....	36
5.2.1 Experimentos conduzidos na safra 2021/2022 .....	36
5.2.2 Experimentos conduzidos na safra 2022/2023 .....	38
5.3 RECUPERAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NOS INSETOS .....	41

5.4 ENFEZAMENTOS .....	43
5.4.1 Experimentos conduzidos na safra 2021/2022 .....	43
5.4.2 Experimentos conduzidos na safra 2022/2023 .....	45
5.5 CONTROLE DE QUALIDADE DE BIOPRODUTOS.....	47
5.6 COMPONENTES DE RENDIMENTO E RESULTADO ECONÔMICO .....	49
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cigarrinha-do-milho *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), que até pouco tempo era considerada praga secundária do milho, tornou-se a mais importante e difundida praga do milho na região Neotropical (OLIVEIRA; FRIZZAS, 2022; NAULT, 1990). Embora o dano direto às plantas de milho pela sucção contínua de seiva possa ocorrer (VIRLA; ARAOZ; ALBARRACIN, 2021), os maiores prejuízos causados por *D. maidis* estão relacionados à sua capacidade de transmitir eficientemente patógenos causadores de doenças na cultura (LOPES; OLIVEIRA, 2004; OLIVERIA *et al.*, 2003)

A cigarrinha-do-milho destaca-se pela sua importância como inseto-vetor dos patógenos denominados espiroplasma, causador do enfezamento pálido (*Spiroplasma kunkelii*) e o fitoplasma, responsável pelo enfezamento vermelho (Maize bushy stunt phytoplasma) (NAULT, 1980).

O complexo de enfezamentos é responsável por grandes perdas econômicas na cultura do milho, seus danos podem refletir em redução no tamanho da planta, encurtamento de entrenós, diminuição da absorção e assimilação de nutrientes, menor capacidade de produção de fotoassimilados, espigas de tamanho reduzido, com falhas ou improdutivas, grãos malformados e chochos (OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013).

As perdas de produtividade associadas a eficácia de transmissão desses fitopatógenos deram a cigarrinha-do-milho o status de praga-chave nos sistemas de produção de milho (CARLONI *et al.*, 2013; JONES; MEDINA, 2020; NAULT, 1990).

A evolução do complexo de enfezamentos está diretamente relacionada à intensificação do sistema de produção da cultura do milho e à ampliação das épocas de semeadura (safra e segunda safra). O milho precoce, semeado entre o final de julho e início de setembro, predomina nos cultivos do sul do Brasil, enquanto no centro-oeste do Brasil predominam as semeaduras em fevereiro (milho tardio), enquanto em algumas regiões há uma terceira safra semeada no mês de maio. Dados recentes indicam que 75% das áreas de milho são semeadas na segunda safra (CONAB, 2021).

A grande quantidade de milho voluntário (tiguera) na entressafra somada aos invernos mais amenos, possibilitaram a disponibilidade de plantas de milho por um maior período para a alimentação da cigarrinha contaminada com esses patógenos e resultando em modificações importantes na dinâmica populacional dessa praga. Devido à sua capacidade de deslocamento de longa distância (EBBERT; NAULT, 1994), a espécie pode migrar de uma região para

outra em busca de novas áreas com a presença da cultura do milho, espalhando os enfezamentos do milho (OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013).

O cenário para as próximas safras indica a necessidade de mudanças em relação ao manejo da cigarrinha-do-milho. Há a perspectiva de aumento das áreas cultivadas com milho (USDA, 2023) mantendo a oferta de alimento para a praga por um maior período, acarretando em danos mais agressivos à cultura e crescendo a importância de se adotar práticas de manejo assertivas. Ao passo que se discute a necessidade de buscar alternativas eficientes para o manejo desse inseto-vetor, a compreensão das características e potencial de fungos entomopatogênicos como agentes de controle da cigarrinha assume papel de destaque.

Vários fungos patogênicos para invertebrados foram amplamente comercializados e usados para controlar pragas agrícolas em todo o mundo (FARIA; WRAIGHT, 2007; VAN LENTEREN *et al.*, 2018), porém são necessários mais estudos para determinar a potencialidade dos fungos *C. fumosorosea* e *B. bassiana* no controle da cigarrinha-do-milho.

Diante da importância atual do complexo de enfezamentos transmitidos por *D. maidis*, buscou-se determinar a contribuição dos fungos *C. fumosorosea* e *B. bassiana* no manejo da cigarrinha-do-milho visando minimizar os prejuízos causados por essas doenças. Além de preencher algumas lacunas a respeito desse patossistema, discutindo a eficácia dos fungos entomopatogênicos na redução da população da cigarrinha-do-milho, seus efeitos sobre a transmissão dos enfezamentos e reflexos na produtividade da cultura do milho.

## 2 HIPÓTESE E OBJETIVOS

### 2.1 HIPÓTESE

Os inseticidas biológicos a base de fungos entomopatogênicos apresentam eficácia no controle da cigarrinha-do-milho, reduzem a incidência de enfezamento, garantem altos tetos de produtividade e servem como ferramenta dentro do manejo da cigarrinha-do-milho.

### 2.2 OBJETIVO GERAL

Determinar a eficácia dos fungos *B. bassiana* e *C. fumosorosea* no controle da cigarrinha-do-milho e caracterizar seus efeitos na redução do complexo de enfezamentos na cultura do milho.

### 2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a eficácia dos fungos *C. fumosorosea* e *B. bassiana* no controle da cigarrinha-do-milho e na redução da transmissão dos enfezamentos.

Avaliar a patogenicidade dos fungos *C. fumosorosea* e *B. bassiana* presente nos inseticidas biológicos.

Monitorar a densidade populacional de *D. maidis* durante a safra e entressafra.

Detectar a presença dos enfezamentos em plantas de milho e nas cigarrinhas-do-milho.

Avaliar o impacto da adoção de diferentes estratégias de manejo na produtividade de grãos e no resultado financeiro.

Fornecer bases para a utilização de inseticidas biológicos no manejo de *D. maidis* e reduzir a utilização de inseticidas químicos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CIGARRINHA-DO-MILHO *Dalbulus maidis*

A espécie *D. maidis* pertence à ordem Hemiptera, família Cicadellidae, subfamília Deltocephalinae e tribo Macrostelini (TRIPLEHORN; NAULT, 1985).

A cigarrinha-do-milho pode ser encontrada desde o sul do EUA até as regiões temperadas da Argentina (CARLONI *et al.*, 2013; TRIPLEHORN; NAULT, 1985). O gênero *Dalbulus* é composto atualmente por 13 espécies, contudo estudos realizados até o momento mostram que *D. maidis* é a única espécie com ocorrência no Brasil, correspondendo a 74% dos cicadélideos coletados em lavouras de milho plantadas entre as latitudes 5°S e 28°S e elevações entre 16m e 1.628m (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

O conhecimento da biologia e interações do inseto-vetor com os fitopatógenos é essencial na definição de estratégias de manejo desses vetores visando o controle das doenças que disseminam. A biologia da cigarrinha-do-milho apresenta importantes variações conforme a temperatura, híbrido de milho, variações intrapopulacionais e metodologia de estudo utilizada (DAVIS, 1966; MARÍN, 1987; TSAI, 1988; WAQUIL *et al.*, 1999; ZURITA; ANJOS; WAQUIL, 2000).

Os adultos de *D. maidis* possuem cerca de 3,7 a 4,3 mm de comprimento e apresentam duas manchas circulares negras facilmente visíveis na parte dorsal da cabeça (coroa) entre os olhos compostos (MARÍN, 1987; OLIVEIRA, 1996; TRIPLEHORN; NAULT, 1985), além de apresentarem pequenos espinhos nas tíbias das pernas posteriores, característica da família Cicadellidae (OLIVEIRA; SABATO, 2018). Possuem dois pares de asas transparentes com nervuras distribuídas longitudinalmente no comprimento das asas, ambos se estendendo um pouco além do abdome. As fêmeas geralmente são maiores que os machos e apresentam coloração homogênea em todo o corpo, enquanto os machos apresentam o abdome com coloração amarela, diferenciando-se do tórax e cabeça, que são mais opacos. Seu aparelho bucal é do tipo sugador labial com três segmentos e suas antenas são setáceas com filamento apical (OLIVEIRA; SABATO, 2018).

A longevidade dos adultos, conforme estudos em laboratório, mantidos a 27°C vivem 77,5 dias, podendo chegar a 106 dias em temperaturas próximas dos 15°C (TSAI, 1988).

A cigarrinha *D. maidis* realiza postura endofítica, ou seja, os ovos são colocados no interior do tecido vegetal das folhas, geralmente próximo da nervura central (WAQUIL, 2004), podendo ser depositados de forma isolada, em pares ou em grupos de cinco a seis ovos



(HEADY; MADDEN; NAULT, 1985). Apresentam um período de pré-oviposição entre 8,5 dias e período de oviposição de 29,6 dias (MARÍN, 1987). A fecundidade pode variar de 128 a 611 ovos por fêmea em temperaturas próximas dos 23°C (MARÍN, 1987) e 27°C (TSAI, 1988).

Estudos realizados em temperaturas de aproximadamente 23°C e umidade relativa de 83%, indicam a eclosão dos ovos em 8 dias e a fase ninfal compreendida por cinco ínstaes com duração total de 12,5 dias (MARÍN, 1987). Sendo a temperatura um fator muito influente no desenvolvimento do inseto, temos o aumento da população de cigarrinhas durante as épocas mais quentes do ano (primavera e verão), nessas condições o desenvolvimento embrionário e de ninfas é mais curto, atingindo o pico populacional de outubro a março (WAQUIL *et al.*, 1999). Dentre as espécies de *Dalbulus*, a cigarrinha-do-milho apresenta a maior fecundidade e o mais rápido período de desenvolvimento de ovo a adulto, sendo capaz de produzir, no mínimo, duas gerações durante o ciclo do milho (MADDEN *et al.*, 1986; NAULT; MADDEN, 1985; NAULT, 1990; TODD; MADDEN; NAULT, 1991).

No Brasil, o milho é conhecido como a única planta hospedeira de *D. maidis* (OLIVEIRA; FRIZZAS, 2022; OLIVEIRA; FRIZZAS; OLIVEIRA, 2020). Entende-se por planta hospedeira a espécie vegetal que permite que o inseto se abrigue, se alimente e reproduza, completando assim o seu ciclo biológico (BURCKHARDT *et al.*, 2014). Entretanto, durante os períodos de entressafra, a cigarrinha pode utilizar outras espécies de gramíneas para alimentação ou abrigo, porém sem se reproduzir, tais como trigo, sorgo, milheto, capim-colonião, braquiárias e capim-elefante, especialmente quando essas espécies são cultivadas próximas das lavouras de milho (OLIVEIRA; FRIZZAS; OLIVEIRA, 2020).

### 3.2 ENFEZAMENTOS DO MILHO

Os agentes causais das doenças do milho denominadas enfezamentos são dois microrganismos da classe Mollicutes, comumente denominados mollicutes: *Spiroplasma kunkelii* (Mollicutes-Spiroplasmataceae) (WHITCOMB *et al.*, 1986) e Maize bushy stunt fitoplasma (MBS-fitoplasma) (BEDENDO; DAVIS; DALLY, 1997). Esses microrganismos, geralmente referidos apenas por espiroplasma e fitoplasma, são procariontes sem parede celular e transmitidos de forma persistente-propagativa por espécies de cigarrinhas (BASCOPE-QUINTANILLA, 1977; NAULT, 1980).

Ao colonizar e se alojar nos vasos condutores do floema das plantas, o fitoplasma e o espiroplasma, causam deformações em estruturas vegetativas e reprodutivas das plantas de milho em decorrência das desordens hormonais, bioquímicas e fisiológicas que provocam nas plantas (ÁVILA *et al.*, 2022).

Quando a cigarrinha *D. maidis* se alimenta de plantas de milho infectadas com os mollicutes, adquire esses patógenos, que infectam e se multiplicam nesse inseto-vetor, atingindo as glândulas salivares (ALIVIZATOS; MARKHAN, 1986; OZBEK *et al.*, 2003).

Após a aquisição dos patógenos através da alimentação em plantas contaminadas com os enfezamentos, o inseto permanece infectivo o restante da sua vida, fator que caracteriza a transmissão persistente. Enquanto a característica propagativa, dá-se pela multiplicação e circulação dos patógenos no corpo do inseto vetor, embora a fêmea não transmita os patógenos para os seus descendentes (ALIVIZATOS; MARKHAM, 1986). O período necessário para a cigarrinha adquirir os enfezamentos ao se alimentar de uma planta contaminada ou período de acesso a aquisição (PAA), varia de 30 a 60 minutos para o espiroplasma enquanto para o fitoplasma esse período é de 60 a 120 minutos (ALIVIZATOS, MARKHAM, 1986; LEGRAND; POWER, 1994).

A cigarrinha necessita de três a quatro semanas para ser capaz de transmitir os patógenos às plantas após adquiri-los, intervalo de tempo chamado de período latente. Terminado o período latente inicia-se o período de acesso à inoculação (PAI), tempo necessário para *D. maidis* transmitir os mollicutes a uma planta sadia ao se alimentar, sendo de 30 minutos para o fitoplasma e 60 minutos para o espiroplasma. O período de retenção dos patógenos no inseto indica por quanto tempo a cigarrinha permanece infectiva, período esse relativamente longo (MOYA-RAYGOZA; NAULT, 1998; NAULT, 1980).

Os sintomas dos enfezamentos manifestam-se caracteristicamente, e em maior intensidade, nos estádios reprodutivos das plantas de milho (NAULT, 1980). O enfezamento pálido caracteriza-se pelo menor desenvolvimento dos entrenós da planta de milho, presença de manchas cloróticas na base das folhas que, posteriormente, coalescem e formam bandas grandes, planta com aspecto de enfezada devido à altura reduzida, formação de brotos nas axilas das folhas, além do colmo e das folhas adquirem cor avermelhada. O enfezamento vermelho caracteriza-se pela maior intensidade da cor vermelha nas folhas mais velhas, abundante perfilhamento nas axilas foliares e na base das plantas (BASCOPE-QUINTANILLA, 1977).

Ao infectar as plântulas de milho, o espiroplasma multiplica-se primeiro nas raízes (GUSSIE; FLETCHER; CLAYPOOL, 1995). A dinâmica da infecção das plântulas de milho

pelo fitoplasma não é conhecida, porém, esse mollicute foi observado em grande quantidade em células das raízes de plantas de milho que apresentavam enfezamento vermelho (BASCOPE-QUINTANILLA, 1977). As plantas infectadas desenvolveram menos raízes que as plantas saudáveis, e em condições de temperaturas altas (31°C durante o dia e 25°C durante a noite) morreram antes da maturidade. A seca precoce das plantas, no estágio de enchimento de grãos (OLIVEIRA *et al.*, 1998, 2002a), é, provavelmente, decorrente do dreno dos fotossintatos para o enchimento dos grãos que a planta consegue produzir, bem como da rápida perda da água acumulada nos tecidos.

As plantas de milho podem ser simultaneamente infectadas com espiroplasma e fitoplasma, porém não é possível diferenciar visualmente entre os dois tipos de enfezamento a nível de campo, exceto quando presentes os sintomas foliares característicos e inequívocos da infecção com espiroplasma, que são estrias cloróticas irregulares, tendendo ao branco, que se estendem da base em direção ao ápice das folhas (OLIVEIRA *et al.*, 2007a; OLIVEIRA; LANDAU; SOUSA, 2015).

Tanto o milho quanto a cigarrinha *D. maidis* podem ser simultaneamente infectados por *S. kunkelii* e por MBS-fitoplasma sendo que a consistência da transmissão simultânea de ambos e a manifestação de sintomas característicos do enfezamento pálido e/ou enfezamento vermelho variam para diferentes isolados, sob influência da temperatura ambiente (BASCOPE-QUINTANILLA, 1977; OLIVEIRA *et al.*, 2007a; OLIVEIRA; LANDAU; SOUSA, 2015).

As espigas das plantas de milho com enfezamento são menores que as espigas de plantas saudáveis. As plantas com enfezamento podem apresentar também proliferação de espigas pequenas que geralmente apresentam grãos esparsos, pequenos e chochos. A proporção de redução no tamanho das espigas e na produção de grãos é variável, dependendo do nível de resistência do híbrido e da idade da planta infectada, sendo maior quando as plantas são infectadas nos estágios iniciais de desenvolvimento. Redução no comprimento dos internódios e na altura das plantas de milho infectadas é comum (OLIVEIRA; SABATO, 2018).

As plantas de milho infectadas com espiroplasma ou com fitoplasma apresentam menores quantidades absorvidas de nutrientes e maior conteúdo de água nos tecidos (OLIVEIRA *et al.*, 2002b, 2005). A infecção por espiroplasma reduz a absorção de magnésio pelas plantas de milho (OLIVEIRA *et al.*, 2002b) e causa alterações ultraestruturais, danificando os cloroplastos dos tecidos foliares (NOME *et al.*, 2009). Mecanismos

bioquímicos e moleculares associados ao perfilhamento das plantas de milho infectadas com molicutes têm sido recentemente pesquisados (PECHER *et al.*, 2019).

A magnitude desses efeitos e a intensidade dos sintomas dependem do nível de resistência da cultivar de milho e são, aparentemente, proporcionais à multiplicação dos molicutes nos tecidos da planta, sendo mais intensos quando a infecção das plântulas ocorre nos estádios iniciais de desenvolvimento (MASSOLA JÚNIOR *et al.*, 1999).

Para diagnosticar danos causados pelos enfezamentos em lavouras de milho, é importante observar individualmente e acuradamente cada planta por inteiro, examinando primeiro as folhas superiores, perpassando pela espiga e posteriormente o aspecto geral do desenvolvimento das plantas (OLIVEIRA; SABATO, 2018).

A redução na produtividade de uma área cultivada é diretamente proporcional à incidência e severidade de plantas com enfezamento. Em híbridos de milho susceptíveis, os enfezamentos podem reduzir a produção de grãos em 70% quando comparadas plantas doentes em relação a plantas sadias (MASSOLA JÚNIOR *et al.*, 1999; OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013).

Em geral, lavouras com alta incidência de enfezamentos apresentam grande variação na altura das plantas e no tamanho das espigas. Na região oeste do Paraná, por exemplo, durante a safrinha de milho de 2019, observou-se que 50% das cigarrinhas coletadas continham espiroplasma e nenhuma das amostras apresentava o fitoplasma (COTA *et al.*, 2020) A avaliação da ocorrência dessas doenças em lavouras do Paraná durante a safrinha de milho de 2000, mostrou a incidência de plantas com sintomas variando de 6,2% a 49,9%, com média de 20,7% (OLIVEIRA *et al.*, 2002a). Nas regiões de Quirinópolis-GO (safrinha 1997), Paraguaçu-SP (safra 2001/2002), sudoeste de Santa Catarina e norte do Rio Grande do Sul (safra 2005/2006) tem se observado a ocorrência dos enfezamentos em incidências superiores a 70% causando danos expressivos em lavouras de milho (SABATO *et al.*, 2008).

Tem sido constatada alta incidência do complexo de enfezamentos no milho semeado tardiamente na safra de verão e também no milho safrinha (OLIVEIRA *et al.*, 1998, 2002a, 2003; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2003). A concentração do inseto-vetor dos molicutes em uma lavoura com plântulas jovens de milho aumenta a probabilidade de transmissão desses patógenos para as plântulas, porém, é importante lembrar que, para isso, esses insetos precisam estar portando os molicutes. A probabilidade das cigarrinhas serem portadoras dos molicutes aumenta conforme a incidência de plantas com enfezamentos presentes nas lavouras.

Embora a cigarrinha-do-milho e os enfezamentos sejam um problema grave em diversas regiões do Brasil, poucos estudos têm estimado quantitativamente os danos provocados por esses patógenos no Brasil. As estimativas de danos, em termos de perdas na produção e perdas econômicas, são essenciais para o dimensionamento dos problemas causados por *D. maidis* e pelos enfezamentos, auxiliando nas tomadas de decisão para reduzir os impactos negativos causados por essas doenças, bem como direcionar para a implementação de novas ações de pesquisa (OLIVEIRA; FRIZZAS, 2022).

### 3.2 FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

O controle de insetos-pragas por meio de agentes biológicos como os fungos entomopatogênicos é uma opção desejável para diminuir, e até evitar, pulverizações de inseticidas químicos e reduzir impactos ambientais (AHMED; LEATHER, 1994).

Os fungos entomopatogênicos são importantes ferramentas para serem utilizadas no programa de manejo de pragas, devido a características específicas como facilidade de manipulação, podem se estabelecer de maneira permanente no solo devido a sua capacidade de renovar o inóculo sobre insetos mortos e sua adaptação a diferentes ambientes, não induzem o desenvolvimento de resistência, são eficazes agentes de controle de pragas por sua capacidade de penetração direta através do tegumento, além de existir tecnologias para sua produção e formas de aplicação semelhantes aos inseticidas químicos (GARCIA; BOTELHO; MACEDO, 2009).

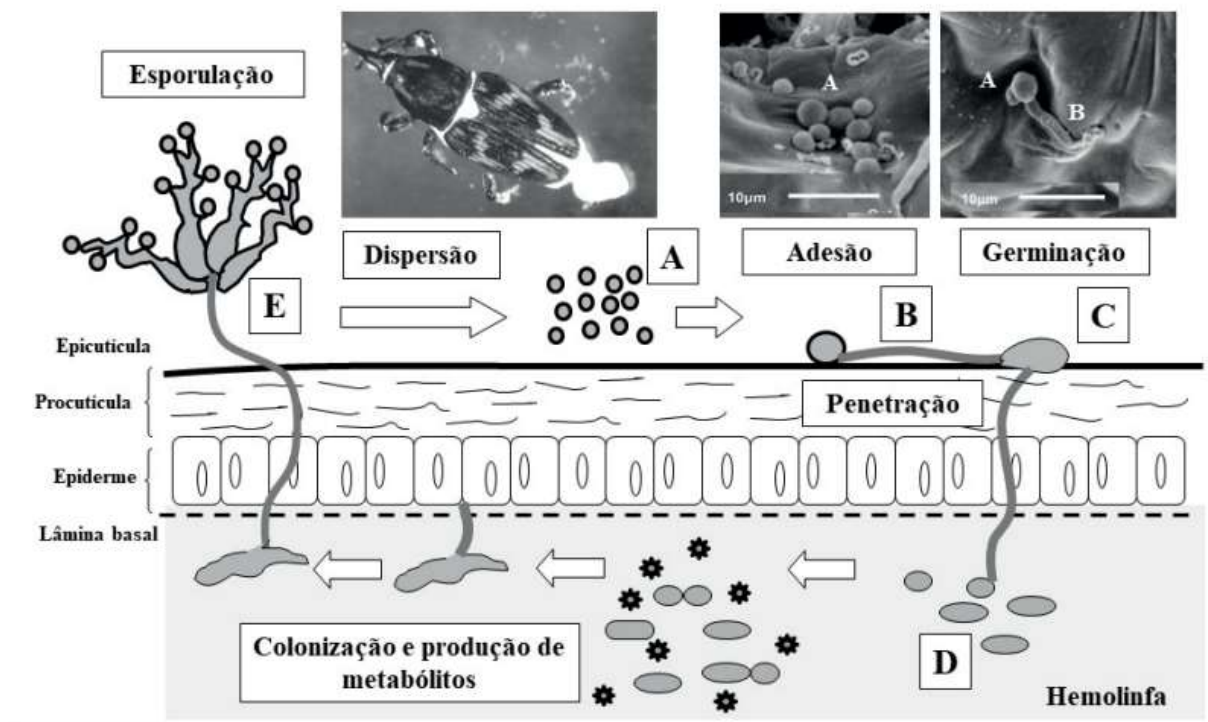
Os fungos entomopatogênicos são os principais causadores de epizootias nos insetos. Os fungos foram os primeiros agentes patogênicos a serem utilizados no controle microbiano de pragas e insetos da agricultura (ALVES, 1992).

Entre as principais vantagens do controle biológico de insetos-praga com fungos entomopatogênicos, pode-se citar o fato de que, geralmente, estes entomopatógenos são bastante específicos, não afetando os seres humanos (HANSON; HILJE, 1993). Atuam sobre uma gama de organismos, infectando os hospedeiros em diferentes estágios de seu desenvolvimento, tais como ovos, larvas, pupas e adultos, causam baixo impacto sobre o ambiente e sobre a fauna benéfica, possuem grande variabilidade genética e apresentam alta capacidade para evitar que os hospedeiros desenvolvam resistência. Ademais, a forma de reprodução dos fungos entomopatogênicos confere maior persistência ao longo do tempo, visto que o inseto morto se converte em uma nova fonte de inóculo (BHAN *et al.*, 2013;

DELGADO; MÚRCIA-ORDOÑEZ, 2011; FRANCE *et al.*, 2000; GUTIÉRREZ; CÁRDENAS; LEQUERQUE, 2017; MELO *et al.*, 2007; QUESADA-MORAGA; RUIZ-GARCÍA; SANTIAGO-ÁLVAREZ, 2006).

Diferem consideravelmente de outros agentes de controle biológico de artrópodes quanto ao processo de infecção, enquanto vírus e bactérias entomopatogênicos agem pela via oral, os fungos entomopatogênicos, por outro lado, agem por contato. A Figura 1 resume e ilustra didaticamente o ciclo do fungo entomopatogênico em um inseto hospedeiro. A infecção e posterior morte do organismo-alvo ocorrem quando uma quantidade mínima de células infectivas é depositada sobre a superfície corporal de um organismo suscetível. Uma vez sobre essa superfície, os propágulos germinam e atravessam a cutícula por meio de pressão mecânica e digestão da cutícula por enzimas hidrolíticas produzidas pelo fungo. Então, o fungo multiplica-se no interior do hospedeiro, libera toxinas e absorve os nutrientes, levando o hospedeiro à morte após alguns dias. Ao final do processo de infecção, o patógeno produz células infectivas sobre o cadáver, as quais poderão entrar em contato com novos hospedeiros e, caso as condições sejam favoráveis, dar início a um novo ciclo de infecção (FARIA, *et al.* 2021).

Figura 1 – Processo infectivo de artrópode suscetível por um fungo entomopatogênico



A – conídio; B – tubo germinativo; C – apressório; D – blastosporos; E – conidióforo

Além disso, a cigarrinha-do-milho possui como característica comportamental a capacidade de migrar por longas distâncias. Estudos no Brasil sugerem que ao final do ciclo do milho, parte da população de *D. maidis* deixa as plantas senescentes e migra para novos campos de milho a distâncias superiores a 20 km (OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013). Essa característica pode contribuir para a disseminação de fungos entomopatógenos permitindo que eles infectem populações em campos de milho distantes.

O uso desses agentes de controle biológico pode ser uma importante ferramenta para gerenciar essas doenças, reduzindo a população migrante do vetor capaz de colonizar novos cultivos de milho. Nesse contexto, os fungos entomopatogênicos desempenham um papel importante na regulação da densidade de adultos migrantes para outras áreas (SOUZA *et al.*, 2021).

O uso efetivo de microrganismos em programas de controle biológico de artrópodes-praga depende principalmente da tecnologia para produção em massa aliada a uma estratégia de formulação eficaz (MARCIANO *et al.*, 2021). As principais limitações do controle biológico com fungos entomopatogênicos incluem a falta de conhecimento sobre os princípios do método (GUÉDEZ *et al.*, 2008) sua capacidade de infectar um inseto-alvo é influenciada por fatores bióticos e abióticos (CARRILLO-RAYAS; BLANCO-LABRA, 2009; ECKARD *et al.*, 2017), fatores como o comportamento, as condições fisiológicas e a idade do hospedeiro, além de altas temperaturas, baixa umidade e a radiação UV, podem comprometer o crescimento e desenvolvimento do fungo sobre o hospedeiro (BOTERO; MARÍN; MACHADO, 2009; MARANHÃO; MARANHÃO, 2009; YÁÑEZ; FRANCE, 2010). Entre os fatores abióticos, a radiação UV é uma das mais importantes, pois pode provocar danos letais ao DNA e mutações, causando atraso na germinação ou a inativação dos conídios, reduzindo desse modo, a atividade bioinseticida (OTTATI-DE-LIMA *et al.*, 2010; ZORZETTI *et al.*, 2014). Ainda, podemos considerar o fato de que os fungos entomopatogênicos terem uma ação mais lenta quando comparado aos inseticidas químicos.

Levantamentos realizados no oeste da Bahia constataram a ocorrência de *Metarhizium brasiliense* e uma espécie do gênero *Batkoa* associadas ao *D. maidis* (SOUZA *et al.*, 2021). Entretanto, esses fungos têm sido pouco estudados como agentes de controle microbiano. Entretanto, no Brasil as espécies mais utilizadas são *B. bassiana*, *C. fumosorosea* e *Metarhizium anisopliae*, em concordância com os principais fungos entomopatogênicos presentes em produtos registrados em outros países (FARIA; WRAIGHT, 2007). Historicamente, a utilização desses fungos é realizada de forma inundativa, sem utilizar os mesmos níveis de ação preconizados para os inseticidas químicos. Normalmente, grandes

quantidades de propágulos são aplicadas no inseto alvo e seu habitat. Os primeiros esforços para remediar essa deficiência envolveram combinações de micoinseticidas com doses subletais de inseticidas químicos, previamente selecionados com base na compatibilidade biológica com o agente fúngico, para aumentar a mortalidade de alguns insetos-praga (FURLONG; GRODEN, 2001). Um benefício colateral, no entanto, de tais abordagens reside no fato de que o uso de concentrações químicas mais baixas representa uma poluição ambiental mínima.

No entanto, são necessárias maiores informações sobre os agentes de biocontrole microbiano e como devem ser implementados dentro do contexto de programas de manejo para o controle de pragas (EHLER, 2006).



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Estação Experimental da Fundação ABC localizada no município de Itaberá - SP, com coordenadas de 24°04'4,62" de latitude Sul e 49°09'5,18" de longitude Leste e altitude de 730 metros, com infestação natural da praga em duas safras, 2021/2022 e 2022/2023.

A cultura do milho foi conduzida sob o sistema de plantio direto na palha, não irrigado, após a cultura da aveia preta. A semeadura foi realizada em 18/01/2022 e 09/01/2023 adotando-se população de 65.000 plantas ha<sup>-1</sup>.

Em função da representatividade regional e características de suscetibilidade ao complexo de enfezamento, utilizaram-se híbridos moderadamente suscetíveis ao complexo de enfezamento, DKB 290 PRO3 (safra 2021/2022) e DKB 360 PRO3 (safra 2022/2023). As sementes foram tratadas com clorotraniliprole e clotianidina, nas doses de 30 e 42 g por 60.000 sementes, respectivamente.

O inseticida Perito 970 SG composto pelo ingrediente ativo acefato, foi utilizado como padrão químico para as pulverizações dos ensaios, entre as justificativas para sua escolha está seu histórico de consistência no controle da cigarrinha nos ensaios realizados durante cinco safras (dados não publicados) além de tratar-se do inseticida mais utilizado dentro da região de abrangência da Fundação ABC para o controle de *D. maidis*.

A adubação de base foi realizada aplicando-se 39 e 93 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> e fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Foi realizada adubação de cobertura no dia da semeadura, adotando dose de 90 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e adubação nitrogenada no estádio V2, com dose de 144 kg ha<sup>-1</sup> de CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>.

O manejo de plantas daninhas da área experimental, foi realizada com aplicação inicial de glifosato e carfentrazone-etílica, nas doses de 1860 e 28 g ha<sup>-1</sup>, visando a dessecação antecipada a semeadura do milho. Adicionalmente, foi aplicada a associação de atrazina e tembotriona, nas doses de 800 e 50,4 g ha<sup>-1</sup>, respectivamente, realizadas de forma sequencial nos estádios V2 e V3 de desenvolvimento da cultura.

O manejo de lagartas foi realizado com pulverizações semanais de inseticidas iniciando-se logo após a emergência e finalizando no estádio V8, utilizando-se a associação de benzoato de emamectina com clorotraniliprole, nas doses de 15 e 25 g ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Baseado no histórico de cinco safras de ensaios realizados pela Fundação ABC, os inseticidas utilizados para o controle de lagartas não possuem eficácia comprovada sobre a cigarrinha-do-milho (dados não publicados).

Foram realizadas aplicações de fungicidas com azoxistrobina + tebuconazol e propiconazol, nas doses de 60, 100 e 125 g ha<sup>-1</sup>, respectivamente, no estádio V8. No estádio R1 foi realizada uma aplicação de fluxapiroxade + piraclostrobina e clorotalonil, nas doses de 50,1, 99,9 e 1440 g ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Por fim, foram realizadas outras duas pulverizações nos estádios R2 e R3 com a associação de epoxiconazol + fluxapiroxade + piraclostrobina e mancozebe, nas doses de 40, 40, 64,8 e 1125 g ha<sup>-1</sup> e 40, 40, 64,8 e 1500 g ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

#### 4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

##### 4.1.1 Experimentos conduzidos na safra 2021/2022

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com quatro repetições. As parcelas experimentais corresponderam a 6 linhas espaçadas 0,45 metros com 12 metros de comprimento, totalizando 32,4 m<sup>2</sup>.

Os inseticidas utilizados seguidos de dose comercial e ingredientes ativos encontram-se na Tabela 1. Os tratamentos foram distribuídos em cinco programas de manejo: i) apenas pulverizações de inseticida biológico ou químico isolado, ii) inseticida biológico intercalado com inseticida biológico, iii) inseticida biológico intercalado com inseticida químico, iv) associação de inseticida biológico com inseticida químico e v) associação de dois inseticidas biológicos, conforme esquema de pulverização (Tabela 2).

Tabela 1 – Inseticidas, ingredientes ativos e doses utilizadas na safra 2021/2022 em Itaberá-SP.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Concentração Formulação	Dose P.C. (mL ou g ha <sup>-1</sup> ) <sup>(1)</sup>	Dose I.A. (mL ou g ha <sup>-1</sup> ) <sup>(2)</sup>
Testemunha	---	---	---	---
Octane	<i>C. fumosorosea</i> ESALQ 1296	85 SC (2,5 x 10 <sup>9</sup> conídios mL <sup>-1</sup> )	500	42,5
FlyControl	<i>B. bassiana</i> Simbi BB 15	47,5 OD (2 x 10 <sup>9</sup> UFC mL <sup>-1</sup> )	500	23,75
Ballvéria	<i>B. bassiana</i> IBCB 66	300 WP (1 x 10 <sup>9</sup> UFC g <sup>-1</sup> )	100	30
Ecobass	<i>B. bassiana</i> IBCB 66	11 WP (1,1 x 10 <sup>9</sup> UFC g <sup>-1</sup> )	100	1,1
Perito 970 SG	Acefato	970 SG	800	776

<sup>(1)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou mL por hectare; <sup>(2)</sup> Dose do ingrediente ativo em gramas ou mL por hectare.

Tabela 2 – Descrição dos tratamentos e programas de manejo adotados no controle da cigarrinha na safra 2021/2022 em Itaberá-SP.

<b>Ordem das pulverizações</b>			
<b>Momento da pulverização após a emergência da cultura</b>			
1ª Pulverização 3 DAE <sup>(1)</sup>	2ª Pulverização 10 DAE	3ª Pulverização 14 DAE	4ª Pulverização 21 DAE
Testemunha	Testemunha	Testemunha	Testemunha
Octane (500) <sup>(2)</sup>	Octane (500)	Octane (500)	Octane (500)
FlyControl (500)	FlyControl (500)	FlyControl (500)	FlyControl (500)
Ballvéria (100)	Ballvéria (100)	Ballvéria (100)	Ballvéria (100)
Ecobass (100)	Ecobass (100)	Ecobass (100)	Ecobass (100)
Octane (500)	FlyControl (500)	Octane (500)	FlyControl (500)
Ecobass (100)	Perito 970 SG (800)	Ecobass (100)	Perito 970 SG (800)
Octane (500)	Perito 970 SG (800)	Octane (500)	Perito 970 SG (800)
FlyControl (500)	Perito 970 SG (800)	FlyControl (500)	Perito 970 SG (800)
Perito 970 SG (800)	Perito 970 SG (800)	Perito 970 SG (800)	Perito 970 SG (800)
Perito 970 SG (800) + Octane (500)	Perito 970 SG (800) + Octane (500)	Perito 970 SG (800) + Octane (500)	Perito 970 SG (800) + Octane (500)
Octane (500) + FlyControl (500)	Octane (500) + FlyControl (500)	Octane (500) + FlyControl (500)	Octane (500) + FlyControl (500)

<sup>(1)</sup> Dias após a emergência (DAE); <sup>(2)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou mL por hectare.

## 4.1.2 Experimentos conduzidos na safra 2022/2023

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com quatro repetições. As parcelas experimentais corresponderam a 12 linhas espaçadas 0,45 metros com 25 metros de comprimento, totalizando 135 m<sup>2</sup>. Os inseticidas utilizados seguidos de dose comercial e ingredientes ativos encontram-se na Tabela 3. Foram realizadas cinco pulverizações a partir do estágio VE.

Tabela 3 – Descrição dos tratamentos e programas de manejo adotados no controle da cigarrinha na safra 2022/2023 em Itaberá-SP.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Concentração Formulação	Dose P.C. (mL ou g ha <sup>-1</sup> ) <sup>(1)</sup>	Dose I.A. (mL ou g ha <sup>-1</sup> ) <sup>(2)</sup>
Testemunha	---	---	---	---
Ecobass	<i>B. bassiana</i> IBCB 66	11 WP	100	1,1
Perito 970 SG + Ecobass	Acefato + <i>B. bassiana</i> IBCB 66	970 SG + 11 WP	1000 + 100	970 + 1,1
Octane	<i>C. fumosorosea</i> ESALQ 1296	85 SC	500	42,5
Perito 970 SG + Octane	Acefato + <i>C. fumosorosea</i> ESALQ 1296	970 SG + 85 SC	1000 + 500	970 + 42,5
Bometil	<i>B. bassiana</i> IBCB 66 + <i>M. anisopliae</i> IBCB 425	150 + 150 WP	300	45 + 45
Perito 970 SG + Bometil	Acefato + <i>B. bassiana</i> IBCB 66 + <i>M. anisopliae</i> IBCB 425	970 SG + 150 + 150 WP	1000 + 300	970 + 45 + 45
FlyControl	<i>B. bassiana</i> Simbi BB 15	47,5 OD	500	23,75
Perito 970 SG + FlyControl	Acefato + <i>B. bassiana</i> Simbi BB 15	970 SG + 47,5 OD	1000 + 500	970 + 23,75
Bovenat + ADbio	<i>B. bassiana</i> IBCB 66	11 WP	100 + 200	1,1
Perito 970 SG + Bovenat + ADbio <sup>(3)</sup>	Acefato + <i>B. bassiana</i> IBCB 66	970 SG + 11 WP	1000 + 100 + 200	970 + 1,1
Ballvéria	<i>B. bassiana</i> IBCB 66	300 WP	100	30
Perito 970 SG + Ballvéria	Acefato + <i>B. bassiana</i> IBCB 66	970 SG + 300 WP	1000 + 100	970 + 30
Perito 970 SG	Acefato	970 SG	1000	970

<sup>(1)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou em mL por hectare; <sup>(2)</sup> Dose do ingrediente ativo em gramas por hectare; <sup>(3)</sup> Adjuvante utilizado na mistura com Bovenat, segundo orientação da empresa.

Em ambos os experimentos, as pulverizações foram realizadas ao final da tarde com o emprego de pulverizador costal pressurizado com CO<sub>2</sub>, pressão de 24 lb pol<sup>-2</sup>, pontas do tipo leque modelo DG 11002 e 120 L ha<sup>-1</sup> de volume de calda.

A normalidade dos dados foi verificada aplicando-se o teste de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965). Em seguida os dados foram submetidos à verificação da homogeneidade de variância utilizando-se o método Box-Cox, ferramenta oferecida pelo programa R Studio Version 4.1.2. Os dados que não apresentaram normalidade ou homogeneidade nas variâncias foram transformados de acordo com a metodologia de Box-Cox (BOX; COX, 1964). Depois de transformados, os dados foram submetidos à análise de variância, e detectada diferença entre as médias, estas foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade (SCOTT; KNOTT, 1974). Os dados foram analisados separadamente por safra.

## 4.2 CONTROLE DE QUALIDADE DE BIOPRODUTOS

Amostras de uma grama ou mililitros de produto comercial dos inseticidas biológicos foram coletadas e submetidas ao teste de qualidade microbiológica para determinar a concentração e pureza do produto comercial. Essas amostras são sucessivamente diluídas em água com espalhante adesivo (Tween 80), alíquotas de volumes conhecidos foram espalhadas em placas de Petri com meio de cultura sólido e antibióticos para evitar a proliferação de bactérias contaminantes. As placas são incubadas a 25-27°C por um período de dois a quatro dias e, posteriormente, conta-se o número de colônias do fungo em cada placa. As colônias são reconhecidas por critérios morfológicos típicos da espécie de interesse, como cor e formato da colônia, assim como sua velocidade de crescimento. Quando necessário, observações microscópicas das estruturas vegetativa e reprodutiva do patógeno podem auxiliar no reconhecimento e diferenciação de eventuais fungos contaminantes (FARIA *et al.*, 2021).

As embalagens lacradas dos produtos foram mantidas em armazenamento conforme as indicações da bula e representantes da empresa. Dessa forma, apenas o inseticida Ecobass foi armazenado em refrigerador ( $-6 \pm 1^\circ\text{C}$ ), enquanto os demais produtos foram mantidos em sala refrigerada ( $18 \pm 2^\circ\text{C}$ ). O fracionamento dos produtos para pulverização a campo foi realizado em cabine de fluxo laminar para evitar a contaminação das amostras.

A coleta foi realizada 40 dias após a abertura das embalagens comerciais lacradas, momento em que foram finalizadas as pulverizações no campo quantificando-se os fungos

presentes nos produtos e os resultados expressos em unidades formadoras de colônias por g ou mL (UFC/g ou UFC/mL) de produto comercial ou conídios/mL de produto comercial e sua viabilidade, determinada em BDA (Batata Dextrose Ágar) e quantificando as porcentagens de germinação (FARIA *et al.*, 2021).

#### 4.3 COLETA DE CIGARRINHAS EM ARMADILHAS ADESIVAS

O monitoramento da densidade populacional de *D. maidis* foi realizado semanalmente disponibilizando quatro cartões adesivos amarelos dupla face (25 x 10 cm) posicionados próximos a área experimental e distanciados cerca de 150 m entre si. Os cartões foram afixados a hastes de metal a uma altura de 1,5 m do nível do solo (Figura 2) no período de dezembro de 2021 a maio de 2023 compreendendo o período de condução dos ensaios e a entressafra.

Figura 2 – Armadilhas adesivas posicionadas na área experimental para monitoramento populacional da cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*), Itaberá-SP.



Fonte: elaborado pelo autor (2023).

Foram construídas curvas com o número de cigarrinhas coletas por semana nas armadilhas para determinar a variação populacional dos insetos ao longo do tempo estudado.

Os cartões adesivos foram trocados semanalmente e levados ao laboratório LabP<sup>2</sup>Bio da Fundação ABC para triagem e contagem do número de espécimes de *D. maidis* coletados. Durante o período de coleta foram escolhidos oito momentos para verificar se as cigarrinhas

estavam infectadas pelo complexo de enfezamentos através do teste de PCR (reação da polimerase em cadeia). A extração de DNA genômico das cigarrinhas foi feita de acordo o método de Saghai-Marroof *et al.* (1984) com modificações, enquanto a PCR multiplex foi realizada para determinação simultânea de espiroplasma e de fitoplasma com os primers R16F2 (5'-acgactgctgctaagactgg-3') e R16R2 (5'-tgacgggcggtgtgtacaaaccccg-3') para detecção de fitoplasma (LEE *et al.*, 1993) e CSSF2 (5'-ggcaaagatgtaacaaaagt-3') e CSSR6 (5'-gttacttcaacagtagttgcg-3') para detecção de espiroplasma (BARROS *et al.*, 2001). Dessa forma, foram realizadas três análises durante o primeiro ensaio (safra 2021/2022) quando o milho estava nos estádios V4, V9 e R3, enquanto na entressafra foram escolhidos dois momentos quando a área se encontrava com aveia preta e mais três momentos na safra seguinte (safra 2022/2023) quando o milho estava nos estádios V1, V6 e V12.

#### 4.4 CONTAGEM DE CIGARRINHAS

Para determinar a influência dos inseticidas sobre a redução da população de *D. maidis* foram realizadas contagens do número de cigarrinhas (insetos adultos) por planta. As contagens iniciaram logo após a emergência do milho (estádio VE) amostrando-se 10 plantas por parcela (safra 2021/2022) e 50 plantas por parcela (safra 2022/2023), escolhidas aleatoriamente nas duas linhas centrais da parcela, nos seguintes momentos: i) antes das pulverizações (prévia), ii) um dia após a pulverização (efeito “choque”) e iii) sete dias após a pulverização (efeito “residual”), obtendo-se o número de cigarrinhas/planta em cada momento de avaliação. A partir desses dados calculou-se os valores acumulados do número de cigarrinhas, ou seja, o somatório do número de cigarrinhas/planta de cada momento de avaliação durante todo o período de condução do experimento, permitindo identificar os tratamentos que conviveram com um maior ou menor número de indivíduos.

#### 4.5 RECUPERAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NOS INSETOS

Para determinar a infectividade dos fungos entomopatogênicos, foram coletados 10 indivíduos adultos vivos por tratamento aos 7 dias após a quinta pulverização (DA5<sup>a</sup>P) no estádio V10 na safra 2022/2023.

As cigarrinhas coletas no ensaio foram armazenadas em caixas térmicas e levadas para o laboratório onde foram levadas para câmara úmida em placas de Petri com disco de papel filtro esterilizado umedecido com água ultrapura estéril. Posteriormente, as cigarrinhas foram

colocadas em B.O.D (Biochemical Oxygen Demand) a 25°C com fotoperíodo de 12 horas por aproximadamente 10 dias. Após este período as cigarrinhas foram retiradas da câmara úmida e transferidas individualmente para placas de Petri contendo meio de cultura BDA + cloranfenicol seguido de incubação em B.O.D a 25°C e fotoperíodo de 12 horas por um período de três dias, quando começaram as avaliações morfológicas para identificar os bioagentes presentes em cada repetição.

#### 4.6 COMPLEXO DE ENFEZAMENTOS

Realizou-se a avaliação visual de sintomas do complexo de enfezamento no estádio R4 mediante a atribuição de notas em 20 plantas consecutivas por parcela, utilizando a escala adaptada de Alcántara-Mendoza *et al.* (2010), atribuindo-se notas de 0 a 6 de acordo com a severidade dos sintomas visíveis nas plantas (Tabela 4). Com as notas de severidade também foi calculado o índice da doença ou índice de enfezamento (ID) por meio da fórmula de McKinney (1923), dada pela expressão:  $ID = \frac{\sum(FxV)}{(N \times X)} \times 100$ , em que: ID= índice da doença; F= número de plantas com determinada nota da escala de severidade; V= nota da escala de severidade; N= número total de plantas avaliadas; X= nota máxima da escala de severidade.

Tabela 4 – Escala de notas utilizadas na avaliação de severidade de enfezamentos.

Nota	Descrição
0	Planta sem sintomas
1	Planta com altura normal, porém com as margens das folhas vermelhas ou pálidas (1 a 30% de severidade) e/ou a palha da base da espiga branca ou necrosada
2	Planta com altura normal, porém com as margens das folhas vermelhas ou pálidas (acima de 30% de severidade) e/ou a palha da base da espiga branca ou necrosada
3	Planta com proliferação de espiga e/ou espiga principal de tamanho reduzido
4	Planta morta e/ou espiga morta
5	Planta anã com as margens das folhas vermelhas ou pálidas e espigas de tamanho reduzido e / ou proliferação de espiga
6	Planta tombada

Fonte: Adaptado de Alcántara-Mendoza *et al.* (2010).



A confirmação da presença do fitoplasma e espiroplasma nas plantas de milho foi realizada por meio de testes de PCR em laboratório da mesma forma como foi realizado para os insetos, conforme explicado anteriormente no item 4.3.

As amostras de plantas, coletadas no estágio R4, foram compostas de partes das folhas imediatamente acima e abaixo da espiga e colmos (nós e entrenós), coletaram-se plantas sintomáticas e assintomáticas, preservadas em caixas térmicas com gelo para o transporte até o laboratório onde foram mantidas em freezer para posterior extração de DNA.

A amostragem das plantas foi realizada por inspeção visual em dois pontos aleatórios da parcela coletando-se 20 plantas por tratamento.

No momento da colheita foram realizadas as avaliações da população final de plantas, número de plantas tombadas, acamadas e mortas, número final de espigas, além da determinação da produtividade nas quatro linhas centrais da parcela por cinco metros de comprimento (9 m<sup>2</sup>) com auxílio da colheitadeira de parcelas, sendo a produtividade de grãos corrigida para 13% de umidade e extrapolado para kg ha<sup>-1</sup>.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

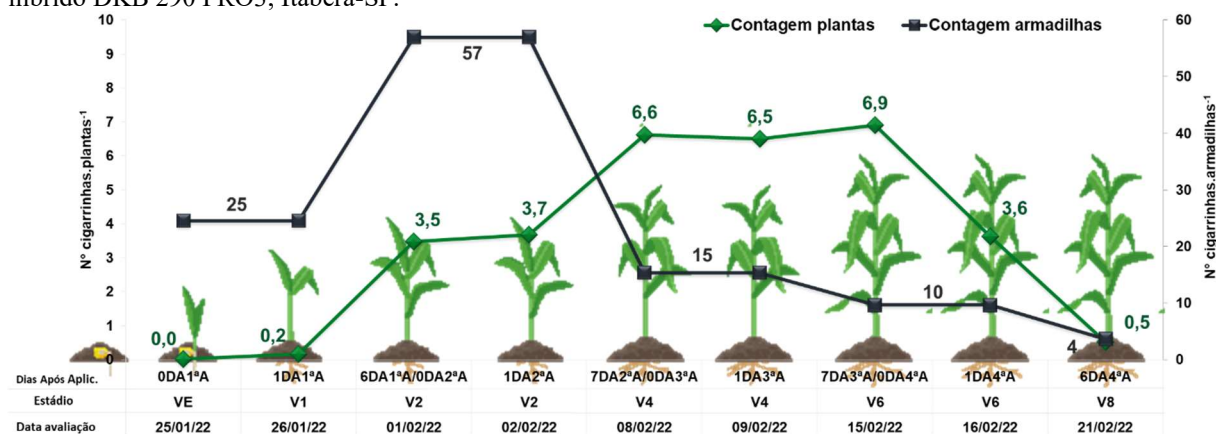
### 5.1 MONITORAMENTO DE CIGARRINHAS

#### 5.1.1 Experimentos conduzidos na safra 2021/2022

Com o desenvolvimento da cultura do milho houve um aumento gradativo na população de cigarrinhas tanto nas plantas como nas capturas pelas armadilhas adesivas. No período vegetativo da cultura do milho, o pico populacional de coleta nas armadilhas ocorreu no dia 01/02/2022 no estágio V2 com 57 cigarrinhas armadilha<sup>-1</sup>. Por outro lado, o aumento no número de cigarrinhas nas plantas iniciou-se em V2 atingindo o pico populacional no estágio V6 com 6,9 cigarrinhas planta<sup>-1</sup>, sendo 13 dias mais tarde do que o observado nas armadilhas (Figura 3).

A contagem de cigarrinhas nas plantas foi realizada até o milho atingir o estágio V9, devido à dificuldade em realizar uma amostragem adequada da praga após este estágio de desenvolvimento da cultura.

Figura 3 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas em comparação ao número médio de cigarrinhas nas plantas da testemunha no estágio vegetativo da cultura do milho durante a safra 2021/2022, híbrido DKB 290 PRO3, Itaberá-SP.

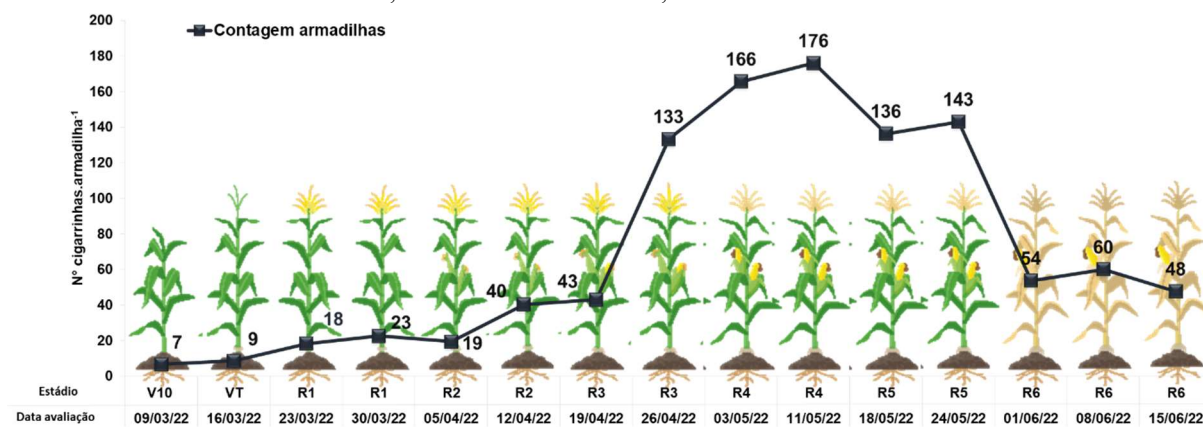


Fonte: elaborado pelo autor (2023).

Com relação a coleta de cigarrinhas nas armadilhas durante os estádios reprodutivos, a máxima densidade populacional ocorreu no mês de maio, quando as quatro coletas resultaram em população superior a 100 cigarrinhas armadilha<sup>-1</sup>, chegando a capturar 176 cigarrinhas armadilha<sup>-1</sup> (11/05/22) no estágio R4 da cultura do milho (Figura 4). Com a cultura do milho se aproximando da colheita, a população de cigarrinhas coletadas nas armadilhas começou a

diminuir gradativamente, indicando que essas cigarrinhas poderiam estar abandonando essas áreas de cultivo em voos de dispersão, possivelmente em busca de alimento.

Figura 4 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas nos estádios reprodutivos da cultura do milho durante a safra 2021/2022, híbrido DKB 290 PRO3, Itaberá-SP.



Fonte: elaborado pelo autor (2023).

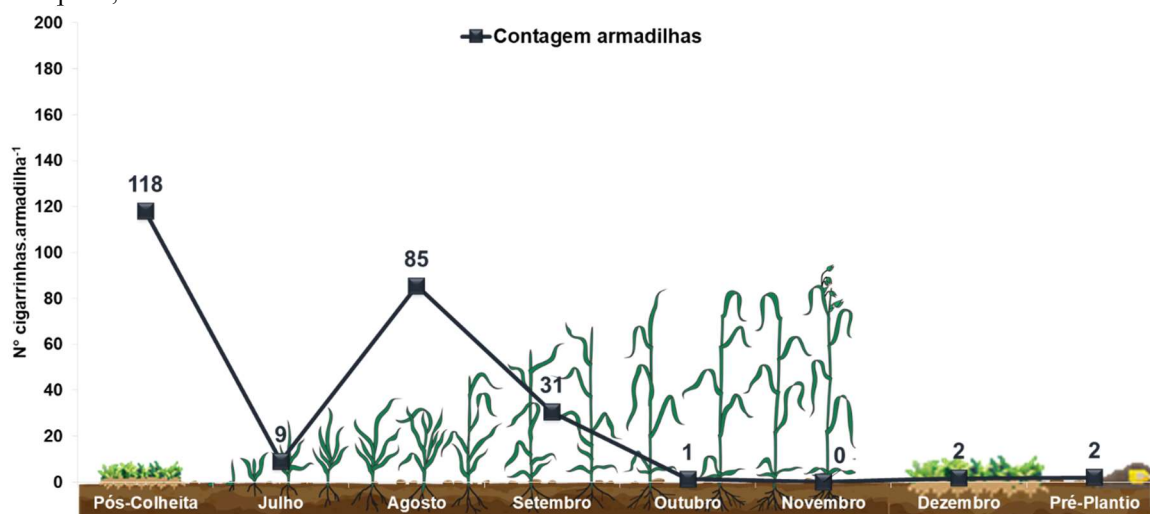
O comportamento populacional verificado parece característico para um inseto que não apresenta diapausa e sobrevive em plantas cultivadas anuais de ciclo relativamente curto. Mesmo podendo se desenvolver continuamente durante todo o ano, o período entre a colheita e o plantio de uma nova safra (entressafra) pode representar um sério obstáculo dentro de seu ciclo de vida (DUARTE; TSUNECIRO; FREITAS, 2021).

Estudos conduzidos nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste demonstraram que *D. maidis* pode ser coletada continuamente durante todo o ano (ÁVILA; ARCE, 2008; OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013; OLIVEIRA; LANDAU; SOUSA, 2015; MENESES, 2015; WAQUIL, 1997). Em estudos realizados na região Sudeste (Sete Lagoas, MG), com amostragens contínuas durante todo o ano, observou-se que *D. maidis* apresenta um pico populacional entre fevereiro e abril (WAQUIL *et al.*, 1999). No Estado de São Paulo, em área com plantio contínuo de milho, registrou-se um pico populacional entre os meses de novembro e dezembro e outro entre fevereiro e maio (OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013).

Com relação a coleta de cigarrinhas na entressafra (Figura 5), período compreendido entre a pós-colheita da cultura de verão e o pré-plantio da safra subsequente de verão, houve um pico de coleta nas armadilhas logo após a colheita (118 cigarrinhas armadilha<sup>-1</sup>) e outro no mês de agosto (85 cigarrinhas armadilha<sup>-1</sup>). Enquanto no mês de setembro, o número de indivíduos coletados reduziu drasticamente e se manteve abaixo de 3 cigarrinhas nos meses seguintes até a semana anterior ao plantio do milho. Esta redução populacional no mês de julho já era esperada devido à ausência de plantas de milho na área, tendo em vista que no Brasil o milho é a única planta hospedeira de *D. maidis* (OLIVEIRA; FRIZZAS; OLIVEIRA,

2020) onde o inseto se abriga, se alimenta e se reproduz, completando seu ciclo biológico (BURCKHARDT *et al.*, 2014). Ainda assim, durante os períodos de entressafra, a cigarrinha procura outras espécies de gramíneas para alimentação ou abrigo como trigo, sorgo, milho, capim-colonião, braquiárias e capim-elefante, ou acaba migrando para outras áreas (OLIVEIRA; FRIZZAS; OLIVEIRA, 2020).

Figura 5 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas durante a entressafra na cultura da aveia preta, Itaberá-SP.



Fonte: elaborado pelo autor (2023).

A fase inicial da cultura é considerada o período crítico para o controle dessa praga, uma vez que quanto mais precoce for a infecção das plantas, maiores serão os prejuízos à produção de grãos (ÁVILA *et al.*, 2021). Durante o estágio vegetativo analisaram-se os indivíduos coletados aos 16 e 23 DAE nos estádios V4 e V9, confirmando que as cigarrinhas estavam infectadas simultaneamente com fitoplasma e espiroplasma nas duas coletas e indicando a possibilidade de elevada incidência e severidade do complexo de enfezamentos na fase reprodutiva do milho. No estágio reprodutivo analisaram-se os indivíduos coletados aos 86 DAE no estágio R3, confirmando que as cigarrinhas também estavam infectadas simultaneamente com fitoplasma e espiroplasma. Não se constatou maior prevalência do espiroplasma em relação ao fitoplasma ou vice-versa.

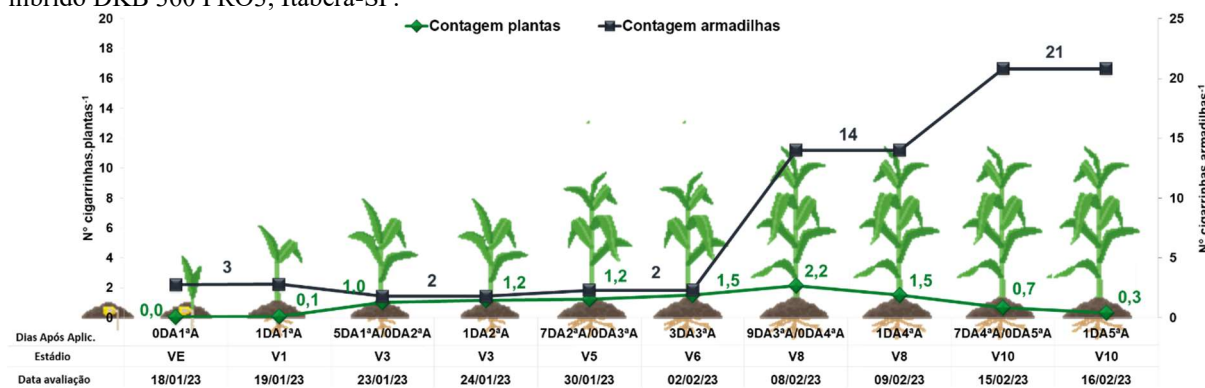
Na entressafra as cigarrinhas coletadas no mês de julho confirmaram a infecção apenas com fitoplasma, enquanto aquelas coletas em agosto não estavam infectadas com os patógenos. Essa diferença da infectividade das cigarrinhas deve-se, provavelmente, ao fato das cigarrinhas coletadas em julho terem tido acesso a plantas contaminadas com enfezamento antes da colheita do milho no experimento, enquanto as cigarrinhas coletadas em

agosto tiveram maior dificuldade de acesso a plantas com os enfezamentos devido à ausência de plantas contaminadas no campo.

### 5.1.2 Experimentos conduzidos na safra 2022/2023

No estágio vegetativo da cultura, o pico populacional de coleta nas armadilhas ocorreu no estágio V10 com 21 cigarrinhas armadilha<sup>-1</sup>. Enquanto o aumento no número de cigarrinhas nas plantas iniciou-se em V3 atingindo o pico populacional no estágio V8 com 2,2 cigarrinhas planta<sup>-1</sup>, sendo oito dias mais cedo do que o observado nas armadilhas (Figura 6).

Figura 6 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas em comparação ao número médio de cigarrinhas nas plantas da testemunha no estágio vegetativo da cultura do milho durante a safra 2022/2023, híbrido DKB 360 PRO3, Itaberá-SP.



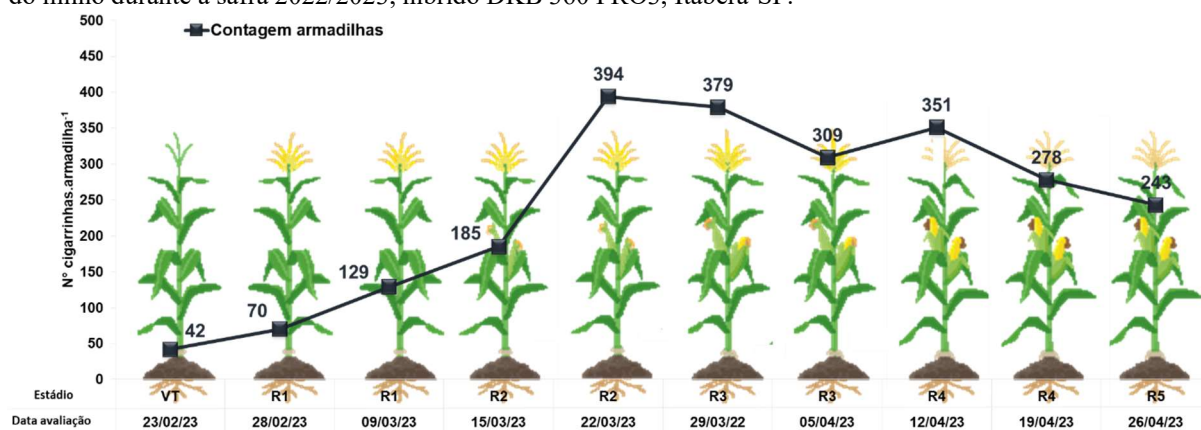
Fonte: elaborado pelo autor (2023).

Em comparação a safra anterior, a coleta de cigarrinhas nas armadilhas teve uma redução de 64,1% durante o período compreendido entre os estádios VE e V10. No período inicial do desenvolvimento da cultura (VE a V2) foram coletadas em média 5 cigarrinhas, representando uma redução de 93,9%. Por outro lado, ao final do desenvolvimento vegetativo (V8 a V10) coletaram-se 35 cigarrinhas enquanto na safra anterior foram coletadas apenas 11 cigarrinhas.

Com relação a coleta de cigarrinhas durante os estádios reprodutivos, a máxima densidade populacional ocorreu em 22/03/22 com a captura de 394 cigarrinhas armadilha<sup>-1</sup> no estágio R2 da cultura do milho (Figura 7). Em comparação a safra anterior houve um aumento de 160% na coleta de cigarrinhas nas armadilhas adesivas durante os estádios reprodutivos do milho, representando uma coleta de 1440 cigarrinhas a mais que a safra anterior (2021/2022). Além disso, após o pico de coleta de cigarrinhas a população de cigarrinhas começou a diminuir gradativamente, indicando que essas cigarrinhas poderiam estar abandonando essas

áreas de cultivo em busca de alimento. Os testes de PCR em laboratório constataram que as cigarrinhas coletadas em V1, V6 e V12 não estavam infectadas por nenhum dos enfezamentos. Esses resultados indicam menor probabilidade da ocorrência de plantas com sintomas de enfezamento no estágio reprodutivo do milho, reforçado por dados obtidos por Sousa *et al.* (2015) em que considerando o número de cigarrinhas em relação ao número de plantas com enfezamentos, a baixa frequência de cigarrinhas portadoras de mollicutes resultou em frequência ainda menor de plantas infectadas e sintomáticas. Ainda assim, sabe-se que os enfezamentos podem aumentar já que outros indivíduos infectados podem estar migrando de áreas adjacentes e transmitindo os patógenos as plantas de milho.

Figura 7 – Número médio de cigarrinhas coletadas nas armadilhas adesivas nos estádios reprodutivos da cultura do milho durante a safra 2022/2023, híbrido DKB 360 PRO3, Itaberá-SP.



Fonte: elaborado pelo autor (2023).

## 5.2 CONTAGEM DE CIGARRINHAS NAS PLANTAS DE MILHO

### 5.2.1 Experimentos conduzidos na safra 2021/2022

A contagem no momento da primeira pulverização (0DA1<sup>a</sup>P) indicou uma baixa população inicial de cigarrinhas no ensaio, porém nas avaliações seguintes houve um aumento da população da praga até se manter acima de 3 cigarrinhas planta<sup>-1</sup>, indicando um nível populacional adequado para determinar a eficácia dos inseticidas testados (Tabela 5).

Baseado no histórico de infestações de *D. maidis* em experimentos realizados em safras anteriores na Fundação ABC, pode-se afirmar que o ensaio foi conduzido em condição de elevada infestação da praga.

Tabela 5 – Número de cigarrinhas por planta de milho nos diferentes momentos de avaliação e valores acumulados de cigarrinhas na safra 2021/2022 em Itaberá-SP.

Tratamentos <sup>(1)</sup>	VE <sup>(2)</sup> 0DA1 <sup>a</sup> P <sup>(3)</sup>		V1 1DA1 <sup>a</sup> P		V2 7DA1 <sup>a</sup> P/ 0DA2 <sup>a</sup> P		V2 1DA2 <sup>a</sup> P		V4 7DA2 <sup>a</sup> P/ 0DA3 <sup>a</sup> P		V4 1DA3 <sup>a</sup> P		V6 7DA3 <sup>a</sup> P/ 0DA4 <sup>a</sup> P		V6 1DA4 <sup>a</sup> P		V8 6DA4 <sup>a</sup> P		Valores acumulados	
Testemunha	0,1	a	0,2	a	3,5	a	3,7	a	6,6	a	6,5	a	6,9	a	3,6	a	0,5	a	31,5	b
Octane (500) <sup>(4)</sup>	0,0	a	0,0	a	3,7	a	5,1	a	8,6	a	8,3	a	6,6	a	3,8	a	1,2	a	37,4	a
FlyControl (500)	0,0	a	0,1	a	3,8	a	4,6	a	6,7	a	8,5	a	7,2	a	4,1	a	1,0	a	35,9	a
Ballvéria (100)	0,0	a	0,1	a	2,9	a	3,2	b	8,0	a	6,7	a	6,5	a	5,2	a	0,9	a	33,3	a
Ecobass (100)	0,0	a	0,1	a	3,8	a	3,4	b	8,6	a	7,5	a	7,8	a	4,5	a	0,9	a	36,6	a
Octane (500) / FlyControl (500)	0,0	a	0,1	a	4,0	a	4,2	a	7,7	a	7,1	a	5,8	a	3,8	a	1,2	a	33,7	a
Ecobass (100) / Perito 970 SG (800)	0,0	a	0,1	a	3,7	a	3,0	b	8,3	a	6,6	a	7,2	a	1,6	b	0,4	a	30,8	b
Octane (500) / Perito 970 SG (800)	0,0	a	0,0	a	2,8	a	2,9	b	7,9	a	7,5	a	6,1	a	1,4	b	0,7	a	29,2	b
FlyControl (500) / Perito 970 SG (800)	0,0	a	0,0	a	3,5	a	2,9	b	7,8	a	6,7	a	5,3	a	0,5	b	0,5	a	27,1	b
Perito 970 SG (800)	0,0	a	0,1	a	2,9	a	3,7	a	8,4	a	2,2	b	6,5	a	0,6	b	0,5	a	24,8	b
Perito 970 SG (800) + Octane (500)	0,0	a	0,1	a	3,3	a	1,4	c	7,4	a	1,2	b	7,0	a	3,5	a	0,7	a	24,5	b
Octane (500) + FlyControl (500)	0,0	a	0,2	a	3,5	a	4,4	a	7,8	a	8,6	a	7,7	a	4,6	a	1,0	a	37,6	a
CV (%)	46,88		48,25		29,27		22,55		27,64		21,11		26,29		32,01		61,71		14,20	
Pr>F	0,28138		0,60812		0,75629		0,0001		0,95661		0,0001		0,70808		0,0001		0,222376		0,00053	

<sup>(1)</sup> Verificar tratamentos e estratégias de manejo conforme Tabela 2. <sup>(2)</sup> Estádio fenológico da cultura no momento da avaliação. <sup>(3)</sup> Dias após a pulverização do inseticida.

<sup>(4)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou mL por hectare. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

A população de cigarrinhas na testemunha passou de 0,1 para 3,5 cigarrinhas planta<sup>-1</sup> após sete dias e atingiu seu pico populacional no estádio V6 com 6,9 cigarrinhas planta<sup>-1</sup>. Sendo assim, para determinar a performance de controle dos tratamentos considerou-se os valores acumulados da contagem de cigarrinhas, a incidência e índice de enfezamento, assim como a influência dessas variáveis sobre a produtividade.

Os tratamentos Octane (500), FlyControl (500), Ballvéria (100), Ecobass (100), Octane (500) / FlyControl (500) e Octane (500) + FlyControl (500), apresentaram valores acumulados de cigarrinha superior aos demais tratamentos. Por outro lado, os tratamentos com a utilização do inseticida químico acefato (800) isolado, acefato (800) + Octane (500), Ecobass (100) / acefato (800), Octane (500) / acefato (800) e FlyControl (500) / acefato (800), apresentaram valores acumulados de cigarrinha estatisticamente inferior aos demais tratamentos, porém semelhantes a testemunha. Nessas associações, espera-se que o inseticida químico atue como agente estressor na população praga para aumentar a eficácia do inseticida biológico contribuindo para o controle do inseto e, conseqüentemente, na redução da incidência dos enfezamentos. Entretanto, Benz (1971), sugere que o sinergismo entre inseticida químico e biológico é apenas temporal, isto é, a combinação de ambos apenas reduz o tempo de mortalidade se comparado com os tratamentos sozinhos.

O baixo efeito residual dos inseticidas é evidenciado pelo aumento no número de cigarrinhas até mesmo nas avaliações logo após as pulverizações. Provavelmente, o alto potencial de dispersão das cigarrinhas e o tempo necessário para a ação dos fungos no controle da praga possam ter desfavorecido os tratamentos biológicos na redução da população do inseto-praga. Para que haja ação dos fungos na *D. maidis*, os conídios precisam se aderir a cutícula do inseto para germinar e as hifas penetrarem através do tegumento do inseto, produzir enzimas e superar os mecanismos de defesa do hospedeiro (MASCARIN; JARONSKI, 2016). A temperatura é considerada fator essencial no desenvolvimento do agente biológico, temperaturas entre 20° e 30°C foram consideradas ideais para o crescimento dos fungos *C. fumosorosea* e *B. bassiana* (VIDAL; FARGUES, 1997), durante a condução dos ensaios a temperatura média manteve-se próxima de 22°C, temperatura considerada ideal para o crescimento dos fungos entomopatogênicos.

## 5.2.2 Experimentos conduzidos na safra 2022/2023

Da mesma forma que a safra anterior, as avaliações de contagem de cigarrinha-do-milho nas plantas iniciaram logo após a emergência da cultura, concomitantemente às



pulverizações foliares para o controle da praga e contou com uma baixa população inicial de cigarrinhas.

A infestação de *D. maidis*, em relação à safra anterior, apresentou uma diminuição de 28,5% na população acumulada de cigarrinhas e um pico populacional sete dias mais tarde. A população da praga na testemunha atingiu 1 cigarrinhas planta<sup>-1</sup> no estágio V3 enquanto seu pico populacional ocorreu em 08/02/2023 no estágio V8 com 2,2 cigarrinhas planta<sup>-1</sup> (Tabela 6). Sendo assim, para determinar a performance de controle dos tratamentos considerou-se os valores acumulados da contagem de cigarrinhas, a incidência e índice de enfezamento, assim como a influência dessas variáveis sobre a produtividade.

Apesar da menor infestação da praga durante a condução do ensaio, observou-se a mesma tendência de performance dos produtos em relação à safra anterior. Os inseticidas biológicos aplicados isoladamente apresentaram maiores valores acumulados na contagem de cigarrinhas, não apresentando diferença estatística entre si e a testemunha e indicando similaridade de performance entre *C. fumosorosea* e *B. bassiana*. Enquanto a associação dos inseticidas biológicos ao acefato (1000) resultou nos menores valores de insetos durante a condução do ensaio e mostraram-se estatisticamente superior aos demais tratamentos. Entretanto, não houve diferença estatística para a população de cigarrinhas quando comparamos o inseticida acefato (1000) em relação aos tratamentos de biológicos associados a acefato (1000), indicando a necessidade de mais estudos para compreender a contribuição do inseticida biológico em um possível aumento no período de proteção no controle da cigarrinha-do-milho.

Quando associados a acefato (1000), os inseticidas biológicos apresentaram uma redução média de 20% no número de cigarrinhas quando comparados a sua aplicação isoladamente. Por outro lado, a utilização isolada de acefato (1000) quando comparado a testemunha, a média dos inseticidas biológicos isolados e a média da associação de biológicos com químico, apresentou uma redução média no número de cigarrinhas de 24%, 27% e 9%, respectivamente.

Embora as informações obtidas nesses estudos com pulverização foliar de inseticidas no controle de *D. maidis* não permitam afirmar que a sua utilização garanta a redução dos prejuízos provocados pelos enfezamentos, este método de controle é uma ferramenta auxiliar no manejo do inseto-vetor e, conseqüentemente, dos patógenos transmitidos para a cultura milho. Com a utilização dessa prática se espera reduzir a população da praga nas áreas de cultivo de milho e, se utilizada de forma generalizada em áreas próximas, reduziria a presença desse inseto-vetor na região e das doenças (OLIVEIRA; SABATO, 2018).

Tabela 6 – Número de cigarrinhas por planta de milho nos diferentes momentos de avaliação e valores acumulados de cigarrinhas na safra 2022/2023 em Itaberá-SP.

Tratamentos <sup>(1)</sup>	VE <sup>(2)</sup> 0DA1 <sup>a</sup> P <sup>(3)</sup>		V1 1DA1 <sup>a</sup> P		V3 7DA1 <sup>a</sup> P / 0DA2 <sup>a</sup> P		V3 1DA2 <sup>a</sup> P		V5 7DA2 <sup>a</sup> P / 0DA3 <sup>a</sup> P		V6 1DA3 <sup>a</sup> P		V8 7DA3 <sup>a</sup> P / 0DA4 <sup>a</sup> P		V8 1DA4 <sup>a</sup> P		V10 7DA4 <sup>a</sup> P / 0DA5 <sup>a</sup> P		V10 1DA5 <sup>a</sup> P		Valores acumulados	
Testemunha	0,0	a	0,1	a	1,0	a	1,2	a	1,2	a	1,5	a	2,2	a	1,5	a	0,7	a	0,3	a	9,8	a
Ecobass (100) <sup>(4)</sup>	0,0	a	0,1	a	0,7	a	1,2	a	1,9	a	1,8	a	2,1	a	1,5	a	0,6	a	0,3	a	10,2	a
Perito 970 SG (1000) + Ecobass (100)	0,0	a	0,0	a	0,8	a	1,0	a	1,6	a	1,6	a	2,3	a	0,5	b	0,6	a	0,3	a	8,8	b
Octane (500)	0,1	a	0,1	a	1,1	a	1,1	a	1,5	a	1,2	a	2,0	a	1,6	a	0,6	a	0,4	a	9,5	a
Perito 970 SG (1000) + Octane (500)	0,0	a	0,0	a	1,0	a	0,6	a	1,2	a	1,4	a	2,1	a	0,2	b	0,5	a	0,3	a	7,4	b
Bometil (300)	0,1	a	0,1	a	0,8	a	1,1	a	1,6	a	1,9	a	2,5	a	2,1	a	0,7	a	0,3	a	11,1	a
Perito 970 SG (1000) + Bometil (300)	0,0	a	0,0	a	0,7	a	0,9	a	1,6	a	1,4	a	2,0	a	0,8	b	0,6	a	0,3	a	8,2	b
FlyControl (500)	0,0	a	0,0	a	0,8	a	0,9	a	1,3	a	1,9	a	2,3	a	1,9	a	0,6	a	0,4	a	10,1	a
Perito 970 SG (1000) + FlyControl (500)	0,0	a	0,0	a	0,6	a	0,5	a	1,1	a	1,2	a	2,1	a	0,3	b	0,7	a	0,2	a	6,7	b
Bovenat (100) + ADbio (200)	0,0	a	0,1	a	0,9	a	1,2	a	1,6	a	2,1	a	2,3	a	1,7	a	0,8	a	0,2	a	10,9	a
Perito 970 SG (1000) + Bovenat (100) + ADbio (200)	0,0	a	0,0	a	0,8	a	0,8	a	2,1	a	1,7	a	2,3	a	0,2	b	0,8	a	0,3	a	9,1	a
Ballvéria (100)	0,1	a	0,1	a	0,7	a	1,0	a	1,4	a	1,6	a	2,7	a	1,6	a	0,5	a	0,2	a	9,7	a
Perito 970 SG (1000) + Ballvéria (100)	0,0	a	0,1	a	0,8	a	0,8	a	1,5	a	2,0	a	2,6	a	0,3	b	0,6	a	0,1	a	8,8	b
Perito 970 SG (1000)	0,1	a	0,1	a	0,9	a	0,7	a	1,4	a	1,3	a	1,8	a	0,5	b	0,5	a	0,3	a	7,4	b
CV (%)	93,08		91,79		31,16		28,63		21,07		23,29		15,51		24,65		23,01		40,61		12,21	
Pr>F	0,4683		0,67015		0,81245		0,26079		0,29014		0,34332		0,46086		0,0001		0,3645		0,3212		0,0380	

<sup>(1)</sup> Verificar tratamentos e estratégias de manejo conforme Tabela 3. <sup>(2)</sup> Estádio fenológico da cultura no momento da avaliação. <sup>(3)</sup> Dias após a pulverização do inseticida.

<sup>(4)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou mL por hectare. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

O manejo do complexo de enfezamentos requer ações preventivas para redução das fontes de inóculo e para redução dos níveis populacionais da cigarrinha, ações estas que devem ser adotadas por todos os produtores de milho na região, ressaltando que não há uma única medida altamente efetiva que aplicada isoladamente possa controlar o complexo de enfezamentos (SABATO, 2018).

### 5.3 RECUPERAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NOS INSETOS

No experimento realizado na safra 2022/2023, a porcentagem média de cigarrinhas infectadas com fungos foi de 33%, apresentando uma amplitude de 10 a 88% de insetos mortos pela ação dos agentes biológicos de controle (Tabela 7).

Tabela 7 – Porcentagem de cigarrinhas infectadas com fungos aos sete dias após a quinta pulverização na safra 2022/2023 em Itaberá-SP.

Tratamentos	Cigarrinhas infectadas
Testemunha	0%
Ecobass (100) <sup>(1)</sup>	20%
Perito 970 SG (1000) + Ecobass (100)	10%
Octane (500)	40%
Perito 970 SG (1000) + Octane (500)	30%
Bometil (300)	60%
Perito 970 SG (1000) + Bometil (300)	88%
FlyControl (500)	10%
Perito 970 SG (1000) + FlyControl (500)	25%
Bovenat (100) + ADbio (200)	30%
Perito 970 SG (1000) + Bovenat (100) + ADbio (200)	20%
Ballvéria (100)	40%
Perito 970 SG (1000) + Ballvéria (100)	50%
Perito 970 SG (1000)	0%

<sup>(1)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou mL por hectare

Na pulverização isolada dos inseticidas biológicos, o fungo *C. fumosorosea* presente apenas no inseticida Octane (500) apresentou mais cigarrinhas infectadas que os inseticidas Ecobass (100), FlyControl (500) e Bovenat (100), entretanto, mostrou-se semelhante a Ballvéria (100) e inferior a Bometil (300).

O inseticida Bometil (300) composto pela associação dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* apresentou a maior porcentagem de cigarrinhas. A pulverização isolada de Bometil (300) apresentou 60% de cigarrinhas infectadas, sendo 30% apenas com *B. bassiana* e outros

30% com *B. bassiana* e *M. anisopliae*, enquanto o tratamento acefato (1000) + Bometil (300) resultou em 80% de cigarrinhas infectadas, sendo 30% apenas com *B. bassiana*, 20% apenas com *M. anisopliae* e 38% com ambos os fungos.

Quando se compara os tratamentos a base de *B. bassiana*, o tratamento Ballvéria (100) apresentou maior número de cigarrinhas infectadas, seguido dos inseticidas Bovenat (100), Ecobass (100) e FlyControl (500). Nessa comparação, nota-se que o tratamento FlyControl (500) apresentou a menor porcentagem de cigarrinhas infectadas, entre as hipóteses destaca-se a possibilidade de menor virulência do isolado Simbi BB 15 em comparação ao IBCB 66.

Quando associados a acefato (1000), os inseticidas Ecobass (100), Octane (500) e Bovenat (100) apresentaram uma redução de 10% no número de cigarrinhas infectadas quando comparados a suas aplicações isoladas. Por outro lado, os inseticidas Bometil (300), FlyControl (500) e Ballvéria (100) apresentaram um aumento de 28%, 15% e 10% no número de cigarrinhas infectadas quando comparados a sua aplicação isolada.

Somando-se o número de cigarrinhas infectadas na pulverização isolada ao número de cigarrinhas infectadas na pulverização em associação ao inseticida químico, a média de cigarrinhas infectadas para os inseticidas Ecobass, FlyControl, Bovenat e Ballvéria foi de 15, 18, 25 e 45% de infecção de cigarrinhas, respectivamente. O número médio de cigarrinhas infectadas para Bometil foi de 74% ao passo que Octane teve 35%.

Assumindo-se a média de cigarrinhas infectadas, pode-se afirmar que a utilização de inseticidas biológicos com mais de um fungo na sua composição proporcionaram maior infectividade dos insetos.

As coletas de cigarrinhas também foram realizadas nos tratamentos sem a utilização de inseticidas biológicos, Testemunha e acefato (1000), com o intuito de verificar a presença de cigarrinhas infectadas com fungos provenientes de parcelas próximas, no entanto, nestas amostras nenhuma das cigarrinhas coletadas estava infectada. Devido ao potencial de dispersão da praga, este dado contribui para demonstrar a importância do correto dimensionamento das parcelas experimentais, ou seja, evitar a presença de insetos contaminados com fungos provenientes de outros tratamentos.

É interessante notar que nem todos os insetos mortos sempre apresentaram crescimento micelial externo, e tais indivíduos foram excluídos da análise estatística, indicando assim que as mortalidades reais podem ter sido maiores do que as relatadas aqui. Alguns insetos possuem mecanismos de defesa, como a produção de pigmentos de melanina (BOUCIAS, PENDLAND, 1998) ou a interação entre fungos e bactérias após a morte do inseto (TOLEDO; LENICOV; LASTRA, 2007). Embora a mortalidade de *D. maidis* tenha

sido de 10 a 88%, esses valores foram em média maiores do que a mortalidade de 8,6–22,5% relatada para esse hospedeiro por Ibarra-Aparicio *et al.* (2005) após 25 dias pós-inoculação. Esses autores também relataram que cigarrinhas adultas morreram de infecção fúngica em uma média de 10,5 dias, enquanto Toledo; Lenicov e Lastra (2007) indicaram um tempo médio de mortalidade de 8,6 dias.

## 5.4 ENFEZAMENTOS

### 5.4.1 Experimentos conduzidos na safra 2021/2022

A avaliação visual a campo das plantas com sintomas de enfezamento é uma forma de verificar o efeito do manejo de inseticidas realizado, no entanto, os sintomas dos enfezamentos podem se confundir, tornando difícil distinguir entre o fitoplasma e espiroplasma, sendo comum a ocorrência simultânea dos dois patógenos numa mesma planta (OLIVEIRA *et al.*, 2007a ; OLIVEIRA; LANDAU; SOUSA, 2015).

Considerando essas informações, a avaliação visual de severidade não caracterizou separadamente o enfezamento vermelho do enfezamento pálido, mas levou em consideração o “complexo de enfezamento”, ou seja, considera-se que a planta está com enfezamento independente se as doenças se apresentam de forma isolada ou conjunta.

As avaliações indicaram uma incidência de enfezamento variando de 20 a 48,8%, enquanto o índice de enfezamento teve uma amplitude de 7,8 a 16,4 (Tabela 8). Esses valores permitem inferir o comportamento dos inseticidas a base de *B. bassiana* e *C. fumosorosea* sobre o complexo de enfezamentos.

A avaliação de enfezamento realizada no estádio R4, indicou elevada incidência do complexo de enfezamentos apesar de não haver diferença estatística entre os tratamentos. Por outro lado, o índice de enfezamento apresentou diferença estatística entre os tratamentos. A severidade da injúria é reflexo da elevada ocorrência de cigarrinhas infectadas com os enfezamentos ao longo do ciclo da cultura somada as diferenças de eficácia no controle da cigarrinha no início do desenvolvimento do milho.

Os tratamentos FlyControl (500), Ballvéria (100), Ecobass (100) / acefato (800), Octane (500) / acefato (800), acefato (800), acefato (800) + Octane (500) e Octane (500) + FlyControl (500) apresentaram os menores índices de enfezamento. Entretanto, é importante ressaltar que os tratamentos FlyControl (500), Ballvéria (100) e Octane (500) + FlyControl (500) apresentaram eficácia de controle de cigarrinha estatisticamente inferior aos demais

tratamentos, entretanto o índice de enfezamento foi baixo. Tem sido demonstrado experimentalmente que o uso de inseticidas é capaz de controlar a população de insetos vetores, sem que, no entanto, haja redução significativa dos patógenos por eles disseminadas (BOITEAU; OSBORN; DREW, 1997; BROADBENT, 1957; OLIVEIRA *et al.*, 2007b).

Tabela 8 – Incidência e índice de plantas com enfezamento no estádio R4 durante a safra 2021/2022, híbrido DKB 290 PRO3, Itaberá-SP.

Tratamentos	Incidência de enfezamento		Índice de enfezamento	
Testemunha	30,0	a	13,9	a
Octane (500) <sup>(1)</sup>	43,8	a	13,3	a
FlyControl (500)	32,5	a	9,6	b
Ballvéria (100)	35,0	a	9,2	b
Ecobass (100)	38,8	a	16,4	a
Octane (500) / FlyControl (500)	48,8	a	13,3	a
Ecobass (100) / Perito 970 SG (800)	32,5	a	11,4	b
Octane (500) / Perito 970 SG (800)	31,3	a	8,3	b
FlyControl (500) / Perito 970 SG (800)	41,3	a	13,3	a
Perito 970 SG (800)	21,3	a	10,3	b
Perito 970 SG (800) + Octane (500)	20,0	a	10,6	b
Octane (500) + FlyControl (500)	21,3	a	7,8	b
	CV (%)	41,49	20,53	
	Pr>F	0,0956	0,0001	

<sup>(1)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou mL por hectare; Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ).

Com relação a confirmação dos enfezamentos através do teste de PCR, todas as amostras de plantas com sintomas, independente do tratamento, confirmaram a presença de fitoplasma, não sendo detectado espiroplasma. As amostras de plantas sem sintomas, os tratamentos Testemunha, Octane (500) / FlyControl (500), acefato (800) e Octane (500) + FlyControl (500) não estavam infectadas com os enfezamentos, enquanto as plantas tratadas com Ecobass (100) / acefato (800) e Octane (500) + FlyControl (500) tinham a presença apenas de espiroplasma.

Vários fatores influenciam a incidência dos enfezamentos, como a densidade populacional de cigarrinhas *D. maidis* infectantes com molicutes, o nível de resistência do híbrido de milho e a temperatura ambiente (OLIVEIRA; SABATO, 2018). A prevalência do fitoplasma nas identificações moleculares poder estar associado a sua maior adaptação para lavouras de milho localizadas em altitudes maiores (NAULT, 1980) bem como, à

temperaturas médias entre 19°C e 23°C durante a condução do ensaio, que reforça dados obtidos por Bascope-Quintanilla (1977) que em câmaras com temperaturas entre 12°C e 23°C, plântulas infectadas com ambos os enfezamentos apresentaram unicamente os sintomas do enfezamento vermelho. Considerando a altitude do município de Itaberá de 730 m e a temperatura média de 18°C durante a condução do ensaio, a prevalência de fitoplasma em relação ao espiroplasma nas amostras pode estar associada a esta característica.

Estes resultados são importantes para que seja feito o uso de híbridos resistentes, considerando a prevalência do fitoplasma na região amostrada.

#### 5.4.2 Experimentos conduzidos na safra 2022/2023

Reflexo da menor infestação de cigarrinhas durante a condução do ensaio, houve uma redução para os valores de incidência e índice de enfezamento em relação à safra anterior. É importante lembrar que a transmissão dos enfezamentos não depende apenas do número de indivíduos na área de cultivo, a concentração de insetos-vetores infectados bem como a concentração dos molicutes nas cigarrinhas em uma área com plântulas jovens de milho aumenta a probabilidade de transmissão desses patógenos.

A probabilidade de as cigarrinhas serem portadoras dos molicutes aumenta dependendo dos níveis de incidência de plantas com enfezamentos presentes nas lavouras adjacentes (OLIVEIRA; SABATO, 2018). No entanto, se a infestação não ocorrer na fase inicial de desenvolvimento do milho, como neste experimento, a ocorrência dos enfezamentos pode ser menor, ainda assim, ações integradas como o tratamento de sementes com inseticidas sistêmicos, pulverizações foliares e a escolha de híbridos com menor suscetibilidade ao complexo de enfezamentos são fundamentais para o manejo adequado da praga e dos patógenos por ela transmitida.

As avaliações indicaram uma incidência de enfezamento variando de 10,6 a 23,8%, enquanto o índice de enfezamento teve uma amplitude de 2,3 a 7,7 (Tabela 9). Utilizando os valores das testemunhas como parâmetro de comparação entre as duas safras de ensaio, a incidência de enfezamento teve redução de 6,3% enquanto o índice de enfezamento passou de 13,9 para 7,7.

A avaliação de enfezamento realizada no estádio R4, indicou diferença estatística entre os tratamentos para a incidência e índice de enfezamento. Comparando a testemunha, a

utilização de inseticidas representou uma redução média de 6% para a incidência de enfezamento e 3,4 para o índice de enfezamento.

Tabela 9 – Incidência e índice de plantas com enfezamento no estádio R4 durante a safra 2022/2023, híbrido DKB 360 PRO3, Itaberá-SP.

Tratamentos	Incidência de enfezamento	Índice de enfezamento
Testemunha	23,8	7,7
Ecobass (100) <sup>(1)</sup>	20,0	5,8
Perito 970 SG (1000) + Ecobass (100)	18,1	4,8
Octane (500)	23,3	5,8
Perito 970 SG (1000) + Octane (500)	21,9	5,1
Bometil (300)	16,9	4,2
Perito 970 SG (1000) + Bometil (300)	20,6	3,9
FlyControl (500)	13,8	4,3
Perito 970 SG (1000) + FlyControl (500)	18,0	2,3
Bovenat (100) + ADbio (200)	13,1	4,3
Perito 970 SG (1000) + Bovenat (100) + ADbio (200)	16,3	2,5
Ballvéria (100)	16,9	4,4
Perito 970 SG (1000) + Ballvéria (100)	10,6	3,7
Perito 970 SG (1000)	21,8	2,9
	CV (%)	29,14
	Pr>F	0,0001

<sup>(1)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou mL por hectare; Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ).

Observa-se que mesmo os tratamentos estatisticamente inferiores no controle de cigarrinhas como Bometil, FlyControl, Bovenat, acefato + Bovenat e Ballvéria apresentaram baixa incidência de sintomas de enfezamento. Enquanto os tratamentos estatisticamente superiores no controle de cigarrinhas, acefato + Octane, acefato + Bometil e acefato, apresentaram maiores incidências de enfezamento. A ação lenta dos inseticidas para levar à morte os insetos vetores, porém sem que antes o patógeno tenha sido transmitido para a planta, podendo ser uma das causas da ineficiência na prevenção de disseminação de patógenos em plantas (BOITEAU; OSBORN; DREW, 1997).

A utilização da pulverização foliar com inseticidas é uma importante ferramenta para redução na população infectante de cigarrinha, proporciona menores valores para a incidência de enfezamento quando causa a morte das cigarrinhas antes da transmissão dos mollicutes para as plântulas de milho (OLIVEIRA; SABATO, 2018). Reafirmando a complexidade do manejo dessas doenças do milho devido ao comportamento de migração contínua das cigarrinhas infectantes de lavouras de milho adjacentes para a área experimental (OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013; OLIVEIRA; LANDAU; SOUSA, 2015).



Com relação aos dados obtidos para o índice de enfezamento, os tratamentos acefato + FlyControl, acefato + Bovenat + ADbio e acefato isolado apresentaram os menores valores, resultando em performance estatisticamente superior aos demais tratamentos. Seguidos dos tratamentos acefato + Ecobass, Bometil, acefato + Bometil, FlyControl, Bovenat, acefato + Bovenat, Ballvéria e acefato + Ballvéria que foram estatisticamente superiores a Ecobass, Octane e acefato + Octane.

A pulverização dos inseticidas foi eficiente na redução do índice de enfezamento em relação a testemunha, apesar da baixa severidade da injúria. Os valores do índice de enfezamento foram menores aos observados na safra anterior, provavelmente a menor população de cigarrinhas nos estádios iniciais de desenvolvimento observada na safra 2022/2023 resultaram na infecção tardia das plantas e conseqüentemente na menor severidade de sintomas. As contagens de cigarrinhas nas plantas indicam que na safra 2021/2022 as plantas conviveram com uma população superior a 3 cigarrinhas por planta do estádio V2 a V6, enquanto na safra 2022/2023 o período de maior ocorrência de cigarrinhas nas plantas se deu entre os estádios V6 e V8 com uma população variando entre 1,5 a 2,2 cigarrinhas por planta. Corroborando com dados em que as plantas foram submetidas às cigarrinhas infectantes aos dois, nove, 16, 23 e 30 DAE, as menores perdas foram observadas aos 30 DAE como consequência da infecção tardia, uma vez que infecções tardias causam menores danos à produção (HRUSKA; PERALTA, 1997; MASSOLA JÚNIOR *et al.*, 1999).

Levando-se em consideração as duas safras, as pulverizações dos inseticidas biológicos associadas ou intercaladas com acefato apresentaram os menores índices enfezamentos. Os tratamentos FlyControl, Ballvéria e acefato + Octane mostraram valores consistentes em ambas as safras.

## 5.5 CONTROLE DE QUALIDADE DE BIOPRODUTOS

A análise da qualidade dos bioprodutos testados à base de *C. fumosorosea*, *B. bassiana* e *M. anisopliae* é a garantia ao agricultor que o produto atingirá o nível de controle conforme o número de unidades formadoras de colônias (UFC) que constam no rótulo.

Os inseticidas Bovenat, Ballvéria, Ecobass e Bometil apresentaram concentrações dos ingredientes ativos superiores as especificações mínimas do rótulo comercial. Esse dado já era esperado uma vez que os fabricantes utilizam uma margem de segurança para que no momento da pulverização seja aplicada a quantidade de ativo expressa no rótulo (Tabela 10).

Apenas o inseticida FlyControl apresentou concentração  $2,0 \times 10^3$  UFC mL<sup>-1</sup> menor do que as especificações do produto. Apesar das formulações oleosas aumentarem a infectividade do inseto (BATEMAN *et al.*, 1993; PRIOR; JOLLANDS, 1988), a tolerância dos conídios a altas temperaturas e manter maior viabilidade dos conídios em relação ao pó seco (MOORE *et al.*, 1996), as menores concentrações do fungo presentes no produto comercial tiveram reflexo na menor infectividade dos insetos a campo.

Acreditava-se que a presença de contaminantes na amostra de Bovenat reduziria sua eficácia na infecção de cigarrinhas no campo. Porém, observou-se a segunda maior infecção de cigarrinha entre os inseticidas a base de *B. bassiana*, além de apresentar valores reduzidos para a incidência e o índice de enfezamento.

Tabela 10 – Determinação da concentração de fungos entomopatogênicos e contaminantes presentes nos inseticidas testados em comparação as especificações comerciais dos produtos.

Inseticidas biológicos	<i>Beauveria bassiana</i> (UFC mL <sup>-1</sup> ou g <sup>-1</sup> )	<i>Metarhizium anisopliae</i> (UFC mL <sup>-1</sup> ou g <sup>-1</sup> )	Contaminantes (UFC mL <sup>-1</sup> ou g <sup>-1</sup> )	Rótulo comercial (UFC mL <sup>-1</sup> ou g <sup>-1</sup> )
Bovenat	$1,7 \times 10^{11}$	-	$2,5 \times 10^9$	$1,0 \times 10^{10}$
Ballvéria	$4,4 \times 10^{10}$	-	0	$1,0 \times 10^9$
Ecobass	$1,1 \times 10^{11}$	-	0	$1,0 \times 10^9$
FlyControl	$1,0 \times 10^6$	-	0	$2,0 \times 10^9$
Bometil	$6,0 \times 10^9$	$4,5 \times 10^9$	0	$4,3 \times 10^8 + 3,2 \times 10^8$

O inseticida Octane apresentou o número de conídios viáveis inferior as especificações apresentadas no rótulo comercial, entretanto apresentou viabilidade próxima a 89% (Tabela 11). Entre os fatores a ser considerado na qualidade de inseticidas biológicos é a sua viabilidade, medida pela porcentagem de germinação dos conídios. Para ter-se um mínimo de qualidade, deve-se apresentar germinação maior que 85% (JENKINS; GRZYWACZ, 2000).

Tabela 11 – Determinação da concentração e viabilidade dos conídios presentes no inseticida testado em comparação as especificações comerciais dos produtos.

Inseticida biológico	<i>Cordyceps fumosorosea</i> (Conídios mL <sup>-1</sup> )	Viabilidade (%)	Rótulo Comercial (Conídios viáveis mL <sup>-1</sup> )
Octane	$6,2 \times 10^6$	88,61	$2,5 \times 10^9$

Entretanto, um dos fatores limitantes à utilização em maior quantidade de fungos entomopatogênicos é a dificuldade na manutenção da viabilidade dos conídios por longos períodos (McCLATCHIE *et al.*, 1994).

Vários trabalhos têm relacionado a influência de temperatura e de armazenamento na viabilidade de fungos entomopatogênicos formulados (MARQUES; ALVES; MARQUES,

1999; PEREIRA; ROBERTS, 1991; SMITH *et al.*, 1999) assim como na umidade da formulação para aumentar a vida de prateleira dos conídios (SANYANG; VAN EMDEN; MOORE, 2000).

## 5.6 COMPONENTES DE RENDIMENTO E RESULTADO ECONÔMICO

Os dados de produtividade comprovam a relevância dos enfezamentos e confirmam que os prejuízos potenciais causados pelas patógenos transmitidas pelo vetor não são desprezíveis e devem ser considerados mesmo em baixas densidades populacionais do inseto.

Na safra 2021/2022, na avaliação de incidência de enfezamento o valor observado na testemunha (sem inseticida) foi 3,3% menor que a média de todos os demais tratamentos com inseticidas. Entretanto, não houve diferença estatística entre os tratamentos para a produtividade. Ainda assim, a abordagem pelo viés do resultado econômico, em que considera a diferença de produtividade em relação a testemunha e o custo do inseticida utilizado, reforça a contribuição dos inseticidas na redução de perdas na colheita.

Ao compararmos a média de todos os inseticidas em relação a testemunha, a pulverização de inseticidas representou saldo de 655,7 kg ha<sup>-1</sup> e resultado financeiro de 472,5 reais ha<sup>-1</sup> (Tabela 12). Discordando dos dados de Massola Junior *et al.* (1999) que observaram perdas de 0,8% para cada 1% de aumento na incidência de plantas doentes.

Comparando os inseticidas biológicos pulverizados isoladamente em relação a testemunha, os tratamentos FlyControl (500) e Octane (500) obtiveram os maiores saldos de produtividade com 570,7 e 552,8 kg ha<sup>-1</sup>. Na pulverização intercalada entre inseticidas biológicos e químicos, o tratamento Octane (500) / acefato (800) apresentou um saldo de 961,6 kg ha<sup>-1</sup>, sendo 313 kg ha<sup>-1</sup> superior ao tratamento de FlyControl (500) / acefato (800) e 296,7 kg ha<sup>-1</sup> superior ao tratamento com Ecobass (100) / acefato (800).

Em relação aos tratamentos apenas com inseticidas biológicos intercalados ou associados, o tratamento com Octane (500) + FlyControl (500) teve um saldo de 806 kg ha<sup>-1</sup> enquanto Octane (500) / FlyControl (500) apresentou 481,2 kg ha<sup>-1</sup>, ou seja, uma diferença de 324,8 kg ha<sup>-1</sup>. Já a utilização de acefato (800) apresentou saldo de 779,5 kg ha<sup>-1</sup> enquanto acefato (800) + Octane (500) teve um saldo de 819,6 kg ha<sup>-1</sup>, sendo 40,1 kg ha<sup>-1</sup> superior.

Tabela 12 – Produtividade, saldo e resultado econômico na comparação entre os manejos adotados na safra 2021/2022, híbrido DKB 290 PRO3, Itaberá-SP.

Tratamentos	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )		Saldo (kg ha <sup>-1</sup> )	Saldo <sup>(1)</sup> (R\$ ha <sup>-1</sup> )	Custo manejo (R\$ ha <sup>-1</sup> )	Resultado <sup>(2)</sup> (R\$ ha <sup>-1</sup> )	Resultado (kg ha <sup>-1</sup> )	Resultado (sc ha <sup>-1</sup> )
Testemunha	3083,4	a	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Octane (500) <sup>(3)</sup>	3636,2	a	552,8	718,6	280,0	438,6	337,4	5,6
FlyControl (500)	3654,1	a	570,7	741,9	560,0	181,9	140,0	2,3
Ballvéria (100)	3521,5	a	438,1	569,6	72,0	497,6	382,7	6,4
Ecobass (100)	3573,7	a	490,3	637,3	200,0	437,3	336,4	5,6
Octane (500) / FlyControl (500)	3564,6	a	481,2	625,6	420,0	205,6	158,1	2,6
Ecobass (100) / Perito 970 SG (800)	3748,3	a	664,9	864,3	244,0	620,3	477,2	7,9
Octane (500) / Perito 970 SG (800)	4045,0	a	961,6	1250,0	284,0	966,0	743,1	12,4
FlyControl (500) / Perito 970 SG (800)	3732,0	a	648,6	843,1	424,0	419,1	322,4	5,4
Perito 970 SG (800)	3862,9	a	779,5	1013,4	288,0	725,4	558,0	9,3
Perito 970 SG (800) + Octane (500)	3903,0	a	819,6	1065,5	568,0	497,5	382,7	6,4
Octane (500) + FlyControl (500)	3889,4	a	806,0	1047,8	840,0	207,8	159,8	2,7
CV (%)	15,85							
Pr>F	0,7110							

<sup>(1)</sup> Considerou-se o valor da saca de 60 kg de milho a 78 reais; <sup>(2)</sup> O resultado é representado pela diferença entre o saldo e o custo do manejo; <sup>(3)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou mL por hectare; Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

Os tratamentos que obtiveram os maiores resultados econômicos foram Octane (500) / acefato (800) com 743 kg ha<sup>-1</sup>, seguido de acefato (800) com 558 kg ha<sup>-1</sup> e Ecobass (100) / acefato (800) com 477,2 kg ha<sup>-1</sup>. Na média os tratamentos biológicos isolados deram um resultado econômico de 300 kg ha<sup>-1</sup>, enquanto a utilização intercalada de biológicos e químicos resultou em 516 kg ha<sup>-1</sup>.

Com relação aos dados obtidos na safra 2022/2023 (Tabela 13), ao compararmos os inseticidas biológicos pulverizados isoladamente em relação a testemunha, os tratamentos Ballvéria (100) e FlyControl (500) obtiveram os maiores saldos de produtividade com 666,8 e 616,6 kg ha<sup>-1</sup>. Na pulverização associada entre inseticidas biológicos e químicos, o tratamento acefato (1000) + Ballvéria (100) apresentou um saldo de 768,3 kg ha<sup>-1</sup>, sendo 104,5 kg ha<sup>-1</sup> superior ao tratamento de acefato (1000) + Octane (500) e 187,1 kg ha<sup>-1</sup> superior ao tratamento com acefato (1000) + FlyControl (100).

Os tratamentos que obtiveram os maiores resultados econômicos foram acefato (1000) com 650,7 kg ha<sup>-1</sup>, seguido de Ballvéria (100) com 571,1 kg ha<sup>-1</sup> e Bovenat (100) + ADbio (200) com 244,9 kg ha<sup>-1</sup>. Na média os tratamentos biológicos isolados deram um resultado econômico de 80,1 kg ha<sup>-1</sup>, enquanto os tratamentos com a associação de biológicos e químicos resultou em -306,3 kg ha<sup>-1</sup>. O resultado negativo da associação de inseticidas biológicos e químicos deve-se principalmente ao menor preço da saca de milho em relação ao ano anterior.

Esses resultados comprovam a importância dos inseticidas biológicos como ferramentas no manejo da cigarrinha e conseqüentemente na redução da severidade dos enfezamentos. O uso de inseticidas biológico de insetos em associações e/ou pulverizações intercalas apresentam-se como estratégia eficiente para o manejo da resistência por ataque múltiplo, pois os insetos dificilmente se tornam resistentes aos patógenos que ocorrem naturalmente no meio (OMOTO, 2000), além de mostraram-se economicamente rentáveis. A campo, a diferença de comportamento do inseto, pela ação do químico, é rapidamente percebida pelo agricultor, estimulando a implantação efetiva de um programa de manejo integrado.

Para Gallo *et al.* (2002), apesar do avanço incontestável do controle microbiano nos últimos anos, é importante mencionar que os microrganismos entomopatogênicos raramente devem ser considerados isoladamente no controle de pragas. Este tipo de controle deve fazer parte de um conjunto de medidas, as quais, atuando em harmonia, sejam capazes de reduzir a população de pragas e estabelecer, enzoóticamente, o patógeno no agroecossistema.

Tabela 13 – Produtividade, saldo e resultado econômico na comparação entre os manejos adotados na safra 2022/2023, híbrido DKB 360 PRO3, Itaberá-SP.

Tratamentos	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )		Saldo (kg ha <sup>-1</sup> )	Saldo <sup>(1)</sup> (R\$ ha <sup>-1</sup> )	Custo manejo (R\$ ha <sup>-1</sup> )	Resultado <sup>(2)</sup> (R\$ ha <sup>-1</sup> )	Resultado (kg ha <sup>-1</sup> )	Resultado (sc ha <sup>-1</sup> )
Testemunha	9356,5	a	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0
Ecobass (100) <sup>(3)</sup>	9356,8	a	0,3	0,3	250,0	-249,7	-272,4	-4,5
Perito 970 SG (1000) + Ecobass (100)	9794,6	a	438,1	403,1	700,0	-296,9	-323,9	-5,4
Octane (500)	9886,9	a	530,4	487,9	350,0	137,9	150,5	2,5
Perito 970 SG (1000) + Octane (500)	10020,2	a	663,8	610,7	800,0	-189,3	-206,6	-3,4
Bometil (300)	9705,4	a	348,9	321,0	384,0	-63,0	-68,7	-1,1
Perito 970 SG (1000) + Bometil (300)	9674,3	a	317,8	292,4	834,0	-541,6	-590,8	-9,8
FlyControl (500)	9973,0	a	616,6	567,2	700,0	-132,8	-144,8	-2,4
Perito 970 SG (1000) + FlyControl (500)	9937,7	a	581,2	534,7	1150,0	-615,3	-671,2	-11,2
Bovenat (100) + ADbio (200)	9899,5	a	543,0	499,5	275,0	224,5	244,9	4,1
Perito 970 SG (1000) + Bovenat (100) + ADbio (200)	9917,9	a	561,5	516,5	725,0	-208,5	-227,4	-3,8
Ballvéria (100)	10023,3	a	666,8	613,5	90,0	523,5	571,1	9,5
Perito 970 SG (1000) + Ballvéria (100)	10124,8	a	768,3	706,8	540,0	166,8	182,0	3,0
Perito 970 SG (1000)	10493,9	a	1137,5	1046,5	450,0	596,5	650,7	10,8
CV (%)	7,99							
Pr>F	0,3640							

<sup>(1)</sup> Considerou-se o valor da saca de 60 kg de milho a 55 reais; <sup>(2)</sup> O resultado é representado pela diferença entre o saldo e o custo do manejo; <sup>(3)</sup> Dose do produto comercial em gramas ou mL por hectare; Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

O manejo do complexo de enfezamentos requer ações preventivas para redução das fontes de inóculo e para redução dos níveis populacionais da cigarrinha, ações estas que devem ser adotadas por todos os produtores de milho na região, ressaltando que não há uma única medida altamente efetiva que aplicada isoladamente possa controlar o complexo de enfezamentos.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O monitoramento da densidade populacional da cigarrinha através das armadilhas amarelas apresentou-se como importante ferramenta para detectar a presença de insetos na área e demonstrou uma relação com o observado nas contagens da praga nas plantas de milho.

As pulverizações foliares tiveram baixa eficácia no controle de adultos de *D. maidis*.

Houve a prevalência de fitoplasma em relação ao espiroplasma nas plantas de milho, em contrapartida, as cigarrinhas analisadas não apresentaram prevalência de espiroplasma ou fitoplasma.

Com relação a redução da incidência de enfezamentos e do índice de enfezamento, as divergências entre os resultados observados nas duas safras indicam a necessidade da continuidade dos estudos buscando gerar um histórico de dados que sustentem o melhor posicionamento dos inseticidas biológicos na cultura do milho.

A produtividade com a utilização dos fungos *C. fumosorosea* e *B. bassiana*, independentemente do manejo utilizado, apresentou saldo econômico positivo em relação a testemunha, quebrando o paradigma de que apenas inseticidas químicos geram resultados positivos.

O modelo de análise de resultado econômico proposto neste estudo, auxilia o produtor na escolha dos produtos que irá utilizar em sua propriedade, priorizando a diminuição dos impactos ambientais. Espera-se que este estudo sirva como base para futuras pesquisas visando promover a adoção das práticas do MIP associadas ao controle biológico.



## REFERÊNCIAS

- AHMED, S. I.; LEATHER, S. R. Suitability and potential of entomopathogenic microorganisms for forest pest management – some points for consideration. **International Journal of Pest Management**, Cardif, v.40, p.287-292, 1994.
- ALCÁNTARA-MENDOZA, S. *et al.* Detección y evaluación del fitoplasma Maize Bushy Stunt en el Estado de Veracruz, México. **Revista Mexicana de Fitopatología**, Texcoco, v. 28, n. 1, p. 34-43, 2010.
- 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, S. B. Perspectivas para utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, 77-86, 1992.
- ÁVILA, C. J.; ARCE, C. C. M. Flutuação populacional da cigarrinha-do-milho em duas localidades do Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1129-1132, 2008.
- 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.
- ÁVILA, C. J. *et al.* **Desafios ao manejo de enfezamentos e viroses na cultura do milho**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2022.
- BARROS, T. S. L. *et al.* Design of a polymerase chain reaction for specific detection of corn stunt Spiroplasma. **Plant Disease**, v. 85, p. 475-480, 2001.
- BASCOPE-QUINTANILLA, J. B. **Agente causal de la llamada “raza mesa central” del achaparramiento del maiz**. 1977. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escuela Nacional de Agricultura, Colégio de Postgraduados, Chapingo, 1977.
- BATEMAN, R. P. *et al.* The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations at low humidities. **Annals of Applied Biology**, v. 122, n. 1, p. 145-152, 1993.
- BEDENDO, I. P.; DAVIS, R. E.; DALLY, E. L. Molecular evidence for the presence of maize bushy stunt phytoplasma in corn in Brazil. **Plant Disease**, v. 81, p. 957, 1997.
- BENZ, G. Synergism of micro-organisms and chemical insecticides. *In*: BURGESS D.; HUSSEY N. W. (Ed.). **Microbial control of insects and mites**. Londres: Academic Press, 1971, p. 327-355.
- BHAN, S. *et al.* Larvicidal toxicity of Temephos and entomopathogenic fungus, *Aspergillus flavus* and their synergistic activity against malaria vector, *Anopheles stephensi*. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 1, n. 6, p. 55-60, 2013.
- BOITEAU, G.; OSBORN, W. P. L.; DREW, M. E. Residual activity of imidacloprid controlling Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and three species of potato

colonizing aphids (Homoptera: Aphidae). **Journal of Economic Entomology**, v.90, p.309-319, 1997.

BOTERO, C. E. G.; MARÍN, P. M.; MACHADO, P. B. Claves para el éxito del hongo *Beauveria bassiana* como controlador biológico de la broca del café. **Avances Técnicos Cenicafé**, v. 384, p. 1-8, 2009.

BOUCIAS, D. G; PENDLAND, J. C.; Insect immune defense system, Part III: Prophenoloxidase cascade and postattachment processes of phagocytosis. *In*: BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C. **Principles of insect pathology**. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers, 1998, p. 499–537.

BOX, G. E. P; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Society**, vol. 26, n. 2, p. 211-252, 1964.

BROADBENT, L. Insecticidal control of the spread of plant viruses. **Annual Review of Entomology**, v.2, p. 339-354, 1957.

BURCKHARDT, D. *et al.* Psyllid host-plants (Hemiptera: Psylloidea): resolving a semantic problem. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 1, p. 242–247. 2014.

CARLONI, E. *et al.* 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.

CARRILLO-RAYAS, M. T.; BLANCO-LABRA, A. Potencial y Algunos de los Mecanismos de Acción de los Hongos Entomopatógenos para el Control de Insectos Plaga. **Acta Universitaria**, v. 19, n. 2, p. 40-49, 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Série histórica das safras. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-dassafras?start=20> p.,2021. Acesso em: 10 abr. 2023.

COTA, L. C. *et al.* **Deteção de patógenos causadores de enfezamento no Estado do Paraná na safrinha 2019**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2020. 15 p.

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

DELGADO, P. A. M.; MURCIA-ORDOÑEZ, B. Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. **Ambi-Agua**, v. 6, n. 2, p. 77-90, 2011.

DUARTE, A. P.; TSUNECHIRO, A.; FREITAS, R. S. de (Eds.). **3 décadas de inovações na cultura do milho safrinha: avanços e desafios**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2021. 330 p.

EBBERT, A. M.; NAULT, L. R. Improved overwintering ability in *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) vector infected with *Spiroplasma kunkelii* (Mycoplasmatales: Spiroplasmatacea). **Environmental Entomology**, v.23, p. 634-644. 1994.

ECKARD, S. *et al.* A simple in vitro method to study interactions between soil insects, entomopathogenic fungi, and plant extracts. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 163, p. 315-327, 2017.

EHLER, L. E. Perspectives Integrated pest management (IPM): definition, historical development and implementation, and the other IPM. **Pest Management Science**, v.62, p. 787-789, 2006.

FARIA, C. J. *et al.* **Controle de qualidade de produtos comerciais à base de fungos para manejo de invertebrados (insetos, ácaros, nematoides) em sistemas agropecuários.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2021.

FARIA, M.; WRAIGHT, 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.

FRANCE, A. *et al.* Patogenicidad de una colección de cepas nativas de *Metarhizium* spp. y *Beauveria* spp. en *Aegorhinus superciliosus*, *Asynonychus cervinus* y *Otiorhynchus sulcatus*. **Agricultura Técnica**, v. 60, n. 3, 2000.

FURLONG, M. J; GRODEN, E. Evaluation of synergistic interactions between the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) pathogen *Beauveria bassiana* and the insecticides, imidacloprid, and cyromazine. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 2, 2001.

GALLO, D. *et al.* **Entomologia Agrícola.** Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S.; MACEDO, L. P. M. Criação do parasitóide *Cotesia flavipes* em laboratório. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade.** Lavras: Ed. da UFLA, 2009. p. 117-168.

GUÉDEZ, C. *et al.* Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. **Academia**, v. 7, n. 13, p. 50-74, 2008.

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.

GUTIÉRREZ, M. E. M.; CÁRDENAS, Y. G.; LEQUERQUE, A. El género *Metarhizium sorokin* y su aplicación en el control de insectos plagas. **Revista Cubana de Ciencias Biológicas**, v. 5, n. 2, p. 1-13, 2017.

HANSON, P.; HILJE, L. **Control Biológico de Insectos.** Turrialba: Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Enseñanza, 1993.

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.

IBARRA-APARICIO, G.; MOYA-RAYGOZA G.; BERLANGA-PADILLA, A.; Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) (Delong & Wolcott, 1923) (Homoptera: Cicadellidae). **Folia Entomológica Mexicana**, v. 44, n.1, p. 1-6, 2005.

JENKINS, N. E.; GRZYWACZ, D. Quality control of fungal and viral biocontrol agents: assurance of product performance. **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, p. 753–777, 2000.

JONES, T. L.; MEDINA, R. F. Corn stunt disease: an ideal insect–microbial–plant pathosystem for comprehensive studies of vector-borne plant diseases of corn. **Plants**, v.9, n.747, p. 1-16, 2020.

LEE, I. M. *et al.* Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma like organisms. **Molecular Plant Pathology**, v. 83, p. 834-842, 1993.

LEGRAND, A. I.; POWER, A. G. Inoculation and acquisition of maize bushy stunt mycoplasma by its leafhopper vector *Dalbulus maidis*. **Annals of Applied Biology**, v.125, p.115-122, 1994.

LOPES, J. R. S.; OLIVEIRA, C. M. Vetores de vírus e mollicutes em milho em milho. *In*: OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M. (Ed.). **Doenças em milho: mollicutes, vírus, vetores, mancha por *Phaeosphaeria***. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 2004. p. 35–60.

MADDEN, L. V. *et al.* Effect of temperature on the population dynamics of three *Dalbulus* leafhoppers species. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 108, p. 475-485, 1986.

MARANHÃO, E. A. A.; MARANHÃO, E. H. A. Hongos entomopatogênicos: importante ferramenta para el control de “moscas blancas” (Homoptera: Aleyrodidae). **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 5, p. 209-242, 2009.

MARCIANO, A. F. *et al.* *Metarhizium anisopliae* sensu lato (s.l.) oil-in-water emulsions drastically reduced *Rhipicephalus microplus* larvae outbreak population on artificially infested grass. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 34, p. 488-492, 2021.

MARÍN, R. Biología y comportamiento de *Dalbulus maidis* (Homoptera-Cicadellidae). **Revista Peruana de Entomología**, v. 30, p. 113-117, 1987.

MARQUES, J. E.; ALVES, S. B.; MARQUES, R. M. I. Effects of the temperature and storage on formulations with mycelia of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 42, p. 153-160, 1999.

MASCARIN, G. M.; JARONSKI, S. T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.32, n.177, p. 1-26, 2016.

MASSOLA JÚNIOR, N. S. *et al.* Quantificação de danos causados pelo enfezamento vermelho e enfezamento pálido do milho em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**,

v. 24, n. 2, p. 136-142, 1999.

McCLATCHIE, G. V. *et al.* Effects of temperature on the viability of the conidia of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations. **Mycological Research**, Cambridge, v.98, p.749-756, 1994.

McKINNEY, H. H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, p.195-217, 1923.

MELO, D. R. *et al.* Desenvolvimento dos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 3, p. 166-170, 2007.

MENESES, A. R. **Dinâmica populacional de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) e seus parasitoides em cultivos de milho no Nordeste brasileiro**. 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2015.

MOORE, D. *et al.* Effects of moisture content and temperature on storage of *Metarhizium flavoviride* conidia. **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, p. 51-61, 1996.

MOYA-RAYGOZA, G.; NAULT, L. R. Transmission biology of maize bushy stunt phytoplasma by the corn-leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). **Arthropods in Relation to Plant Disease**, v. 91, n. 5, p. 668-676, 1998.

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.; MADDEN, L. V. Ecological strategies of *Dalbulus* leafhoppers. **Ecological Entomology**, v. 10, p. 57-63, 1985.

NAULT, L. R. Evolution of an insect pest: maize and the corn leafhoppers, a case study. **Maydica**, v. 35, p. 165-175, 1990.

NOME, C. *et al.* Differences in intracellular localization of corn stunt spiroplasmas in magnesium treated maize. **Biocell**, v. 33, n. 2, p. 133-136, 2009.

OLIVEIRA, C. M. **Variação morfológica entre populações de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae) de algumas localidades do Brasil**. 1996. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

OLIVEIRA, E. *et al.* Enfezamento pálido e enfezamento vermelho na cultura do milho no Brasil Central. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 45-47, 1998.

OLIVEIRA, E. *et al.* Molicutes e vírus em milho na safrinha e na safra de verão. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 1, n. 2, p. 38-46, 2002a.

OLIVEIRA, E. *et al.* Growth and nutrition of mollicute infected maize. **Plant Disease**, v. 86, n. 9, p. 945-949, 2002b.

OLIVEIRA, E. *et al.* Occurrence of viruses and stunting diseases and estimative of yield losses by mollicutes in corn in Paraná State, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 1, p. 19–25, 2003.

OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, A. C. Incidência de enfezamento e de Maize Rayado Fino Virus em milho em diferentes épocas de plantio e relação entre a expressão de sintomas foliares dos enfezamentos e produção. **Summa Phytopathologica**, v. 29, n. 3, p. 221-224, 2003.

OLIVEIRA, C. M. *et al.* Influence of latitude and elevation on polymorphism among populations of the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae). **Environmental Entomology**, v. 33, p. 1192-1199, 2004.

OLIVEIRA, E. *et al.* Spiroplasma and phytoplasma infection reduce kernel production, and nutrient and water contents of several but not all maize cultivars. **Maydica**, v. 50, p. 171-178, 2005.

OLIVEIRA, E. *et al.* Maize bushy stunt phytoplasma transmission by *Dalbulus maidis* is affected by spiroplasma acquisition and environmental conditions. **Bulletin of Insectology**, v. 60, n. 2, p. 229-230, 2007a.

OLIVEIRA, C. M. *et al.* Controle químico da cigarrinha-do-milho e incidência dos enfezamentos causados por mollicutes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 3, p.297-303, 2007b.

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, E.; LANDAU, E. C.; SOUSA, S. M. Simultaneous transmission of phytoplasma and spiroplasma by *Dalbulus maidis* leafhopper and symptoms of infected maize. **Phytopathogenic Mollicutes**, v. 5, p. 99-100, 2015.

OLIVEIRA, C. M.; SABATO, E. O. (Ed.). **Doenças em milho: insetos-vetores, mollicutes e vírus**. Brasília: Embrapa, 2018. 278 p.

OLIVEIRA, C. M.; FRIZZAS, M. R.; OLIVEIRA, E. Overwintering plants for *Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) adults during the maize off-season in central Brazil. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 40, p. 1105-1111, 2020.

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.

OMOTO, C. Modo de ação de inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. *In*: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D., CASTIGLIONE, E. (Org.). **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: Pallotti, 2000. p. 31-49.

OTTATI-DE-LIMA, E. L. *et al.* O. Produção semissólida de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* em diferentes substratos e efeito da radiação ultravioleta e da temperatura sobre propágulos desses entomopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 651- 659, 2010.

OZBEK, E. *et al.* Infection and replication of *Spiroplasma kunkelii* (Class: Mollicutes) in midgut and Malpighian tubules of the leafhoppers *Dalbulus maidis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 82, p. 167-175, 2003.

PECHER, P. *et al.* Phytoplasma SAP11 effector destabilization of TCP transcription factors differentially impact development and defence of Arabidopsis versus maize. **PLoS pathogens**, v. 15, n. 9, 2019.

PEREIRA, M. R.; ROBERTS, W. D. Alginate and cornstarch mycelial formulations of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 84, p. 1657-1661, 1991.

PRIOR, C.; JOLLANDS, P. Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 52, n. 1, p. 66-72, 1988.

QUESADA-MORAGA, E.; RUIZ-GARCÍA, A.; SANTIAGO-ÁLVAREZ, C. Laboratory Evaluation of Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* Against Puparia and Adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 6, p. 1955-1966, 2006.

SABATO, E. *et al.* Incidência do inseto-vetor de mollicutes e de enfezamentos em milho. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 9-107, 2008.

SABATO, E. O. **Manejo do risco de enfezamentos e da cigarrinha no milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018. 18 p.

SAGHAI-MAROOF, M. A. *et al.* Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley, Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 81, p. 8014-8018, 1984.

SANYANG, S.; VAN EMDEN, H.F.; MOORE, D. Laboratory shelf-life of oil-formulated conidia of the locust and grasshopper fungal pathogen *Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal, in mixtures with the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin. **Journal of Pest Management**, Londres, v.46, p.165-168, 2000.

SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n.3, p. 507-512, 1974.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete sample). **Biometrika**, Great Britain, v. 52, n.3, p. 591-611, 1965.

SMITH, S. M. *et al.* Formulation of vegetable fat pellets with pheromone and *Beauveria bassiana* to control the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn). **Pesticide Science**, Londres, v.55, p.711-718, 1999.

SOUSA, S. M. *et al.* **Infectividade da cigarrinha *Dalbulus maidis* com fitoplasma e espiroplasma em milho em diferentes épocas do ano.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. 19 p.

SOUZA, D. A. *et al.* First report on the natural occurrence of entomopathogenic fungi in populations of the leafhopper *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae): Pathogen identifications and their incidence in maize crops. **Fungal Biology**, v. 125, n.12, p. 980-988, 2021.

TODD, J. L.; MADDEN, L. V.; NAULT, L. R. Comparative growth and spatial distribution of *Dalbulus* leafhoppers populations (Homoptera: Cicadellidae) in relation to maize phenology. **Environmental Entomology**, v. 20, p. 556-564, 1991.

TOLEDO, A. V.; LENICOV, A. 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, n. 4, p. 225- 232, 2007.

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, p. 3, p. 291-315, 1985.

TSAI, J. H. Bionomics of *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott): a vector of mollicutes and virus (Homoptera: Cicadellidae). In: MARAMOROSCH, K.; RAYCHAUDHURI, S. P. (Ed.). **Mycoplasma diseases of crops: basic and applied aspects.** New York: Springer-Verlag, 1988. p. 209-221.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. United States Department of Agriculture: FY 2022 – Budget Summary. 2023. Disponível em: <<https://www.usda.gov/sites/default/files/documents/2023-budget-summary.pdf>>. Acesso em: 20 mai. 2023.

VAN LENTEREN, J. C. *et al.* Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **Biocontrol**, v.63, p.39-59, 2018.

VIDAL, C.; FARGUES, J. Climatic constraints for fungal biopesticides. In: EKESI, S.; MANIANIA, N. K. (Eds.) **Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management.** [s.l.]: Research Signpost, 1997. p. 39-55.

VIRLA, E. G.; ARAOZ, M. C.; ALBARRACIN, E. L. Estimation of direct damage to maize seedlings by the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae), under diferente watering regimes. **Bulletin of Entomological Research**, v. 111, n. 4, p. 438–444, 2021.

YÁÑEZ, M.; FRANCE, A. Effects of fungicides on the development of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 70, n. 3, p. 390-398, 2010.



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

WAQUIL, J. M. *et al.* 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.

WAQUIL, J. M. **Cigarrinha-do-milho**: vetor de mollicutes e vírus. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004.

WHITCOMB, R. F. *et al.* *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.

ZORZETTI, J. *et al.* Sensibilidade de conídios de *Beauveria bassiana* a fatores abióticos após sucessivos cultivos in vitro. **Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 1773-1784, 2014.

ZURITA, Y. A.; ANJOS, N.; 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, 2000.