

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

NEMATOIDES E FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DE *Dalbulus  
maidis* (DELONG & WOLCOTT) E SELETIVIDADE DE PRODUTOS  
FITOSSANITÁRIOS REGISTRADOS PARA A CULTURA DO MILHO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ANA CAROLINA DE OLIVEIRA

MONTE CARMELO  
MINAS GERAIS – BRASIL

2024

ANA CAROLINA DE OLIVEIRA

NEMATOIDES E FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DE *Dalbulus maidis* (DELONG & WOLCOTT) E SELETIVIDADE DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS REGISTRADOS PARA A CULTURA DO MILHO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais – Mestrado, área de concentração em Agricultura e Informações Geoespaciais, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho

Coorientador

Prof. Dr. Odair José Marques

MONTE CARMELO  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2024

ANA CAROLINA DE OLIVEIRA

NEMATOIDES E FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DE *Dalbulus maidis* (DELONG & WOLCOTT) E SELETIVIDADE DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS REGISTRADOS PARA A CULTURA DO MILHO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais – Mestrado, área de concentração em Agricultura e Informações Geoespaciais, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de janeiro de 2024.

Banca Examinadora

Dr<sup>a</sup>. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho – Instituto de Ciências Agrárias (UFU).

Dr<sup>o</sup>. Marcus Vinicius de Sampaio – Instituto de Ciências Agrárias (UFU).

Dr<sup>o</sup>. Fabio Janoni Carvalho – Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM).

-

MONTE CARMELO  
MINAS GERAIS – BRASIL

2024

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

O48  
2024

Oliveira, Ana Carolina de, 1996-  
Nematoides e fungos entomopatogênicos no controle de  
Dalbulus maidis (DeLong & Wolcott) e seletividade de  
produtos fitossanitários registrados para a cultura do  
milho. [recurso eletrônico] / Ana Carolina de Oliveira.  
- 2024.

Orientadora: Vanessa Andaló Mendes de Carvalho.  
Coorientadora: Odair José Marques .  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de  
Uberlândia, Pós-graduação em Agricultura e Informações  
Geoespaciais.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2024.107>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Agronomia. I. Carvalho, Vanessa Andaló Mendes de,  
1977-, (Orient.). II. , Odair José Marques, 1973-,  
(Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia.  
Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais.  
IV. Título.

CDU: 631

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Informações  
 Geoespaciais  
 Rodovia LMG 746, Km 01, s/nº, Bloco 1AMC, Sala 1A202, Monte Carmelo-MG, CEP 38.500-000  
 Telefone: (34) 3810-1033 - ppgaig@iciag.ufu.br



### ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Agricultura e Informações Geoespaciais				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico				
Data:	17/01/2024	Hora de início:	8h00	Hora de encerramento:	11h55min
Matrícula do Discente:	32122AIG002				
Nome do Discente:	Ana Carolina de Oliveira				
Título do Trabalho:	Nematoides e fungos entomopatogênicos no controle de <i>Dalbulus maidis</i> (DeLong & Wolcott) e seletividade de produtos fitossanitários registrados para a cultura do milho				
Área de concentração:	Informações geoespaciais e tecnologias aplicadas à produção agrícola				
Linha de pesquisa:	Sistemas integrados de produção vegetal				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Manejo integrado de pragas a partir de métodos convencionais e geotecnologia				

Reuniu-se na sala virtual a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais, assim composta: Profa. Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho (Presidente - Universidade Federal de Uberlândia, Campus de Monte Carmelo), Prof. Dr. Marcus Vinicius Sampaio (Universidade Federal de Uberlândia, Campus Uberlândia) e Prof. Dr. Fabio Janoni Carvalho (Instituto Federal do Triângulo Mineiro). Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir a senhora presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o candidato. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o candidato:

Aprovada

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Andalo Mendes de Carvalho, Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/01/2024, às 09:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fábio Janoni Carvalho, Usuário Externo**, em 22/01/2024, às 10:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcus Vinicius Sampaio, Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/01/2024, às 10:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **5120569** e o código CRC **DE809427**.

*Dedico esse trabalho a Deus e a minha persistência.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por mais uma conquista e por ter me sustentado até aqui com sabedoria e direção.

Agradeço ao Marcelo, meu irmão científico, pela amizade e contribuição no presente trabalho.

Agradeço também aos colegas Eduardo, Fernando Garcia, Heitor, Hugo, Juliana, Jordhanna, Laura e Marco Iony, pelos momentos de descontração e trocas de conhecimentos.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais (PPGAIG) e à Universidade Federal de Uberlândia – Campus Monte Carmelo, pela infraestrutura física e conhecimentos técnicos de excelente qualidade.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela bolsa de mestrado concedida.

Agradeço à professora Vanessa Andaló pela orientação, dedicação e por embarcar nessa aventura comigo.

**"Até aqui o Senhor nos ajudou".**

**1 Samuel 7,12.**



## BIOGRAFIA

Ana Carolina de Oliveira, filha de Paulo Cesar de Oliveira e Rosilaine Silva de Oliveira, irmã de Emilly Cristina de Oliveira, é nascida em 11 de fevereiro de 1996 na cidade de Uberlândia, Minas Gerais. Desde dezembro de 2019, é Engenheira Agrônoma formada pela Universidade Federal de Uberlândia - Campus Monte Carmelo. Durante a graduação, desenvolveu dois projetos de pesquisa de Iniciação Científica nas áreas de Botânica e Entomologia. Além disso, atuou como monitora da disciplina Estatística e foi estagiária na Fundação Bahia, situada em Luis Eduardo Magalhães, Bahia. Em 2020 e 2021, atuou como Assistente de Pesquisa no laboratório de Nematologia numa empresa de controle biológico no oeste baiano. Em julho de 2021, ingressou no Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais da Universidade Federal de Uberlândia - Campus Monte Carmelo, onde desenvolveu a dissertação intitulada “Nematoides e fungos entomopatogênicos no controle de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) e seletividade de produtos fitossanitários registrados para a cultura do milho”.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO 1

FIGURA 1. Sugadores recicláveis.....	20
FIGURA 2. Preparo das caixas tipo gerbox.....	21
FIGURA 3. Adultos de <i>Dalbulus maidis</i> mortos por nematoides entomopatogênicos. (A) <i>Heterorhabditis amazonensis</i> MC01, (B) <i>Steinernema feltiae</i> IBCB 47.....	25
FIGURA 4a. Concentração letal de <i>H. amazonensis</i> MC01 (juvenis infectantes por adulto) para provocar morte de adultos de <i>Dalbulus maidis</i> em condições de laboratório.....	26
FIGURA 4b. Concentração letal de <i>Steinernema feltiae</i> IBCB 47 (juvenis infectantes por adulto) para provocar morte de adultos de <i>Dalbulus maidis</i> em condições de laboratório.....	27

### CAPÍTULO 2

FIGURA 1. Preparo das caixas tipo gerbox.....	42
FIGURA 2. Adultos de <i>Dalbulus maidis</i> mortos por fungos entomopatogênicos. (A) <i>Beauveria</i> sp. 9, (B) <i>C. fumosorea</i> IBCB 130 e (C) <i>Metarhizium</i> sp IDM 1-1.....	44

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

TABELA 1. Mortalidade (%) de adultos de <i>Dalbulus maidis</i> causada por diferentes isolados de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório.....	24
TABELA 2. Duração e ciclo de vida de <i>Heterorhabditis amazonensis</i> MC01 em <i>Dalbulus maidis</i> na concentração 100 juvenis infectantes inseto <sup>-1</sup> (ciclo curto).....	27
TABELA 3. Duração e ciclo de vida de <i>Heterorhabditis amazonensis</i> MC01 em <i>Dalbulus maidis</i> na concentração 5 juvenis infectantes inseto <sup>-1</sup> (ciclo longo).....	28
TABELA 4. Duração e ciclo de vida de <i>Steinernema feltiae</i> IBCB 47 em <i>Dalbulus maidis</i> na concentração 100 juvenis infectantes inseto <sup>-1</sup> (ciclo curto).....	28
TABELA 5. Tempo de duração dos estágios de desenvolvimento de <i>Steinernema feltiae</i> IBCB 47 em <i>Dalbulus maidis</i> na concentração 5 juvenis infectantes inseto <sup>-1</sup> (ciclo longo).....	29
TABELA 6. Seletividade de <i>H. amazonensis</i> MC01 com produtos fitossanitários após 48 horas de contato.....	30
TABELA 7. Seletividade de <i>Steinernema feltiae</i> IBCB 47 com produtos fitossanitários após 48 horas de contato.....	31

### CAPÍTULO 2

TABELA 1. Isolados testados do gênero <i>Beauveria</i> , <i>Cordyceps</i> e <i>Metarhizium</i> quanto a sua patogenicidade em <i>D. maidis</i> em condições de laboratório.....	41
TABELA 2. Mortalidade (%) de adultos de <i>Dalbulus maidis</i> causada por diferentes isolados de fúngicos em condições de laboratório.....	44
TABELA 3. Área de crescimento micelial do isolado <i>Beauveria</i> sp. 9 em meio BDA com inseticidas registrados para a cultura do milho.....	46
TABELA 4. Área de crescimento micelial do isolado <i>Metarhizium</i> sp. IDM 1-1 em meio BDA com inseticidas registrados para a cultura do milho.....	47

## SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
REFERENCIAL TEÓRICO	1
1 Cultura do milho: importância econômica	1
2 <i>Dalbulus maidis</i> e transmissão de doenças foliares	1
2.1 Enfezamentos vermelho e pálido	3
2.2 Raiado fino	4
3 Nematoides entomopatogênicos	5
4 Fungos entomopatogênicos	6
4.1 Gênero <i>Beauveria</i>	6
4.2 Gênero <i>Cordyceps</i>	7
4.3 Gênero <i>Metarhizium</i>	7
CAPÍTULO 1	16
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1 Introdução	19
2 Material e Métodos	20
3 Resultados e Discussão	24
REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO 2	36
RESUMO	37
ABSTRACT	38
1 Introdução	39
2 Material e Métodos	40
3 Resultados e Discussão	43
4 Conclusão	47
REFERÊNCIAS	48

## RESUMO

OLIVEIRA, ANA CAROLINA DE. **Nematoides e fungos entomopatogênicos no controle de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) e seletividade de produtos fitossanitários registrados para a cultura do milho.** 2024. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2024.

*Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) constitui importante ameaça fitossanitária na cultura do milho, devido à transmissão do complexo de enfezamentos e dos vírus do raiado fino e mosaico estriado, além da sucção de fotoassimilados, afetando a produção de milho. A praga está presente durante todo o ciclo da cultura, porém o milho é mais sensível ao ataque em seus estágios iniciais. Elevadas temperaturas favorecem o aumento da população e os prejuízos podem atingir 100% das lavouras com alta infestação. Para o controle dessa praga, produtores rurais utilizam inseticidas químicos, porém esse método possui baixa eficiência e pode selecionar indivíduos resistentes. Os fungos são os entomopatógenos mais estudados, *Beauveria*, *Cordyceps* e *Metarhizium*, que são os principais gêneros pesquisados e com vários bioinseticidas formulados e comercializados. Outro grupo pouco estudado mas promissor são os nematoides entomopatogênicos que possuem bactérias em seu interior, uma vez que o nematoide entomopatogênico penetra o inseto pelas aberturas naturais, libera bactérias na hemolinfa do inseto, o que causa a sua morte. *Heterorhabditis* e *Steinernema* são os gêneros comumente estudados e usados como biocontrole. O presente estudo avaliou a eficiência de isolados de fungos e nematoides entomopatogênicos no controle de *D. maidis* em condições de laboratório, bem como a concentração letal dos isolados e teste de seletividade com produtos químicos registrados na cultura do milho. Não houve diferença significativa entre os isolados de *Heterorhabditis* e *Steinernema* testados, e estes apresentaram mortalidade superior a 50%. O isolado fúngico *Metarhizium* sp. IDM 1-1 teve mortalidade superior a 70%. Com relação à concentração letal (CL<sub>50</sub>), a maior mortalidade foi observada na concentração 75 juvenis infectantes (Jis) adulto<sup>-1</sup> para *H. amazonensis* MC01 e 25 JIs adulto<sup>-1</sup> para *S. feltiae* IBCB 47. Não houve diferença significativa entre as concentrações testadas dos isolados *Beauveria* sp. 9 e *Metarhizium* sp. IDM 1-1. Todos os inseticidas e herbicidas afetaram de forma negativa o isolado *H. amazonensis* MC01 e apenas o herbicida tembotriona foi classificado como inócuo a *S. feltiae* IBCB 47. O crescimento micelial dos isolados *Beauveria* sp. 9 e *Metarhizium* sp. IDM 1-1 foram afetados de forma significativa. Os inseticidas deltametrina e metomil reduziram o crescimento micelial do isolado *Beauveria* sp. 9. Com relação ao isolado *Metarhizium* sp. IDM 1-1, todos os inseticidas testados afetaram o seu crescimento micelial.

**Palavras-chave:** *Beauveria*; Heterorhabditidae; *Metarhizium*; Steinernematidae; *Zea mays*.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, ANA CAROLINA DE. **Nematodes and entomopathogenic fungi in the control of *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) and selectivity of registered phytosanitary products for corn cultivation**. 2024. 61 p. Dissertation (Master's in Agriculture and Geospatial Information) - Federal University of Uberlândia, Monte Carmelo, 2024.

*Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), constitutes an important phytosanitary threat to corn crops, due to the transmission of the stunt complex and the fine streak and striate mosaic viruses, in addition to the suction of photoassimilates, affecting corn production. The pest is present throughout the crop cycle, however corn is more sensitive to attack in its initial stages, high temperatures favor an increase in the population, losses can reach 100% of crops with high infestation. To control this pest, rural producers use chemical insecticides, however this method has low efficiency and can select resistant individuals. Fungi are the most studied entomopathogens, *Beauveria*, *Cordyceps* and *Metarhizium* are the main genera studied and with several bioinsecticides formulated and commercialized, another little studied but promising group are the entomopathogenic nematodes that have bacteria inside them, since the entomopathogenic nematode penetrates the insect through the natural openings, the bacteria are released into the insect's hemolymph, causing its death, *Heterorhabditis* and *Steinernema* are the genera commonly studied and used as biocontrol. The present study evaluated the efficiency of isolates of entomopathogenic fungi and nematodes in controlling *D. maidis* under laboratory conditions, as well as the lethal concentration of the isolates and selectivity testing with chemicals registered in corn crops. There was no significant difference between the *Heterorhabditis* and *Steinernema* isolates tested, and they presented mortality rates greater than 50%. The fungal isolate *Metarhizium* sp. IDM 1-1 had a mortality rate greater than 70%. Regarding the lethal concentration (LC50), the highest mortality was observed at the concentration 75 infective juveniles (Jis) adult-1 for *H. amazonensis* MC01 and 25 JIs adult-1 for *S. feltiae* IBCB 47. There was no significant difference between the concentrations tested from isolates *Beauveria* sp. 9 and *Metarhizium* sp. IDM 1-1. All insecticides and herbicides negatively affected the isolate *H. amazonensis* MC01 and only the herbicide tembotrione was classified as harmless to *S. feltiae* IBCB 47. The mycelial growth of the *Beauveria* sp. 9 and *Metarhizium* sp. IDM 1-1 were significantly affected, the insecticides deltamethrin and methomyl reduced the mycelial growth of the isolate *Beauveria* sp. 9, regarding the isolate *Metarhizium* sp. IDM 1-1, all insecticides tested affected their mycelial growth.

**Keywords:** *Beauveria*; Heterorhabditidae; *Metarhizium*; Steinernematidae, *Zea mays*.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### 1 Cultura do milho: importância econômica

O milho (*Zea mays* L.) é a segunda maior cultura anual do agronegócio brasileiro, sendo cultivado em todo o território nacional. Na safra 2022/23, foram produzidas cerca de 131 milhões de toneladas do cereal, sendo que no estado de Minas Gerais a produtividade média foi de 5.620 Kg por hectare (Companhia Nacional de Abastecimento, 2023). No Brasil, o milho é cultivado de forma intensiva, podendo ter até três safras ao longo do ano agrícola: primeira safra (primavera/verão), a segunda sucede o plantio de soja (verão/inverno) e a terceira que está sendo implantada em algumas regiões nos estados de Alagoas, Bahia, Sergipe e Roraima. Porém, essa forma de cultivo favorece a alta incidência de insetos-praga e doenças nas regiões produtoras (Companhia Nacional de Abastecimento, 2021).

Pertencente à família Poaceae, é uma planta anual e ereta com metabolismo C4. Sua altura varia entre 60 e 120 cm, e apresenta folhas com nervuras paralelas, inflorescências feminina e masculina, espigas com grãos de coloração amarela, sementes e raiz fasciculada. A escala fenológica da cultura é dividida em fase vegetativa, representada pela letra V, seguida de índices numéricos (V1, V2, V3, V4, V5, V6, Vn, Vt), onde “n” é o número de folhas expandidas e “t” corresponde à emissão do pendão (inflorescência masculina). A fase reprodutiva é simbolizada pela letra R de 1 a 6, e descreve as seguintes etapas: florescimento e polinização (R1), grão leitoso (R2), grão pastoso (R3), grão farináceo (R4), grão duro (R5) e maturidade fisiológica (R6). O período da emergência a maturidade fisiológica da cultura varia de 110 a 160 dias em função do híbrido utilizado, das condições edafoclimáticas e do manejo agrícola (Fancelli, 2015; Ritchie, Hanway Benson, 2003).

A ocorrência de insetos-praga é um dos principais entraves às altas produtividades e, desde 2015, uma das pragas que preocupam o produtor é a cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), devido à transmissão do complexo de enfezamentos (Gallo *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2002).

### 2 *Dalbulus maidis* e transmissão de doenças foliares

*Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) é um inseto sugador, monófago, com metamorfose incompleta (ovo-ninfa-adulto). As ninfas possuem coloração

amarelo-pálida e ficam localizadas na face abaxial das folhas. Os adultos também possuem coloração amarelo-pálida com duas pontuações negras no dorso da cabeça e asas transparentes, medindo de 3 a 4 mm de comprimento e aparelho bucal do tipo sugador labial. A fêmea realiza a oviposição individual ou agrupada dentro do tecido vegetal próximo à nervura, tendo capacidade média de oviposição de 129 ovos. Os adultos ficam localizados no interior do cartucho do milho e completa o seu ciclo de 20 a 70 dias, dependendo das condições ambientais (Gallo *et al.*, 2002; Waquil *et al.*, 1999).

O primeiro relato de *D. maidis* no Brasil ocorreu em 1938. É uma praga de controle trabalhoso devido à localização na planta (dentro do cartucho), tornando difícil o contato com inseticidas. Pela sua mobilidade alta, na ausência de plantas de milho no campo, o inseto migra para outros hospedeiros da família Poaceae (Gallo *et al.*, 2002; Ramos, 2016; Waquil *et al.*, 1999). Oliveira (2020) constatou em lavouras de milho-semente na cidade de Paracatu, Minas Gerais, que a população de *D. maidis* variou ao longo da fase vegetativa do milho, sendo que o pico populacional aconteceu 27 dias após a emergência da cultura.

A cigarrinha causa dois tipos de danos: direto e indireto. O dano direto se caracteriza pela sucção da seiva e o indireto pela transmissão do vírus *Maize rayado fino virus*, causador da doença foliar raiado fino e mollicutes: *Maize bushy stunt phytoplasma* e *Spiroplasma kunkelii*, causadores do enfezamento vermelho e pálido, respectivamente. A cigarrinha pode transmiti-los em conjunto ou de forma isolada (Gámez, 1973; Oliveira, 2018; Galvão, 2019;).

Tanto a fase jovem como o adulto de *D. maidis* podem adquirir os patógenos ao se alimentarem das plantas doentes, porém apenas os adultos realizam a transmissão para as outras plantas. O período de aquisição do *Maize rayado fino virus* (MRFV), *Maize bushy stunt phytoplasma* (MBSP) e *Spiroplasma kunkelii* após alimentação de uma planta doente por *D. maidis* são 6 horas, 2 horas e 1 hora, respectivamente. O período de colonização de *D. maidis* por MRFV, MBSP e *S. kunkelii* são 8 a 22 dias, 22 a 28 dias e 17 a 23 dias, respectivamente. O período em que *D. maidis* infecta uma planta sadia por MRFV é de 8 horas, MBSP apenas 1 hora e *S. kunkelii* cerca de 30 minutos. *Dalbulus maidis* é hospedeira e transmissora dos três fitopatógenos desde o momento da infecção até o final do seu ciclo (Bradfute *et al.*, 1980; Alivizatos, Markham, 1986; Legrand, Power 1994; Massola Junior, 2001).

Ramos *et al.* (2020) relatam que fêmeas infectadas pelo enfezamento vermelho preferiram plantas sadias para alimentação e oviposição. Quando os sintomas do enfezamento foram visíveis, as fêmeas e machos sadios preferiram as plantas doentes. As fêmeas infectadas não transmitem os patógenos a sua prole, porém, segundo Ramos *et al.* (2020), o



comportamento registrado favorece a rápida disseminação do *Maize bushy stunt phytoplasma* como a aquisição precoce deste pelo inseto (Moya, Naut, 1998; Waquil *et al.*, 1999; Gallo *et al.*, 2002).

Os principais métodos de controle empregados nas lavouras são o controle químico e o uso de híbridos tolerantes a *D. maidis* e aos enfezamentos (Cota *et al.*, 2018). Faria (2020) identificou genótipos com antixenose e/ou antibiose à cigarrinha. No Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) há 49 inseticidas químicos registrados para *D. maidis* (Agrofit, 2023), entretanto, o uso exclusivo e intensificado desses produtos pode resultar em populações resistentes aos princípios ativos e eliminação dos inimigos naturais. Por isso, é necessário o uso do manejo integrado de pragas (MIP), conjunto de vários métodos de controle, entre eles o controle biológico, que tem ganhado destaque no manejo da cigarrinha. Atualmente são 68 produtos biológicos registrados no MAPA, totalizando 117 fitossanitários destinados ao controle de *D. maidis* (Valicente, 2015; Mouden *et al.*, 2017; Fontes *et al.*, 2020; Aplicativo Bioinsumos, 2023).

## 2.1 Enfezamentos vermelho e pálido

Os enfezamentos são doenças foliares sistêmicas causadas pelos molicutes. Os molicutes são bactérias com membrana plasmática sem parede celular, com formatos variados e tamanho inferior a outras bactérias fitopatogênicas. Os molicutes são microrganismos biotróficos, ou seja, necessitam do hospedeiro vivo e têm como habitat o floema das plantas e a hemolinfa dos insetos. Subdividem-se em espiroplasma e fitoplasma. Os espiroplasmas pertencem à família Entomoplasmatales e ao gênero *Spiroplasma*. Possuem formato helicoidal e é possível cultivá-los em meio de cultura. Além de colonizar o floema das plantas, também podem infectar flores. As espécies de importância agrônômica do gênero *Spiroplasma* são *Spiroplasma citri* e *Spiroplasma kunkelii*. Os fitoplasmas não podem ser cultivados em meio de cultura, sendo identificados apenas por técnicas moleculares (Bedendo, 2018; Oliveira *et al.*, 2018).

*Spiroplasma kunkelii* é o agente causal da doença enfezamento pálido, também transmitida por *D. maidis*. Os sintomas do enfezamento pálido são semelhantes ao do enfezamento vermelho, porém o sintoma foliar são estrias esbranquiçadas. Özbek *et al.* (2003) relataram a presença de *S. kunkelii* nas células do intestino médio e nos túbulos de Malpighi de *D. maidis*. Estudos mostram maior incidência do enfezamento pálido em áreas com

temperaturas entre 25°C e 30°C. No Brasil, *S. kunkelii* foi relatado pela primeira vez em 1970 (Galvão, 2019; Oliveira *et al.* 2002).

O enfezamento vermelho é causado pelo fitoplasma *Maize bushy stunt phytoplasma* (MBSP), sendo relatado pela primeira vez em 1950 em lavouras de milho e em plantas dos gêneros *Urochloa* e *Panicum*. É transmitido por *Dalbulus elimatus* (Ball) (Hemiptera: Cicadellidae), *D. maidis* e *Graminella nigrifrons* (Forbes) (Hemiptera: Cicadellidae). Destes, o principal vetor é *D. maidis*, por sua ampla distribuição no continente americano (Oliveira *et al.*, 2018; Oliveira, Frizzas, 2022). Plantas infectadas pelo MBSP apresentam as extremidades das folhas avermelhadas, em função do acúmulo de compostos fenólicos, internódios curtos, nanismo, perfilhamento, espigas menores, menor peso de grãos, má formação de sementes, necrose do floema e senescência precoce. Galvão (2019), em seu trabalho sobre a dinâmica dos mollicutes nas lavouras de milho, analisou 89 amostras. Destas, em 36 foram detectadas a presença de MBSP. A incidência da doença foi maior em áreas com temperaturas na faixa de 18°C a 22°C.

Quando elas ocorrem ao mesmo tempo, tem-se o complexo de enfezamentos. Medeiros (2020) verificou que a alta severidade do complexo de enfezamentos causou menor germinação de sementes e a emergência de plântulas normais em três híbridos simples. Oliveira *et al.* (2002) constataram maior período de latência dos mollicutes dentro planta, sendo que após 100 dias da inoculação, os patógenos a colonizaram totalmente. Os autores também relataram maior incidência do *S. kunkelii*.

## 2.2 Raiado fino

*Maize rayado fino virus* (MRFV) é o *Marafivirus* causador da doença raiado fino ou risca do milho, sendo transmitido por *D. maidis* e *Peregrinus maidis* (Ashmead) (Hemiptera: Delphacidae). O primeiro relato em lavouras brasileiras data da década de 1970. Em 2021, foi relatada a presença do fitopatógeno no estado de Santa Catarina (Albuquerque *et al.*, 2022). Os sintomas da doença são manchas e estrias cloróticas na face adaxial das folhas. Cigarrinhas infectadas pelo MRFV preferem plantas saudias para alimentação (Canale, Nesi, Castilhos, 2023).

Gámez (1973) observou que *D. maidis* manteve a infectividade até vinte dias e os machos possuem um período de aquisição menor que as fêmeas. Cunha *et al.* (2023) ressaltam

que *D. maidis* em menor densidade ainda é eficiente na transmissão do MRFV. Casela, Ferreira e Pinto (2006) afirmam que a ocorrência de MRFV afeta em 30% a produção de grãos.

### 3 Nematoides entomopatogênicos

Os nematoides são organismos presentes no solo, com tamanho e forma variáveis e podem parasitar plantas (fitonematoides), animais (zooparasitas) ou insetos, conhecidos como nematoides entomopatogênicos (NEPs) (Ferraz, Brown, 2016).

Os NEPs apenas se desenvolvem dentro do inseto. De acordo com o modo de parasitismo, os NEPs podem ser classificados como: parasitas facultativos, quando se alimentam de outros microrganismos, como a espécie *Deladenus siricidicola* que, na ausência da vespa-da-madeira, *Sirex noctilio* (Fabricius, 1793) (Hymenoptera: Siricidae), alimenta-se do fungo *Amylostereum areolatum*. Há também os parasitas obrigatórios, quando não possuem outras fontes de alimentação. Esse é o caso do *Romanormis culicivorax*, parasita de larvas de dípteros, além das espécies dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* (Ferraz, 1998; Schiffer *et al.*, 2013).

Os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* possuem simbiose com as bactérias gram negativas dos gêneros *Photorhabdus* e *Xenorhabdus*, respectivamente (Fontes *et al.*, 2020). As bactérias são específicas para cada gênero e são encontradas na natureza somente no interior dos NEPs, porém é possível realizar sua multiplicação em meios de cultura.

Em geral, o ciclo de vida dos NEPs possui três fases: ovo, juvenil (subdividida em 1º, 2º, 3º e 4º estágio - J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>3</sub> J<sub>4</sub>) e adultos (machos e fêmeas). O J<sub>3</sub> é o estágio infectante e o único em que se desenvolve na ausência do hospedeiro. Na primeira geração do gênero *Heterorhabditis* ocorre a formação de hermafroditas, e a formação de machos e fêmeas ocorre na segunda geração (Andaló *et al.*, 2009). O juvenil infectante (JI) penetra no corpo do inseto através de aberturas naturais no tegumento; após a penetração, as bactérias são liberadas na hemolinfa e causam septicemia entre 24 e 48 horas após a liberação (Macedo, 2020).

Quanto à procura e captura dos hospedeiros, os nematoides podem ter o comportamento de emboscada (*ambusher*), em que aguardam pela passagem do inseto, ou de busca (*cruiser*), situação em que o nematoide localiza o hospedeiro por meio de compostos voláteis, emitidos pelo inseto ou pela planta sobre herbivoria, e pela taxa respiratória do inseto hospedeiro (Macedo, 2019).

No Brasil, foram identificadas duas espécies nativas: *Heterorhabditis amazonensis* e *Steinernema brazilense* (Andaló, Nguyen, Moino Junior, 2006; Nguyen *et al.*, 2010). Em 2022, a empresa Koppert lançou o produto Terranem<sup>®</sup>, que tem como princípio ativo *Steinernema carpocapsae*.

Voss (2009) salienta que os NEPs são agentes de controle promissores, com relatos sobre a eficiência de controle em *Dysmicoccus* spp. (Hemiptera: Pseudococcidae); *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae); *Mahanarva frimbiolata* (Hemiptera: Cercopidae); *Quesada gigas* (Hemiptera: Cicadidae) (Alves *et al.*, 2009; Borges *et al.*, 2023; Leite *et al.*, 2005; Silva, 2011)

## **4 Fungos entomopatogênicos**

Os fungos são os principais microrganismos utilizados no controle de pragas por apresentarem fácil manipulação, produção massal e, diferente dos demais microrganismos, eles não dependem da ingestão pelo inseto para que a infecção ocorra, sendo necessário apenas o contato para sua penetração em seus hospedeiros. São classificados em parasitas facultativos, quando o fungo persiste no ambiente sem a presença do hospedeiro e cresce em meio de cultura; e parasitas obrigatórios, quando a produção em meio de cultura é difícil e é necessário um hospedeiro. Há também o parasita ocasional, em que o microrganismo causa patogenicidade em determinadas condições e permanece de forma saprófita no solo (Alves, Lecuona, 1998). Os gêneros mais empregados no controle de insetos-praga são *Beauveria*, *Cordyceps* e *Metarhizium* (Fontes *et al.*, 2020).

### **4.1 Gênero *Beauveria***

O gênero *Beauveria* pertence à classe Hyphomycetes, e é um fungo habitante de solo classificado como parasita facultativo. Ele possui ampla distribuição geográfica, sendo a principal espécie a do gênero *Beauveria bassiana* (Alves, 1998; Dalzoto, Uhry, 2009).

A infecção inicia-se com a penetração mecânica ou química, seguido pela germinação dos conídios no tegumento, mas também ocorre por via respiratória ou oral. Após a germinação dos conídios, formam-se os tubos germinativos e hifas que atravessam o tegumento e a hemolinfa. Após 72 horas, o inseto morre devido ao esgotamento dos nutrientes e metabólitos tóxicos e o fungo forma uma massa branca sobre o cadáver (Alves, 1998; Lazzarini, 2005).

Cerca de 91% dos bioinseticidas registrados no controle de *D. maidis* têm como princípios ativo o *B. bassiana* (Aplicativo Bioinsumos, 2023). Segundo Toledo, Lenicov e Lastra (2007), o isolado *B. bassiana* CEP 147 causou mortalidade de 49,9% em adultos. Ibarra-Aparicio, Moya e Padilla (2005) verificaram mortalidade de 52,8% após 10,5 dias de aplicação com a Cepa M362 e esporulação do fungo em três dias. Esses foram resultados diferentes dos encontrados por Libera *et al.* (2022), em que o isolado testado não teve eficiência de controle e nem causou menor incidência de *D. maidis*.

#### 4.2 Gênero *Cordyceps*

O fungo *Cordyceps* (= *Isaria*) spp. pertence à família Cordycipitaceae e possui ocorrência natural em diversos *habitats*. A principal espécie do gênero é *Cordyceps fumosorosea*, que foi identificada por Wize em 1904 (Alves, 1998; Zimmermann, 2008). As espécies do gênero produzem a cordicepina, que inibe a ação de bactérias (Alves, 1998).

A espécie *Cordyceps fumosorosea* é bastante empregada nos programas de controle biológico. Na literatura há relatos de epizootia natural de insetos nas ordens Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera e Lepidoptera (Alves, 1998; Souza *et al.*, 2022).

*Cordyceps fumosorosea* possui micélios de coloração branca e, posteriormente, rosa. A penetração no inseto ocorre por via mecânica e química com hidrólise da quitina. Gondim (2021) verificou que *C. fumosorosea* reduziu a população de ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) em feijoeiro-comum em Goiás. Existem três produtos à base de *Cordyceps* registrados para o controle de *D. maidis* no Brasil (Agrofit, 2023).

#### 4.3 Gênero *Metarhizium*

Os fungos do gênero *Metarhizium* pertencem ao filo Ascomycota e família Clavicipitaceae. Eles foram identificados como entomopatógenos por Eli Metchnikoff, que observou o parasitismo de *Anisoplia austriaca* (Herbst, 1783) (Coleoptera: Scarabaeidae), importante praga na cultura do trigo (Alves, 1998; Davidson, 2012).

O parasitismo inicia-se com a penetração na cutícula do inseto por princípio físico, em que há ruptura do tegumento. É possível ocorrer também por ação química, em que ocorre a produção de enzimas, facilitando a penetração mecânica. Em seguida, a hifa penetra e se ramifica inicialmente no tegumento do inseto e na hemocele, com o objetivo de se proteger

contra o sistema de defesa do inseto (encapsulação). Porém, algumas espécies como *Metarhizium riley* (= *Nomuraea riley*) não possuem o apressório; logo, o fungo produz uma massa mucilaginosa ao redor do tubo germinativo, facilitando sua adesão e penetração no corpo do inseto (Alves, 1998; Suwannakut; Boucias e Wiwat, 2005; Fontes *et al.*, 2020).

*Metarhizium* spp. possui uma alta taxa de crescimento em insetos e meios de cultura. Souza *et al.* (2021) relataram a ocorrência natural de *M. brasiliense* em cadáveres de *D. maidis* em lavouras de milho localizadas nas regiões Centro-Oeste e Nordeste. Iwanicki *et al.* (2020) afirmam que blastósporos de *M. robertsii* ESALQ1426 possuem alta virulência a *D. maidis*.

## REFERÊNCIAS

- AGROFIT – Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Brasil: Ministério da Agricultura, 2023. Disponível em: [agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 29 mai 2023.
- ALBUQUERQUE, M.R.M.; AMARAL, D.S.D.; NASCIMENTO, S.C.D.; SANTOS, A. N. M. R.; GORAYEB, E.; HORA JÚNIOR, B. T.; CAMARGO, M. P.; BELLINI, L. F.; SCHUSTER, I. M.; MENDES, G. C.; CASA, R. T.; SILVA, F. N. First report of *Maize Rayado Fino* virus in corn fields in Santa Catarina, Brazil. **Plant Disease**, jul. 2022. Disponível em: 10.1094/pdis-05-22-1011-pdn. PMID: 35787002. Acesso em: 21 out. 2023.
- ALIVIZATOS, A. S.; MARKHAM, P. G. Acquisition and transmission of corn stunt Spiroplasma by its leafhopper vector *Dalbulus maidis*. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 108, p. 535-544, 1986. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1986.tb01992.x>
- ALVES, S. B. Fungos Entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. cap. 11, p. 289-370.
- ALVES, S. B.; LECUONA, R. E. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. cap. 5, p. 97-163.
- ALVES, V.S.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA-CECILIA, L.V.C.; ANDALÓ, V.; SOUZA, G.C. Patogenicidade de nematoides entomopatogênicos à cochonilha da raiz do cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório. 2009. **Arquivos do Instituto Biológico**. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p0672009>
- ANDALÓ, V.; NGUYEN, K. B.; MOINO JR, A. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. **Nematology**, v. 8, n. 6, p. 853-867, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1163/156854106779799286>
- ANDALÓ, V.; MOREIRA, F. G.; CAVALCANTI, R. S.; MOINO JUNIOR, A. Observations on the life cycle and pathogenicity of *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, 194-197, 2009. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Observations-on-the-life-cycle-and-pathogenicity-of-Andal%C3%B3-Moreira/5145a5d0674cdc3364d2342ea4ffca5403cd42c0>. Acesso em: 25 jun. 2023.
- BEDENDO, I.P. Fitoplasma e espiroplasma. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. São Paulo: Agronomica Ceres, 2018. p. 181-190.
- BORGES, J. V. O.; ANDALÓ, V.; TEMPORIM, L.; ARRIERO, L. P. M.; LIMA, L. M. R.; FARIA, L. S. Virulence of entomopathogenic nematodes against Neotropical Brown Stink Bug (*Euschistus heros* [Fabricius], Hemiptera, Pentatomidae) and compatibility with phytosanitary products under laboratory conditions. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 25, p. 1-12, 2023.

BRADFUTE, O. E.; NAULT, L. R.; GORDON, D. T.; ROBERTSON, D. C.; TOLER, R. W.; BOOTHROYD, C. W. Identification of *Maize Rayado Fino* virus in the United States. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 64, p. 50-53, 1980. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-64-50>

CANALE, M.C.; NESI, C.N.; CASTILHOS, R.V. Abundance of *Dalbulus maidis* and impact of maize rayado fino disease on different genotypes in field conditions in Santa Catarina, Brazil. **Tropical Plant Pathology**. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00609-1>

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; PINTO, N.F.J.A. Doenças na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006 (Circular Técnica 83). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/490415/1/Circ83.pdf>. Acesso em: 20 maio 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. Brasília, DF, v. 9, safra 2021/22, n. 3. Levantamento, dezembro 2021.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**: Safra 2022/23 7º levantamento. Abril 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletim-da-safra-de-gaos>. Acesso em: 6 maio 2023.

COTA, L.V.; SILVA, D. D.; AGUIAR, F. M.; COSTA, R. V. Resistencia de Genótipos de Milho aos Enfezamentos. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018 (**Circular Técnica 247**). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1100104/1/circ247.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2022.

CUNHA, T.G.; VELOSO, R.V.D.S.; DE ARAÚJO, M.M.M.; TAVARES, L.G.; RIBEIRO, L.F.B.; TORMEN, G.P.; CAMPOS, D.S.; PICANÇO, M.C.; LOPES, E.A.; PEREIRA, R.R.; SOARES, M.A.; DA SILVA, R. S. Distribution of *Dalbulus maidis* (DeLong) (Hemiptera: Cicadellidae) and incidence of maize rayado fino virus and *Candidatus* Phytoplasma asteris in corn succession planting systems. **Pest Management Science**, v. 79, p. 2325-2337, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.7408>

DALZOTO, P. R.; UHRY, K. F. Controle biológico de pragas no Brasil por meio de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 37-41, 2009. Disponível em: [http://201.55.42.151/uploads/docs/bio/v71\\_1/dalzoto.pdf](http://201.55.42.151/uploads/docs/bio/v71_1/dalzoto.pdf). Acesso em: 29 out. 2023.

DAVIDSON, E.W. History of Insect Pathology. In: VEGA, F.E.; KAYA, H.K. (Ed.). **Insect Pathology**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2012. chap. 2, p. 13-28. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384984-7.00002-6>

EMBRAPA AGRICULTURA DIGITAL. Aplicativo Bioinsumos. Versão 2.0. Campinas, São Paulo. Disponível em: [https://play.google.com/store/apps/details?id=br.embrapa.bioinsumos&hl=pt\\_BR&gl=US](https://play.google.com/store/apps/details?id=br.embrapa.bioinsumos&hl=pt_BR&gl=US). Acesso em: 1 mar. 2023.



FANCELLI, A. L. Manejo baseado na fenologia aumenta eficiência de insumos e produtividade. **Visão Agrícola** (USP / ESALQ), v. 9, p. 16-19, 2015. Disponível em: [https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA\\_13\\_Fisiologia-artigo2.pdf](https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Fisiologia-artigo2.pdf). Acesso em: 6 ago. 2023.

FARIA, R. D. **Resistência de genótipos de milho Bt e não Bt a *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) e mollicutes**. 2020. Dissertação (Mestrado em Entomologia), Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Botucatu, 2020. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/bb628285-e9c9-4f56-bd39-85c6224f73b3/content>. Acesso em: 28 ago. 2021.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016. 251 p.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides Entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. cap. 16, p. 541-569.

FONTES, G. M. E.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2020. v. 1. 510p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GALVÃO, S. R. **Enfezamentos do milho: incidência do fitoplasma e espiroplasma, dinâmica populacional, expressão de sintomas e caracterização molecular do fitoplasma com base no gene SecY**. 2019. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019. Disponível em: [doi:10.11606/T.11.2020.tde-06032020-102732](https://doi.org/10.11606/T.11.2020.tde-06032020-102732). Acesso em: 21 jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.11606/T.11.2020.tde-06032020-102732>

GÁMEZ, R. Transmission of rayado fino virus of maize (*Zea mays*) by *Dalbulus maidis*. **Annals of Applied Biology**, v. 73, n. 3, p. 285–292, 1973. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1744-7348.1973.tb00935.x>. Acesso em: 19 out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1973.tb00935.x>

GONDIM, R. S. **Fungo entomopatogênico *Cordyceps fumosorosea* no controle de *Bemisia tabaci* em feijoeiro comum**. 2021. 39 f. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Proteção de Plantas, Instituto Federal Goiano, Urutaí, 2021. Disponível em: [https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/2056/1/disserta%c3%a7ao\\_%20Renata%20Gondim.pdf](https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/2056/1/disserta%c3%a7ao_%20Renata%20Gondim.pdf). Acesso em: 8 jun. 2023.

IBARRA-APARICIO, G.; MOYA, G. R.; PADILLA, A. B. Efeito de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) (DeLong y Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae). **Folia Entomologica México**, v. 44, n. 1, p. 1-6, 2005.

IWANICKI, N.S., MASCARIN, G.M., MORENO, S.G.; ELIENBERG, J.; DELALIBERA JUNIOR, I. Growth kinetic and nitrogen source optimization for liquid culture fermentation

of *Metarhizium robertsii* blastospores and bioefficacy against the corn leafhopper *Dalbulus maidis*. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 36, n. 71, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02844-z>. Acesso em: 1 mar. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02844-z>

LAZZARINI, G. M. J. **Efeito da umidade sobre a germinação in vitro de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e atividade contra *Triatoma infestans***. 2005. 46p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

LEGRAND, A. I.; POWER, A. G. Inoculation and acquisition of maize bushy stunt mycoplasma by its leafhopper vector *Dalbulus maidis*. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 125, p. 115-122, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1994.tb04952.x>

LEITE LG, MACHADO LA, GOULART RM, TAVARES FM, BATISTA FILHO A. Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabricius) (Hemiptera: Cercopidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 785–790, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000500010>. Acesso em: 16 maio 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000500010>

LIBERA, D. S. D.; ANDRADE, J. A. C.; DE BARROS, F. A. D.; REZENDE, J. L. B.; SILVA, T. C.; NUNES, T. C.; CERESINI, P. C. Controle biológico da cigarrinha (*Dalbulus maidis*) e da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) do milho com *Beauveria* SSP. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 41727–41738, 2022. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/48646>. Acesso em: 2 nov. 2023. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv8n5-587>

MACEDO, M. F. **Identificação Molecular e Caracterização Morfológica do Isolado de Nematóide Entomopatogênico *Heterorhabditis* sp. Uenp n-01 Obtido em Área de Pastagem no Município de Ribeirão Claro, Paraná**. 2020. 57f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes, Paraná. 2020. Disponível em: <https://uenp.edu.br/dissertacao-agronomia/16388-mariana-ferracin-de-macedo/file>. Acesso em: 3 ago. 2023.

MASSOLA JÚNIOR, N.S. Enfezamentos vermelho e pálido: Doenças em milho causadas por mollicutes. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 237-243, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2001v22n2p237>. Acesso em: 29 set. 2023. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2001v22n2p237>

MEDEIROS, J. C. **Abordagem multivariada da qualidade física e fisiológica de sementes de milho híbrido afetadas por mollicutes MRFV**. 2020. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias – Agronomia). Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Rio Verde, Goiás. 2020. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/1121>. Acesso em: 20 jun. 2023.

MOUDEN, S.; SARMIENTO, K. F.; KLINKHAMER, P. G. L.; LEISS, K. A. Integrated pest management in western flower thrips: past, present and future. **Pest Management Science**, v. 73, n. 5, p. 813-822, 2017. Disponível

em:<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1002/ps.4531>. Acesso em: 20 jun. 2023.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4531>

MOYA, R.G.; NAULT, L. R. Transmission biology of maize bushy stunt phytoplasma by the corn leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 91, n. 5, p. 668-676, 1998. Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/publication/233515559\\_Transmission\\_Biology\\_of\\_Maize\\_Bushy\\_Stunt\\_Phytoplasma\\_by\\_the\\_Corn\\_Leafhopper\\_Homoptera\\_Cicadellidae](https://www.researchgate.net/publication/233515559_Transmission_Biology_of_Maize_Bushy_Stunt_Phytoplasma_by_the_Corn_Leafhopper_Homoptera_Cicadellidae). Acesso em: 29 out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/aesa/91.5.668>

NGUYEN, K. B.; GINARTI, C. M. A.; LEITE, L. G.; SANTOS, J. M.; HARAKAVA, R. *Steinernema brazilense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Mato Grosso, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, n. 1, p.8-20, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.09.004>

OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C.M.; SOUZA, I.R.P.; MAGALHÃES, P.C.; CRUZ, I. Enfezamento em milho: expressão de sintomas foliares, detecção dos mollicutes e interações com genótipos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 1, p. 53-62, 2002. Disponível em:  
<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/480747/1/Enfezamentosmilho.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v1n1p53-62>

OLIVEIRA, E.; VALIŪNAS, D.; JOVIĆ, J.; BEDENDO, I.; URBANAVIČ, L.; OLIVEIRA, C. M. Occurrence and epidemiological aspects of Phytoplasmas in cereals. In: RAO, G.P.; BERTACCINI, A.; FIORE, N.; LIEFTING, L.W. (Org.). **Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria-I**. 1ed. Singapore: Springer, 2018, v. 1, p. 67-89. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-981-13-0119-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-13-0119-3_3)

OLIVEIRA, U. E. **Resistência de genótipos de milho a *Dalbulus maidis* e ao complexo de enfezamentos**. 2020. Dissertação (Mestrado em Defesa Sanitária Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2020. Disponível em:  
<https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/29967/3/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 29 set. 2023.

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**, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00932-9>

ÖZBEK E., MILLER, S. A., MEULIA, T, HOGENHOUT, S.A. Infection and replication sites of *Spiroplasma kunkelii* (Class: Mollicutes) in midgut and Malpighian tubules of the leafhopper *Dalbulus maidis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 82, n. 3, p. 167-175, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-2011\(03\)00031-4](https://doi.org/10.1016/S0022-2011(03)00031-4)

RAMOS, A. **Efeito de maize bushy stunt phytoplasma na sobrevivência de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) sobre milho e plantas infestantes**. 2016. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016. Disponível em:  
[https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-09032016-095720/publico/Anderson\\_Ramos\\_versao\\_revisada.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-09032016-095720/publico/Anderson_Ramos_versao_revisada.pdf). Acesso em: 28 ago. 2021.

RAMOS, A.; ESTEVES, M.B.; CORTÉS, M.T.B.; LOPES, J.R.S. *Maize bushy stunt phytoplasma* favors its spread by changing host preference of the insect vector. **Insects**, v. 11, n.9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects11090600>

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho de milho se desenvolve. **Arquivo do Agrônomo Potafos**, Piracicaba, n. 103, p. 1- 20, 2003.

SCHIFFER, P.H., KROIHER, M., KRAUS, C.; KOUTSOVOULOS, G. D.; KUMAR, S.; CAMPS, J. I. R.; NSAH, N. A.; STAPPERT, D.; MORRIS, K.; HEGER, P.; ALTMÜLLER, J.; FROMMOLT, P.; NÜRNBERG, P.; THOMAS, W. K.; BLAXTER, M.L.; SCHIERENBERG, E. The genome of *Romanomermis culicivorax*: revealing fundamental changes in the core developmental genetic toolkit in Nematoda. **BMC Genomics**, v. 14, 923, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-923>

SHAPIRO-ILAN, D. I.; LEWIS, E. E.; SCHLIEKELMAN, P. Aggregative group behavior in insect parasitic nematode dispersal. **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 1, p.49-54, jan. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.10.002>

SILVA, M. A. T. **Controle de *Quesada gigas* (Hemiptera:Cicadidae) pela aplicação de nematoides entomopatogênicos e compatibilidade com alguns produtos fitossanitários em cafeeiro**. 2011. Tese (Doutorado em Entomologia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011. Disponível em: [http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/579/1/TESE\\_Controle%20de%20Quesada%20gigas%20%28Hemiptera%20Cicadidae%29%20pela%20aplica%C3%A7%C3%A3o%20de%20nematoides%20entomopatog%C3%AAnicos%20e%20compatibilidade%20com%20alguns%20produtos%20fitossanit%C3%A1rios%20em%20cafeeiro.pdf](http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/579/1/TESE_Controle%20de%20Quesada%20gigas%20%28Hemiptera%20Cicadidae%29%20pela%20aplica%C3%A7%C3%A3o%20de%20nematoides%20entomopatog%C3%AAnicos%20e%20compatibilidade%20com%20alguns%20produtos%20fitossanit%C3%A1rios%20em%20cafeeiro.pdf). Acesso em: 28 ago. 2021.

SOUZA, D. A.; OLIVEIRA, C. M.; TAMAI, M. A.; FARIA, M; LOPES, R. B. 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**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.08.004>

SOUZA, F. M.; SILVA, R. A.; SILVA, M. L.; SOUZA, L. E. Fungos entomopatogênicos associados ao controle da mosca-branca: Uma revisão. **Research, Society and Development**, [S.l.], v. 11, n. 11, p. e252111133536-e252111133536, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i11.33536>

SUWANNAKUT, S., D.G. BOUCIAS, E C. WIWAT, Genotypic analysis of *Nomuraea rileyi* collected from various noctuid hosts. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 90, n. 3, p.169-176, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2005.08.010>

TOLEDO, A. V., LENICOV, A. M. M. R.; LASTRA, C. C. L. Pathogenicity of fungal isolates (Ascomycota: Hypocreales) against *Peregrinus maidis*, *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae), and *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae), vectors of corn diseases. **Mycopathologia**, v. 163, n. 4, p. 225–232, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-007-9006-y>

VALICENTE, F. H. Manejo integrado de pragas na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015 (**Circular Técnica** 208). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125260/1/circ-208.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2022.

VOSS, M. Nematoides entomopatogênicos como agentes de controle biológico de insetos. In: **Manual de Técnicas Laboratoriais para Obtenção, Manutenção e Caracterização de Nematoides Entomopatogênicos**. Embrapa Trigo. Documentos 97, p. 9-17, 2009.

WAQUIL, M. J.; VIANA, A.P.; CRUZ, I.; SANTOS, P.J. 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. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0301-80591999000300005>. Acesso em: 31 jun. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0301-80591999000300005>

ZIMMERMANN, G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinose* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. **Biocontrol Science and Technology**, v. 18, n. 9, p. 865-901, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583150802471812>

## **CAPÍTULO 1**

### **NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO O CONTROLE DA CIGARRINHA-DO-MILHO, *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO, E COMPATIBILIDADE COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS.**

OLIVEIRA, ANA CAROLINA DE. *Heterorhabditis amazonensis* e três espécies de *Steinernema* no controle da cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) e compatibilidade dos nematoides com produtos fitossanitários em condições de laboratório. 2024. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2024.

## RESUMO

A cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), era considerada praga secundária em cultivos de milho no Brasil; no entanto, a partir de 2015, foi constatado um aumento populacional e alta incidência dos enfezamentos pálido e vermelho, fitopatogênicos transmitidos por essa espécie, tornando-a importante praga agrícola. Os nematoides entomopatogênicos são agentes promissores no controle de pragas agrícolas, com destaque aos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*. Diante disso, teve-se por objetivo avaliar a patogenicidade e virulência dos isolados *Heterorhabditis amazonensis* e *Steinernema brazilense*, *Steinernema carpocapsae* e *Steinernema feltiae* em adultos de *D. maidis*, assim como a concentração letal (CL50), a seletividade com cinco inseticidas e quatro herbicidas químicos utilizados na cultura do milho e o ciclo de vida dos nematoides no inseto. Não houve diferença significativa entre os isolados, que apresentaram taxa de mortalidade superior a 50%. A concentração letal de *H. amazonensis* MC01 foi de 75 JIs adulto<sup>-1</sup> e 25 JIs adulto<sup>-1</sup> para *S. feltiae* IBCB 47. Nenhum produto fitossanitário foi inócuo a *H. amazonensis* MC01. O herbicida tembotriona não afetou a viabilidade e infectividade de *S. feltiae* IBCB 47. Os isolados *H. amazonensis* MC01 e *S. feltiae* IBCB 47 completaram o ciclo de vida em adultos de *D. maidis*, sendo que o isolado *S. feltiae* IBCB 47 apresentou maior duração do ciclo de vida que *H. amazonensis* MC01.

**Palavras-chave:** biocontrole; concentração letal; *Heterorhabditis*; *Steinernema*; *Zea mays*.

OLIVEIRA, ANA CAROLINA DE. **Evaluation of *Heterorhabditis amazonensis* and three species of *Steinernema* in the control of the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and compatibility of nematodes and phytosanitary products under laboratory conditions.** 2024. 61 p. Dissertation (Master's in Agriculture and Geospatial Information) - Federal University of Uberlândia, Monte Carmelo, 2024.

## ABSTRACT

The corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), was initially considered a secondary pest in corn crops in Brazil. However, since 2015, there has been an observed increase in population and high incidence of pale and red wilts, phytopathogens transmitted by this species, elevating its status to an important agricultural pest. Entomopathogenic nematodes, particularly of the genera *Heterorhabditis* and *Steinernema*, are promising agents for agricultural pest control. This study aimed to assess the pathogenicity and virulence of isolated entomopathogenic nematodes, including seven isolates belonging to the genera *Heterorhabditis amazonensis* and *Steinernema brazilense*, *Steinernema carpocapsae*, and *Steinernema feltiae*, against *D. maidis* adults. Additionally, the lethal concentration (LC<sub>50</sub>), compatibility, and selectivity with five insecticides and four chemical herbicides used in corn cultivation were evaluated, along with the life cycle of nematodes within the insect. No significant difference was observed among the isolates, all exhibiting a mortality rate exceeding 50%. The lethal concentration for *H. amazonensis* MC01 was 75 infective juveniles per adult, while for *S. feltiae* IBCB 47, it was 25 infective juveniles per adult. None of the phytosanitary products were innocuous to *H. amazonensis* MC01. The herbicide tembotrione did not affect the viability and infectivity of *S. feltiae* IBCB 47. Isolates *H. amazonensis* MC01 and *S. feltiae* IBCB 47 completed their life cycle in *D. maidis* adults, with *S. feltiae* IBCB 47 exhibiting a longer life cycle duration than *H. amazonensis* MC01.

**Keywords** Biocontrol; lethal concentration; *Heterorhabditis*; *Steinernema*; viruses; *Zea mays*.



## 1 Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma das principais *commodities* do agronegócio brasileiro, sendo cultivado em todo o território nacional. Na safra 2021/2022, a produção foi 113,1 milhões de toneladas e previsão de aumento de 10,4% para 2022/2023. No Brasil, o milho é cultivado de forma intensiva, podendo ter até três safras ao longo do ano: a primeira (primavera/verão), a segunda (verão/outono/inverno) e a terceira realizada em alguns estados do Nordeste (Conab 2023; von Pinho *et al.*, 2017). Entretanto, o cultivo intensivo pode favorecer o aumento populacional de insetos-praga e os danos causados por elas.

O ataque de pragas é um dos principais agentes limitantes às altas produtividades. RA cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), que até então possuía o status de praga secundária, ou seja, causava danos esporadicamente, tem causado grandes prejuízos nos últimos anos. Essa praga está presente em todos os estágios fenológicos da cultura, porém os estágios iniciais representam a fase crítica (Ramos *et al.*, 2020; Oliveira, Frizzas, 2022;).

A cigarrinha-do-milho pode causar danos diretos pela sucção dos fotoassimilados e indiretos pela transmissão do vírus da risca fina e dos mollicutes causadores do enfezamento pálido e vermelho (Oliveira, Frizzas, 2022). Ambos os danos provocam a redução da área fotossintética (Waquil *et al.*, 1999; Ramos *et al.*, 2020). Os mollicutes colonizam o floema das plantas e a cigarrinha pode transmiti-los em conjunto ou de forma isolada. Tanto a fase jovem como o adulto podem adquirir os patógenos ao se alimentarem das plantas doentes, porém apenas os adultos realizam a transmissão para as outras plantas (Bedendo, 2018). As fêmeas infectadas não transmitem os patógenos a sua prole, porém preferem plantas infectadas para a oviposição (Waquil *et al.*, 1998; Ramos *et al.*, 2020).

Dentre os agentes de controle biológico, os nematoides entomopatogênicos apresentam potencial para controle de pragas agrícolas (NEP) (Ferraz *et al.*, 2008). Os nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* possuem em seu interior bactérias simbiotes dos gêneros *Photorhabdus* e *Xenorhabdus*, respectivamente. O ciclo de vida dos NEPs subdivide em ovos, juvenis de 1º (J1) e 2º estágios (J2), juvenil infectante (JI), juvenil de 4º estágio (J4), fêmeas e machos. O JI penetra no corpo do inseto através de aberturas naturais no tegumento, como espiráculos, ânus e cavidade oral. Logo que adentra o inseto, libera na hemolinfa as bactérias simbiotes que provocam a morte do inseto por septicemia entre 24 e 48 horas (Dolinski *et al.*, 2017, Lacey e Georgis, 2012).

Diversos estudos relatam a eficiência dos NEP no controle de hemípteros, como o percevejo-marrom, *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) (Borges *et al.*, 2023), o percevejo barriga-verde, *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) (Guide *et al.*, 2019) e a cigarrinha-das-pastagens, *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae) (Batista *et al.*, 2014). Contudo, não existem relatos na literatura sobre a eficiência dos NEP em *D. maidis*.

Com isso, objetivou-se avaliar a patogenicidade, virulência e ciclo de vida de espécies de *Heterorhabditis* e *Steinernema* em adultos de *D. maidis* em condições de laboratório e a seletividade com inseticidas e herbicidas registrados na cultura do milho.

## 2 Material e Métodos

As cigarrinhas foram coletadas com auxílio de um sugador reciclável (Figura 1) em cultivos de milho localizados no município Monte Carmelo, MG, cujas coordenadas geográficas são 18°43'31.75"S, 47°31' 32.06"O e altitude de 890 m. A criação foi mantida em casa de vegetação, na área experimental da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Monte Carmelo, em plantas de milho, híbrido SHS4070 da empresa Santa Helena, semeado em vasos com capacidade de cinco litros. As plantas foram mantidas em vaso até o estágio V<sub>5</sub>. Foram adicionadas trinta cigarrinhas por planta, e todas elas foram cobertas por tecido *voil*. Os vasos receberam 15 gramas de adubação com NPK na formulação 04-14-08 e irrigação diária, conforme a recomendação para a cultura.



FIGURA 1. Sugadores recicláveis

Fonte: a autora e Marcelo Luiz (2023).

Os nematoides foram multiplicados em larvas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). A criação do *T. molitor* foi realizada segundo a metodologia de Potrich *et al.* (2007). O experimento foi conduzido em caixas do tipo *gerbox* (11 x 11 x 3,5cm), contendo um pedaço de folha de milho (10 x 11 cm) em ágar-ágar na concentração 1%. Isso foi feito para manter a folha de milho túrgida e permitir a alimentação da cigarrinha (Figura 2). Foram colocados dez adultos da cigarrinha-do-milho por *gerbox*, com seis repetições por isolado, totalizando 60 insetos por isolado.

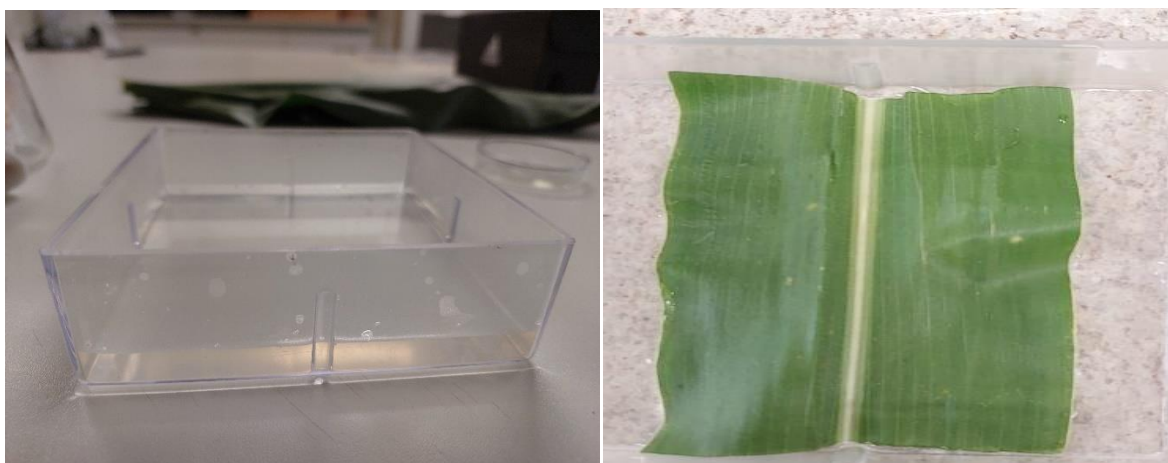


FIGURA 2. Preparo das caixas tipo gerbox

Fonte: a autora (2023).

Foram utilizados os isolados de *Heterorhabditis amazonensis*: GL, MC01, UENP2 e UENP6, *Steinernema brazilense* IBCB06, *Steinernema carpocapsae* IBCB02 e *Steinernema feltiae* IBCB47 com a finalidade de selecionar aqueles com maior taxa de mortalidade de adultos de *D. maidis*, em uma mesma concentração. Os tratamentos foram dados a cada um dos isolados e no de controle. Isso foi feito com a aplicação de água destilada, o que totalizou oito tratamentos.

Os isolados foram inoculados com auxílio de pipeta automática sobre adultos *D. maidis* na concentração de 200 JI inseto<sup>-1</sup> no volume 0,5 mL em caixas do tipo *gerbox*. Posteriormente, tais caixas foram fechadas com papel filme e mantidas em condições de laboratório, verificando-se a mortalidade dos insetos após 120 horas para cálculo da patogenicidade. Para confirmação da mortalidade pelo nematoide, os adultos foram retirados do *gerbox* e colocados em câmara seca por 48 h. Transcorrido o período, foram dissecados com solução NaCl a 1%, e com auxílio de microscópio estereoscópio, analisada a presença de nematoides.

Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância ( $p < 0,05$ ) após a checagem dos pressupostos de homogeneidade de variâncias e normalidade dos resíduos, respectivamente pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) com auxílio do pacote Exp.Des (Ferreira, Cavalcanti e Nogueira, 2021) no software estatístico R versão 4.2.1.

Após os testes de laboratório e seleção dos melhores isolados, foi realizado teste para cálculo da Concentração Letal (CL) para os isolados *Heterorhabditis amazonensis* MC01 e *Steinernema feltiae* IBCB47. Os experimentos foram conduzidos nas mesmas condições do ensaio anterior. O experimento constituiu-se de quatro concentrações testadas (50, 100, 150 e 200 JI adulto<sup>-1</sup>) e da testemunha, que recebeu aplicação somente de água destilada, com seis repetições, totalizando trinta parcelas por isolado. A mortalidade dos insetos foi avaliada após 72 horas. Foi ajustado um Modelo Linear Generalizado, com distribuição binomial e função de ligação probit. Os dados obtidos e ajustes de regressão foram testados, assim como as médias obtidas pelo software estatístico R versão 4.2.1. Pelos ajustes obtidos, foram estimadas a CL<sub>50</sub> e CL<sub>75</sub>.

Para a avaliação do ciclo de vida e potencial reprodutivo dos isolados *H. amazonensis* MC01 e *S. feltiae* IBCB 47 em adultos de *D. maidis*, foram utilizadas as concentrações de 5 JI/adulto (ciclo longo) e 100 JI/adulto (ciclo curto) dos isolados *H. amazonensis* MC01 e *S. feltiae* IBCB47, e de uma testemunha com adição de água destilada. Cada tratamento foi composto por 40 repetições, sendo a parcela constituída por uma placa de Petri (5 cm de diâmetro) com um adulto de *D. maidis*. As suspensões foram adicionadas na placa no volume de 0,5 mL placa<sup>-1</sup>, com um fragmento de folha de milho (7 x 5 cm) contendo ágar a 1%. As avaliações iniciaram 72 horas após a morte dos insetos, que foram dessecados em NaCl (1%). Com o auxílio de um microscópio estereoscópio, foi realizada a contagem do número de JIs que penetraram no inseto e o seu estágio de desenvolvimento. O experimento teve duração total de 264 horas para o isolado *H. amazonensis* MC01 e de 288 horas para *S. feltiae* IBCB47.

Os isolados *H. amazonensis* MC01 e *S. feltiae* também foram utilizados para avaliação de seletividade com produtos fitossanitários com registro para a cultura do milho. Foram testados cinco inseticidas: clorfluazuron, metomil, clorpirifós, profenofós + lufenurum, e deltametrina e quatro herbicidas: atrazina, 2,4 D, glifosato e tembotriona. Todos os produtos citados são registrados para a cultura do milho no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Agrofit, 2023).

O experimento foi realizado conforme o Protocolo IOBC/WPRS (Vainio, 1992), contendo dez tratamentos (nove produtos e um controle com água destilada) e cinco repetições. No preparo das soluções, foi utilizado o dobro da dose recomendada devido a posterior diluição com a suspensão dos nematoides na proporção 1:1. Os volumes utilizados para o preparo de 50 mL de calda de cada produto foram: 0,06 mL de clorfluazuron; 1,25 mL de atrazina; 0,198 mL de metomil; 0,60 mL de clorpirifós; 0,8 mL de profenofós + lufenurom; 0,2 mL de deltametrina; 2 mL de glifosato; 0,120 mL de tembotriona e 0,35 mL de 2,4-D. Os parâmetros avaliados foram a viabilidade, a infectividade e a produção.

Em tubo de vidro foi adicionado 1 mL da solução com produto químico e 1 mL de suspensão contendo 2.000 JIs, totalizando o volume de 2 mL e 1.000 JI mL<sup>-1</sup>. Para o controle, 1 mL de água destilada foi adicionado a 1 mL de suspensão dos nematoides. Os tubos foram vedados com papel alumínio e mantidos em condições de laboratório. Após a fase de incubação (48 h), foi realizada limpeza para remover os produtos químicos em todos os tratamentos, devido a pigmentação de alguns destes, a fim de facilitar a visualização dos JIs no microscópio estereoscópio. A suspensão foi vertida em uma peneira com abertura de malha de 500 mesh para reter os nematoides e retirar os produtos. Posteriormente, foram recolhidos os nematoides retidos e o volume foi ajustado com água destilada para 2 mL. A viabilidade foi avaliada retirando-se 0,1 mL de cada repetição, contando-se os juvenis vivos e mortos. A contagem foi realizada adicionando-se a alíquota nos poços de uma placa de Elisa.

Para infectividade, foram inicialmente adicionados 3 mL de água destilada na suspensão. Então, os tubos foram mantidos na geladeira durante 30 minutos. O procedimento foi realizado três vezes para a total remoção dos produtos químicos. Após o processo, foi retirado 1 mL da suspensão e aplicado em dez larvas de *T. molitor* acondicionadas em placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo duas folhas de papel filtro. O experimento foi conduzido nas condições descritas anteriormente e teve duração de cinco dias. Após esse período, foram contadas as larvas mortas, tendo como critério a sintomatologia característica para cada espécie testada.

As larvas mortas foram transferidas para armadilhas de White para determinação da produção. Foram contabilizados os nematoides produzidos durante cinco dias. Os dados de viabilidade dos JI e mortalidade de insetos foram submetidos à análise de variância ( $p < 0.05$ ), em que os valores de mortalidade dos nematoides foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925). Além disso, foi realizado o cálculo do efeito dos produtos químicos sobre a infectividade dos nematoides (E) para a classificação dos produtos, segundo metodologia

proposta pela Organização Internacional para o Controle Biológico e Integrado de Animais e Plantas Nocivas (IOBC) em: inócuo (E <30%), levemente nocivo (E: 30% a 79%), moderadamente nocivo (E: 80% a 99%) e nocivo (E: >99%).

### 3 Resultados e Discussão

Todos os isolados testados causaram mortalidade acima de 50% em *D. maidis* e não houve diferenças significativas para o percentual de mortalidade entre os isolados avaliados (Tabela 1), o que indica que todos são patogênicos a adultos de *D. maidis* (Figura 3 A e B). Guide *et al.* (2019) em seu trabalho com ninfas de *D. melachanthus*, verificaram a mortalidade acima de 80% para os isolados *Heterorhabditis* sp. e *Steinernema* sp. no intervalo de 24 horas após aplicação.

TABELA 1. Mortalidade de adultos de *Dalbulus maidis* causada por diferentes isolados de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório, na concentração de 200 JI/inseto

Tratamento	Mortalidade (%)*
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> GL	66,48 ± 4,20 a
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> MC01	62,61 ± 13,71 a
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> UENP2	78,68 ± 6,16 a
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> UENP6	65,53 ± 7,29 a
<i>Steinernema brazilense</i> IBCB 06	52,85 ± 9,07 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> IBCB 02	51,48 ± 6,64 a
<i>Steinernema feltiae</i> IBCB 47	77,62 ± 5,31 a
Controle	0,00
CV (%)	10,83

Média ± Erro Padrão da média. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade.



FIGURA 3. Adultos de *Dalbulus maidis* mortos por nematoides entomopatogênicos. (A) *Heterorhabditis amazonensis* MC01, (B) *Steinernema feltiae* IBCB 47

Fonte: a autora (2023).

Alves *et al.* (2009), ao estudarem a patogenicidade de *Heterorhabditis* sp. e *Steinernema* sp. sobre *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae), afirmaram que os isolados de *Heterorhabditis* sp. tiveram maior patogenicidade sobre o inseto. Resultado semelhante foi obtido por Zart *et al.* (2021) sobre *D. brevipes* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae).

Em condições de campo, Leite *et al.* (2005) verificaram eficiência de 70% de *Heterorhabditis* sp. no controle de *Mahanarva frimbiolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae). Segundo Ceconello *et al.* (2022), os isolados IBCB-n46 e NEPET 11 pertencentes ao gênero

*Heterorhabditis* spp. tiveram maior mortalidade em adultos de *E. heros* em condições de laboratório e casa de vegetação. Isso evidencia a importância dos testes de seleção, pois a mortalidade causada por NEP é variável conforme o inseto-praga.

Para as etapas seguintes, foram selecionados os isolados *S. feltiae* IBCB47 como representante do gênero *Steinernema* e *H. amazonensis* MC01, isolado nativo da região do estudo, Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil. Ambos os isolados tiveram diferenças significativas entre as doses utilizadas ( $p < 0,001$ ). Foi ajustada uma curva exponencial às médias, estimando-se uma  $CL_{50}$  de 75 JI adulto<sup>-1</sup> e  $CL_{75}$  de 173 JI adulto<sup>-1</sup> para *H. amazonensis* MC01 (Figura 4a). Batista *et al.* (2014) afirmam que a concentração não influenciou no desempenho do isolado *H. amazonensis* RSC1 em *M. spectabilis*.

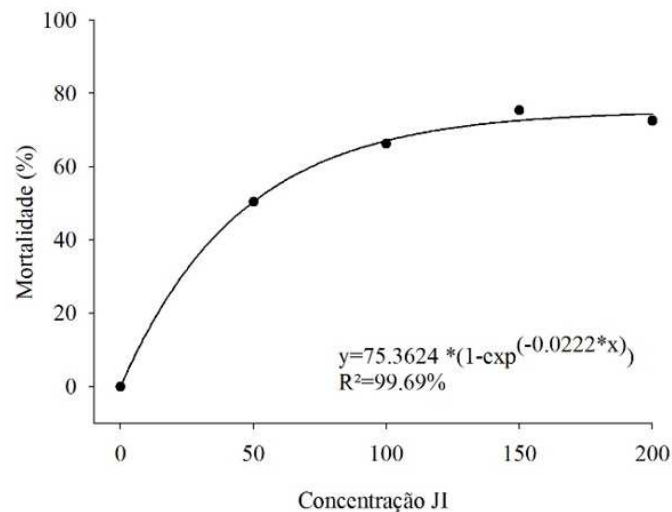


FIGURA 4a. Concentração letal de *H. amazonensis* MC01 (juvenis infectantes por adulto) para provocar morte de adultos de *Dalbulus maidis* em condições de laboratório

A  $CL_{50}$  que promoveu a mortalidade de adultos de *D. maidis* por *S. feltiae* IBCB47 foi de 25 JI adulto<sup>-1</sup> e 77 JI adulto<sup>-1</sup> para  $CL_{75}$ . Porém mesmo, o aumento da concentração não promoveu incremento significativo na mortalidade de adultos (Figura 4b), resultado diferente do obtido por Guide *et al.* (2019) com este isolado e Nanzer *et al.* (2021) com *Steinernema diaprepesi*. Isso indica que *S. feltiae* IBCB47 possui maior virulência a adultos de *D. maidis* que *H. amazonensis* MC01.



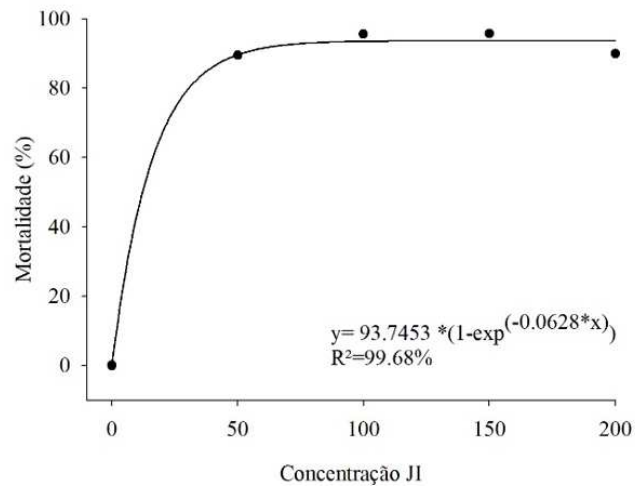


FIGURA 4b. Concentração letal de *S. feltiae* IBCB47 (juvenis infectantes por adulto) para provocar morte de adultos de *Dalbulus maidis* em condições de laboratório

Em relação ao ciclo de vida dos isolados selecionados, todos os estágios de desenvolvimento do isolado *H. amazonensis* MC01 foram observados no ciclo curto (Tabela 2). No ciclo longo, apenas o juvenil de 2º estágio não foi observado (Tabela 3). Andaló *et al.* (2009) observaram em larvas de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) três gerações do isolado *H. amazonensis* RSC5.

TABELA 2. Duração e ciclo de vida de *Heterorhabditis amazonensis* MC01 em *Dalbulus maidis* na concentração 100 juvenis infectantes inseto<sup>-1</sup> (ciclo curto)

Estágio de desenvolvimento	Tempo de avaliação (h)							
	72	96	120	144	192	216	240	264
J <sub>4</sub>	0 - 10	10	18	3	10			
Hermafroditas + ovos/ J <sub>1</sub>				56				
Hermafroditas + J <sub>2</sub>						18		
J <sub>3</sub> e J <sub>4</sub>			50					
Fêmeas e Machos				1	31			
Fêmeas + ovos/ J <sub>1</sub>							279	755
Fêmeas + J <sub>2</sub>								
J <sub>3</sub> /JI				2				
J <sub>4</sub> (2º Geração)								

TABELA 3. Duração e ciclo de vida de *Heterorhabditis amazonensis* MC01 em *Dalbulus maidis* na concentração 5 juvenis infectantes inseto<sup>-1</sup> (ciclo longo)

Estágio de desenvolvimento	Tempo de avaliação (h)				
	72	144	168	216	264
J <sub>4</sub>	0 - 10	10	6		
Hermafroditas + ovos/ J <sub>1</sub>			3		
Hermafroditas + J <sub>2</sub>					
J <sub>3</sub> e J <sub>4</sub>					
Fêmeas e Machos		1	31		
Fêmeas + ovos/ J <sub>1</sub>				50	300
Fêmeas + J <sub>2</sub>					
J <sub>3</sub> /JI		2			
J <sub>4</sub> (2° Geração)					

Em ambos os períodos, o isolado *S. feltiae* IBCB47 teve maior duração quando comparado ao isolado *H. amazonensis* MC01 (Tabelas 4 e 5). No ciclo curto, o estágio juvenil foi observado depois de 96 horas após aplicação, enquanto no ciclo longo foi 72 h após a aplicação.

Segundo Adams e Nguyen (2002), o ciclo de vida é influenciado por dois fatores: a quantidade de nematoides e a dimensão do corpo do inseto. Isso foi verificado por Borges *et al.* (2023), que ressaltam menor produção de juvenis infectantes do isolado *H. amazonensis* MC01, conforme aumenta a concentração em função da disponibilidade do recurso alimentar. Grewal *et al.* (1994) apontam que a duração do ciclo de vida do nematoide entomopatogênico está relacionada à patogenicidade do isolado e a condições ambientais.

TABELA 4. Duração e ciclo de vida de *Steinernema feltiae* IBCB 47 em *Dalbulus maidis* na concentração 100 juvenis infectantes inseto<sup>-1</sup> (ciclo curto)

Estágio de desenvolvimento	Tempo de avaliação (h)							
	96	120	144	192	216	240	264	288
J <sub>4</sub>	92	68	137	4				
Hermafroditas + ovos/ J <sub>1</sub>	0-10	4	8		4			
Hermafroditas + J <sub>2</sub>				17				
J <sub>3</sub> e J <sub>4</sub>						15	6	
Fêmeas e Machos						15	4	
Fêmeas + ovos/ J <sub>1</sub>								
Fêmeas + J <sub>2</sub>								31
J <sub>3</sub> /JI							13	16
J <sub>4</sub> (2° Geração)								8

TABELA 5. Duração e ciclo de vida de *Steinernema feltiae* IBCB 47 em *Dalbulus maidis* na concentração 5 JI inseto<sup>-1</sup> (ciclo longo)

Estágio de desenvolvimento	Tempo de avaliação (h)						
	72	144	168	216	240	264	288
J <sub>4</sub>	0 -10	3					
Hermafroditas + ovos/ J <sub>1</sub>	0 -5	2	3				
Hermafroditas + J <sub>2</sub>			3	3			
J <sub>3</sub> e J <sub>4</sub>			1				
Fêmeas e Machos					7		
Fêmeas + ovos/ J <sub>1</sub>					8		
Fêmeas + J <sub>2</sub>							
J <sub>3</sub> /JI							9
J <sub>4</sub> (2° Geração)						2	4

Quanto à seletividade de produtos químicos e nematoides, todos os produtos testados afetaram a viabilidade e diferiram-se do tratamento controle para *H. amazonensis* MC01 (Tabela 6). O potencial de infectividade de *H. amazonensis* MC01 a larvas *T. molitor* diminuiu após exposição a todos os produtos, quando comparado ao tratamento controle. A menor taxa de infecção foi obtida após a exposição ao inseticida clorpirifós e ao herbicida glifosato. Os inseticidas metomil e deltametrina e o herbicida tembotriona não diferiram significativamente do tratamento controle.

Segundo o protocolo IOBC, dos inseticidas e herbicidas testados, nenhum foi inócuo a *H. amazonensis* MC01. Apenas os inseticidas clorpirifós e profenofós + lufenurom foram classificados como nocivos. Os herbicidas atrazina, glifosato e tembotriona foram classificados como levemente nocivos e o herbicida 2,4-D moderadamente nocivo (Tabela 6).

TABELA 6. Seletividade de *Heterorhabditis amazonensis* MC01 com produtos fitossanitários após 48 horas de contato

Tratamento	Viabilidade (%)	Infectividade (%)	MC	Rfin (%)	Rfec (%)	E (%)	Classificação IOBC
Clorfluazuron	68,85 ± 2,62 c	35,00 ± 7,29 b	24,28	51,07	2,33	77,68	Levemente Nocivo
Atrazina	77,75 ± 2,03 b	62,50 ± 12,50 a	14,53	30,36	0,00	44,88	Levemente Nocivo
Metomil	69,90 ± 1,87 c	72,50 ± 9,18 a	23,16	13,92	19,56	56,64	Levemente Nocivo
Clorpirifós	66,17 ± 3,63 c	30,00 ± 8,48 b	27,28	63,57	42,65	133,51	Nocivo
Profenofós + Lufenurum	60,50 ± 3,27 c	49,00 ± 9,00 b	33,52	50,00	13,36	130,59	Nocivo
Deltametrina	62,10 ± 4,53 c	62,50 ± 12,50 a	31,73	24,52	37,30	93,55	Moderadamente Nocivo
Glifosato	77,54 ± 3,50 b	30,00 ± 10,23 b	14,81	58,09	5,14	78,04	Levemente Nocivo
Tembotriona	79,47 ± 2,71 b	70,00 ± 14,49 a	12,60	25,83	14,56	52,60	Levemente Nocivo
2,4D	80,85 ± 2,90 b	32,50 ± 12,25 b	11,12	57,62	11,09	79,83	Moderadamente Nocivo
Controle CV (%)	90,97 ± 0,42 a 14,76	77,50 ± 8,29 a 17,69	0,00	0,00	0,00	0,00	Inócuo

MC: mortalidade confirmada; Rfin: Média ± Erro Padrão da média. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Borges *et al.* (2023) concluíram que os princípios ativos clorpirifós, metomil e profenofós são incompatíveis com *H. amazonensis* MC01 e Zart *et al.* (2021) classificaram o inseticida profenofós + lufenurum como moderadamente nocivo ao isolado *H. amazonensis* IBCBn-40. Com relação ao isolado *S. feltiae*, os inseticidas clorfluazuron, clorpirifós, metomil e os herbicidas 2,4-D, glifosato e tembotriona não diferiram significativamente do tratamento controle (Tabela 7). O inseticida deltametrina e herbicida atrazina tiveram as menores taxas de viabilidade. Por outro lado, a infectividade foi afetada em todos os tratamentos, sendo que o herbicida 2,4D teve a menor infectividade (60%). Apenas o inseticida deltametrina e o herbicida tembotriona não diferiram significativamente do tratamento controle.

TABELA 7. Seletividade de *Steinernema feltiae* IBCB 47 com produtos fitossanitários após 48 horas de contato

Tratamento	Viabilidade (%)	Infectividade (%)	MC (%)	Rfin (%)	Rfec (%)	E (%)	Classificação IOBC
Clorfluzuron	92,71 ± 0,95 a	72,50 ± 9,18 b	80,24	2,48	53,20	83,18	Moderadamente Nocivo
Atrazina	88,43 ± 1,80 c	72,50 ± 7,29 b	6,88	27,50	0,00	34,38	Levemente Nocivo
Metomil	97,18 ± 0,72 a	65,00 ± 13,92 b	0,00	35,00	43,17	75,93	Levemente Nocivo
Clorpirifós	95,46 ± 0,67 a	80,00 ± 7,29 b	0,00	20,00	67,55	87,07	Moderadamente Nocivo
Profenofós + Lufenurom	91,74 ± 1,19 b	65,00 ± 2,45 b	3,48	35,00	0,20	38,67	Levemente Nocivo
Deltametrina	86,15 ± 2,81 c	97,50 ± 2,50 a	9,42	2,50	37,81	49,73	Levemente Nocivo
Glifosato	96,44 ± 1,06 a	70,00 ± 10,89 b	0,00	30,00	11,71	40,24	Moderadamente Nocivo
Tembotriona	97,11 ± 1,26 a	87,50 ± 9,68 a	0,00	12,50	8,37	18,67	Inócuo
2,4D	95,79 ± 1,39 a	60,00 ± 7,29 b	0,00	40,00	7,82	47,04	Levemente Nocivo
Controle	95,07 ± 0,97 a	100,00 ± 0,00 a	0,00	0,00	0,00	0,00	Inócuo
CV (%)	3,38	24,24					

Média ± Erro Padrão da média\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Özdemir *et al.* (2021) verificaram em seu estudo que os inseticidas pertencentes ao grupo das diamidas e espinosinas não foram nocivos a *S. feltiae*. Amizadeh *et al.* (2019) identificaram alta mortalidade dos JI de *S. feltiae* após exposição a abamectina e azadiractina. Apenas o herbicida tembotriona foi classificado como inócuo a *S. feltiae* IBCB47. Os inseticidas clorflazurom, clorpirifós e o herbicida glifosato foram classificados como moderadamente nocivos, porém os inseticidas metomil, profenofós + lufenurom e deltametrina e os herbicidas 2,4-D e atrazina foram identificados como levemente nocivos. Nenhum dos produtos fitossanitários testados foi nocivo a *S. feltiae* IBCB47.

#### 4 Conclusão

Todos os isolados testados foram patogênicos a adultos de *D. maidis* em condições de laboratório. A CL<sub>50</sub> para *S. feltiae* foi de 25 JIs adulto<sup>-1</sup> e para *H. amazonensis* MC01 de 75 JIs adulto<sup>-1</sup>. Os inseticidas clorpirifós e profenofós + lufenurom foram considerados nocivos para *H. amazonensis* MC01. O herbicida tembotriona foi classificado como inócuo a *S. feltiae* IBCB

47. Ambos os isolados, após a exposição aos produtos fitossanitários, tiveram taxas de infectividade afetadas. O ciclo de vida dos isolados *H. amazonensis* MC01 e *S. feltiae* IBCB 47 é variável conforme a quantidade de juvenis infectantes.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of on insecticide. **Journal Economic Entomology**, v.18, n. 2, p. 265-267, 1925. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>. Acesso em: 25 mar. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- ADAMS, B.J.; NGUYEN, K.B. Taxonomy and systematics. In: GAUGLER, R. (ed). **Entomopathogenic Nematology**, CABI Publishing, New York, 2002, p. 1-28. DOI: <https://doi.org/10.1079/9780851995670.0001>
- AGROFIT – **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Brasil: Ministério da Agricultura, 2023. Disponível em: [agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 29 maio 2023.
- ALVES, V.S.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA-CECILIA, L.V.C.; ANDALÓ, V.; SOUZA, G.C. Patogenicidade de nematoides entomopatogênicos à cochonilha da raiz do cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p0672009>. Acesso em: 18 jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p0672009>
- AMIZADEH, M., HEJAZI, M.J., NIKNAM, G., ASKARI-SARYAZDI, G. Interaction between the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* and selected chemical insecticides for management of the tomato leafminer, *Tuta absoluta*. **BioControl**, v. 64, n. 6, p. 1-13, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10526-019-09973->>. Acesso em: 30 abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10526-019-09973-x>
- BATISTA, E.S.P.; AUAD, A.M.; ANDALÓ, V.; MONTEIRO, C.M.O. Virulence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) to spittlebug *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 2, p. 145–9, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1808-1657001152012>. Acesso em: 11 ago. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657001152012>
- BEDENDO, I. P. Fitoplasma e espiroplasma. In: AMORIM, L.; REZENDE J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (eds). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5 ed. Ouro Fino, p. 181 – 190, 2018.
- BORGES, J.V.O.; ANDALÓ, V.; TEMPORIM, L.E.; ARRIERO, L.P.M.; LIMA, L.M.R.; FARIA, L.S.D. Virulence of entomopathogenic nematodes against neotropical brown stink bug (*Euschistus heros* [Fabricius], Hemiptera, Pentatomidae) and compatibility with phytosanitary products under laboratory conditions. **Journal Agriculture Science Technology**, v. 25, n. 5, p. 1209-1220, 2023.
- CECCONELLO, D.M.; ROGGIA, S.; DONEZE, G.S.; MACEDO, M.F.; ALVES, V.S. *Heterorhabditis amazonensis* to control *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) in laboratory and field conditions. **Neotropical Entomology**, v. 51, p. 292-298, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00936-5>

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: Safra 2022/23 7º levantamento. Abril 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletim-da-safra-de-gaos>. Acesso em: 6 maio 2023.

DASH, S.S.; KOOSARI, S.; INGOLE, D.B.; KASHYAP, D.P.; TAMBE, V.; LAVHE, N. Compatibility studies of *Heterorhabditis indica* with newer insecticides under laboratory condition. **Environment Conservation Journal**, v. 23, p. 42-46, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.36953/ECJ.11362292>. Acesso em: 23 abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.36953/ECJ.11362292>

DOLINSKI, C.; MONTEIRO, C.; ANDALÓ, V.; LEITE, L.G. Studies on entomopathogenic nematodes in Brazil: Past and future. **Nematoda**, v. 4, p. e102017, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.01017>. Acesso em: 30 abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.4322/nematoda.01017>

FERRAZ, L.C.C.B.; LEITE, L.G.; LOPES, R.B.; MOINO JUNIOR, A.; DOLINSKI, C. Utilização de nematoides para o controle de pragas agrícolas e urbanas. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (eds) **Controle Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios**. Piracicaba, p. 171 – 202, 2008

FERREIRA E.B.; CAVALCANTI, P.P.; NOGUEIRA D. A. (2021). \_ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Português). R package version 1.2.2. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt> Acesso em: 20 dez. 2022.

FONTES, G. M. E.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2020. v. 1, 510p.

GUIDE, B.A.; ALVES, V.S.; FERNANDES, T.A.P.; MARCOMINI, M.C.; MENEGHIN, A.M.; NEVES, P.M.O.J. Pathogenicity and Virulence of Entomopathogenic Nematodes against *Dichelops melacanthus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae). **Semina Ciências Agrárias**, v. 40, n. 4, p. 1417-1426, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n4p1417>. Acesso em: 2 maio 2023. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n4p1417>

LACEY, L.A.; GEORGIS, R. Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. **Journal Nematology**, v. 44, p. 218-25, 2012.

LEITE, L.G.; MACHADO, L.A.; GOULART, R.M.; TAVARES, F.M.; BATISTA FILHO, A. Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabricius) (Hemiptera: Cercopidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 785–790, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000500010>. Acesso em: 10 maio 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000500010>

NANZER, S.L.L.; RECCHIA, G.H.; CHACON-OROZCO, J.G.; SILVA, R.S.A.; CARDOSO, J.; MARINGOLI, F.; LEITE, L.G. Assessment of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria to control the stink bugs *Euschistus heros* and *Dichelops melacanthus* (Heteroptera: Pentatomidae) in the soybean-corn succession system. **Turkish**



**Journal of Zoology**, v. 45, p. 356-371, 2021. Disponível em: 10.3906/zoo-2104-53. Acesso em: 2 jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3906/zoo-2104-53>

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. 2022. **Neotropical Entomology**, v. 51, n. 1, p. 1 – 17. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00932-9>. Acesso em: 10 jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00932-9>

ÖZDEMİR, E.; İNAK, E.; EVLICE, E.; YÜKSEL, E.; DELIALIOĞLU, R.A.; SUSURLUK, I. A. Effects of insecticides and synergistic chemicals on the efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) against *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Crop Protection**, v. 144, 2021. Disponível em: 10.1016/j.cropro.2021.105605. Acesso em: 10 jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105605>

POTRICH, T.D.; LORINI, I.; VOSS, M.; STEFFENS, M.C.S.; PAVANI, D. P. **Metodologia de criação de *Tenebrio molitor* em laboratório para obtenção de larvas**. Embrapa – Trigo. 2007. Disponível em: [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do82\\_12.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do82_12.htm). Acesso em: 5 jun. 2023.

RAMOS, A.; ESTEVES, M.B.; CORTÉS, M.T.B.; LOPES, J.R.S. Maize bushy stunt phytoplasma favors its spread by changing host preference of the insect vector. **Insects**, v. 11, 600, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/insects11090600>. Acesso em: 4 ago. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects11090600>

VAINIO, A. Guideline for laboratory testing of the side-effects of pesticides on entomophagous nematodes *Steinernema* spp. **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 15, n. 3, p. 145-147. 1992.

VON PINHO, R.G.; SANTO, A.O.; VON PINHO, I.V. Botânica. In: Galvão JCC, Borém A, Pimentel MA (eds) **Milho: do plantio a colheita**. 2 ed. Viçosa, p.25-48, 2017.

WAQUIL, M. J.; VIANA, A.P.; CRUZ, I.; SANTOS, P.J. 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. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0301-80591999000300005>. Acesso em: 31 jun. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0301-80591999000300005>

ZART, M.; MACEDO, M.F.; RANDO, J.S.S.; DONEZE, G.S.; BRITO, C.P.; POLETTO, R. S.; ALVES, V. S. Performance of entomopathogenic nematodes on the mealybug, *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae) and the compatibility of control agents with nematodes. **Journal of Nematology**, v. 53, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.21307/jofnem-2021-020>. Acesso em: 2 abr. 2023. DOI: <https://doi.org/10.21307/jofnem-2021-020>

## **CAPÍTULO 2**

### **ISOLADOS FÚNGICOS PARA O BIOCONTROLE DA CIGARRINHA-DO-MILHO, *Dalbulus maidis* (HEMIPTERA: CICADELLIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

OLIVEIRA, ANA CAROLINA DE. **Isolados de *Beauveria*, *Cordyceps* e *Metarhizium* para o biocontrole de *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) e compatibilidade com inseticidas utilizados na cultura do milho em condições de laboratório.** 2024. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Informações Geoespaciais) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2024.

## RESUMO

Transmissora dos enfezamentos pálido (*Spiroplasma kunkelii*) e vermelho (*Maize bushy stunt phytoplasma*) e do vírus da risca (*Maize rayado fino virus*), *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) é um desafio fitossanitário no cultivo de milho. A principal alternativa utilizada pelos produtores rurais é a aplicação de inseticidas químicos, porém o excesso dessas aplicações pode causar impactos negativos na saúde humana e selecionar insetos resistentes. O presente estudo teve o objetivo avaliar a patogenicidade de isolados fúngicos dos gêneros *Beauveria*, *Cordyceps* e *Metarhizium* em adultos de *D. maidis* em condições de laboratório. Foram utilizados vinte e cinco isolados e a testemunha absoluta. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, utilizando seis repetições para cada tratamento, sendo que cada repetição era composta por dez adultos de *D. maidis*, totalizando 60 indivíduos por tratamento. As suspensões de conídios foram aplicadas em gerboxs na concentração  $1 \times 10^8$ /mL. No teste de concentração letal, foram utilizadas as concentrações:  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$  conídios/mL. Também foi avaliado o crescimento micelial dos isolados em meio de cultura contendo cinco inseticidas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. Os isolados *Beauveria* sp. BEA 7, *Beauveria* sp. 9, *Metarhizium* sp. IDM 1-1 e *Metarhizium* sp. IDM 4 apresentaram maior virulência a adultos de *D. maidis* na concentração  $1 \times 10^8$ . Em relação à concentração letal, não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações testadas. O isolado *Metarhizium* sp. IDM 1-1 teve o crescimento micelial afetado por todos os inseticidas testados.

**Palavras-chave:** *Beauveria*; inseto vetor; manejo; *Metarhizium*.

OLIVEIRA, ANA CAROLINA DE. **Isolates of *Beauveria*, *Cordyceps* and *Metarhizium* for the biocontrol of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and compatibility with insecticides used in corn cultivation under laboratory conditions.** 2024. 61 p. Dissertation (Master's in Agriculture and Geospatial Information) - Federal University of Uberlândia, Monte Carmelo, 2024.

## ABSTRACT

The vector of pale (*Spiroplasma kunkelii*) and red (*Maize bushy stunt phytoplasma*) wilts, as well as the *Maize rayado fino virus*, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), poses a phytosanitary challenge in corn cultivation. The primary alternative utilized by farmers is the application of chemical insecticides; however, excessive use may have negative impacts on human health and lead to the development of insect resistance. This study aimed to assess the pathogenicity of fungal isolates from the genera *Beauveria*, *Cordyceps*, and *Metarhizium* on *D. maidis* adults under laboratory conditions. Twenty-five isolates and an absolute control were used, employing a completely randomized experimental design with six repetitions for each treatment. Each repetition consisted of ten *D. maidis* adults, totaling 60 individuals per treatment. Conidial suspensions were applied in gerboxes at a concentration of  $1 \times 10^8$ /mL. In the lethal concentration test, concentrations of  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ , and  $1 \times 10^9$  conidia/mL were used. The fungal isolates' mycelial growth was also evaluated in a culture medium containing five insecticides. The data underwent analysis of variance, and means were compared using the Scott-Knott test at a 5% probability level. *Beauveria* sp. BEA 7, *Beauveria* sp. 9, *Metarhizium* sp. IDM 1-1, and *Metarhizium* sp. IDM 4 exhibited higher virulence against *D. maidis* adults at a concentration of  $1 \times 10^8$ . Regarding lethal concentration, no significant differences were observed among the tested concentrations. The isolate *Metarhizium* sp. IDM 1-1 had its mycelial growth affected by all tested insecticides.

**Keywords:** *Beauveria*; vector insect; management; *Metarhizium*.

## 1 Introdução

A cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), é um inseto-praga na cultura do milho (*Zea mays* L.), tornando-se uma das mais preocupantes no Brasil nos últimos anos, em função dos grandes prejuízos referentes à transmissão persistente e propagativa das doenças foliares enfezamento pálido (*Spiroplasma kunkelii*), enfezamento vermelho (*Maize bushy stunt phytoplasma*) e o vírus do raiado fino (*Maize rayado fino virus*). Recentemente, foi relatada a transmissão do *Mastrevirus* sp, causador do mosaico estriado pelo inseto (Vilanova *et al.*, 2022; Oliveira, Frizzas, 2022).

O uso de inseticidas químicos no tratamento de sementes e em pulverizações foliares é a principal forma de controle empregada pelos produtores rurais. Os grupos químicos registrados são: benzoiluréia, neonicotinoides, organosforados e piretroides (Agrofit, 2023). Porém, a eficiência desses produtos diminui ao longo do desenvolvimento da cultura (Silveira, 2019), além do controle químico possuir baixa eficiência em função da dispersão de *D. maidis* no momento da aplicação (Rossini *et al.*, 2020). Outro fator que contribui para a pouca eficiência é a localização do inseto na planta, uma vez que os adultos ficam no interior do cartucho e as ninfas na face abaxial das folhas. Uma alternativa para o manejo de *D. maidis* é o uso de inseticidas biológicos à base de bactérias e fungos entomopatogênicos, que são específicos ao inseto e não causam poluição e intoxicação ao ser humano (Fontes *et al.*, 2020).

Os fungos entomopatogênicos possuem a capacidade de causar patologias em insetos, provocando a sua morte e, diferentemente de outros microrganismos entomopatogênicos, os fungos não precisam ser ingeridos, pois basta o contato para iniciar o processo infectivo. Logo após o contato sobre o tegumento, inicia-se a etapa de adesão, em que ocorre a deposição dos conídios sobre a superfície do inseto. Em seguida, tem-se a formação do tubo germinativo e a dilatação da sua extremidade (apressório). Nessa etapa ocorre a produção de substâncias que alteram a composição do tegumento e, assim, há a colonização do fungo no hospedeiro. Outra vantagem é a produção de estruturas de resistência que favorecem a permanência do fungo no ambiente e a sua disseminação (Alves, 1998; Fontes *et al.*, 2020).

Existem diversos gêneros de fungos entomopatogênicos, porém os mais estudados e com produtos comerciais formulados são *Beauveria*, *Cordyceps* e *Metarhizium*. A eficiência de controle destes gêneros já foi relatada em *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae); *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae); *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae); *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera:

Aphididae) e *D. maidis* (Loureiro e Moino Junior, 2006; Potrich *et al.*, 2011; Toledo, Alippi, Lenicov, 2011; Gêa, 2022).

Em 2021, houve o relato de epizootia natural em *D. maidis* por *M. brasiliense* (Souza *et al.*, 2021). O controle químico possui baixa eficiência em função da dispersão de *D. maidis* no momento da aplicação. O presente trabalho tem o objetivo de avaliar a patogenicidade e virulência dos isolados pertencentes aos gêneros *Beauveria*, *Cordyceps* e *Metarhizium* em adultos de *D. maidis* em condições de laboratório.

## 2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Uberlândia. Para a coleta das cigarrinhas, foi utilizado um sugador reciclável em uma lavoura comercial de milho localizada no município de Monte Carmelo, MG, com coordenadas geográficas 18°43'31,75''S, 47°31'32,06''O e altitude de 890 m. A criação foi mantida em casa de vegetação.

Os insetos foram colocados em contato com plantas sadias de milho nos estádios de V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub> cobertas por um tecido *voil*, sendo trinta insetos por planta. Os adultos mortos foram periodicamente retirados das plantas e aquelas com sintomas de enfezamentos ou vírus raiado fino foram eliminadas.

Os fungos entomopatogênicos empregados no experimento foram provenientes do banco de entomopatógenos do laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Monte Carmelo e isolados das cigarrinhas coletadas no campo. Todos os isolados foram multiplicados em placas de Petri contendo como meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Eles foram mantidos em B.O.D com temperatura de 25°C.

Para a contagem dos conídios, foram adicionados 10 mL de água destilada esterilizada + Tween 80 (0,1%) na placa de Petri de cada isolado. Posteriormente, foi coletado 1 mL dessa suspensão e adicionado na câmara de Neubauer para contagem do número de conídios. A suspensão foi padronizada em  $1 \times 10^8$  conídios/mL. Os isolados testados estão descritos na Tabela 1.

TABELA 1. Isolados testados do gênero *Beauveria*, *Cordyceps* e *Metarhizium* quanto a sua patogenicidade em *D. maidis* em condições de laboratório

Isolado	Gênero
BEA 7	<i>Beauveria</i>
BEA 8	<i>Beauveria</i>
Nova	<i>Beauveria</i>
44	<i>Beauveria</i>
BEA 6	<i>Beauveria</i>
9	<i>Beauveria</i>
2	<i>Beauveria</i>
130	<i>Cordyceps fumosorea</i>
391	<i>Cordyceps fumosorea</i>
353	<i>Metarhizium</i>
364	<i>Metarhizium</i>
325	<i>Metarhizium</i>
323	<i>Metarhizium</i>
6	Desconhecido
383	<i>Metarhizium</i>
MA04	<i>Metarhizium</i>
IDM 3-1	<i>Metarhizium</i>
IDM 3-2	<i>Metarhizium</i>
IDM 5-1	<i>Metarhizium</i>
IDM 8	<i>Metarhizium</i>
IDM 1-1	<i>Metarhizium</i>
IDM 2	<i>Metarhizium</i>
IDM 4	<i>Metarhizium</i>
IDM 5-2	<i>Metarhizium</i>
IDM 9-1	<i>Metarhizium</i>

Para a seleção dos isolados dos fungos entomopatogênicos, foi realizado o ensaio *in vitro*. Caixas do tipo *gerboxs* foram submetidas à luz UV na câmara de fluxo durante 30 minutos, e em seguida foram adicionados 10 g de vermiculita esterilizada umedecida com 25 mL de água destilada esterilizada (Figura 1). Também foi colocada uma seção de folha de milho (10 x 11 cm) previamente desinfestadas com álcool 70%, o qual foi aspergido em ambas as faces da folha. Em seguida, foi aplicado 1 mL de suspensão na concentração  $1 \times 10^8$  conídios/mL. Na testemunha foi adicionado 1 mL de água destilada. Os *gerboxs* foram vedados com filme PVC e mantidos em temperatura ambiente.

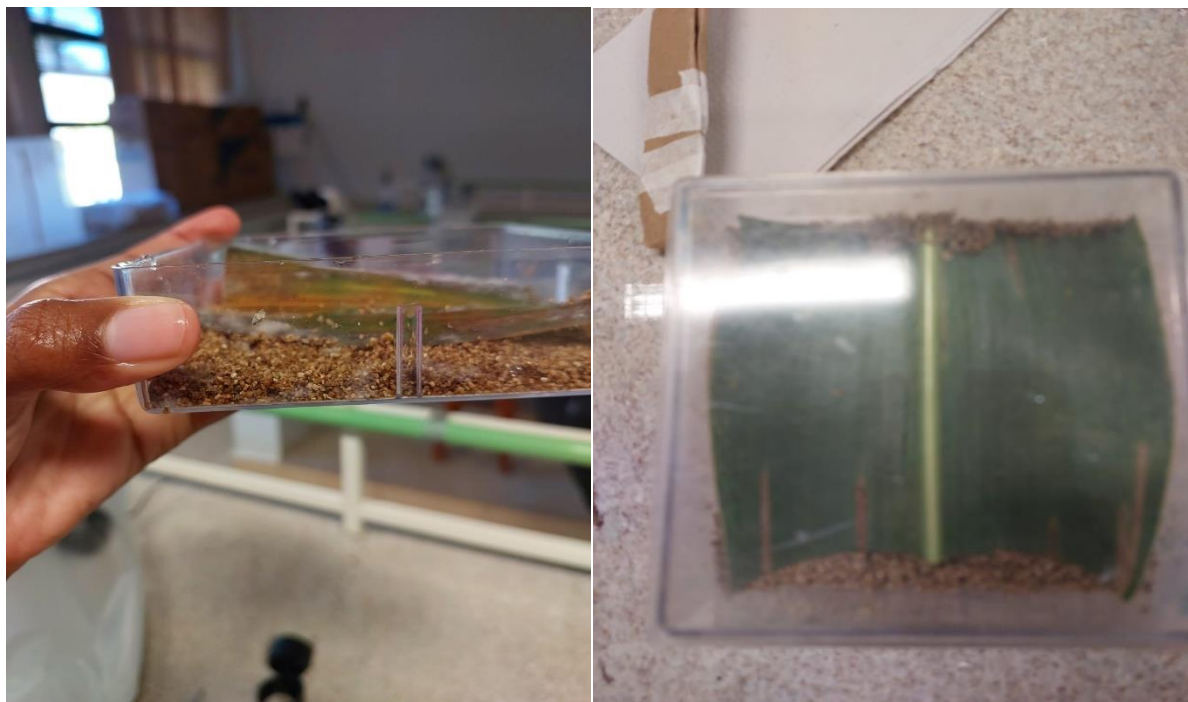


FIGURA 1. Preparo das caixas tipo *gerbox*

Fonte: a autora (2023)

Em seguida, foram colocados dez adultos de *D. maidis* por *gerbox* e foi aplicado 1 mL de suspensão na concentração  $1 \times 10^8$  conídios/mL sobre a seção foliar de milho. Esse volume foi distribuído nos quatro cantos do recipiente para uma maior cobertura. Na testemunha foi aplicado 1 mL de água destilada. Os *gerboxs* foram vedados com filme PVC e mantidos em temperatura ambiente.

O delineamento adotado foi inteiramente casualizado (DIC) com 26 tratamentos (25 fungos e uma testemunha) e seis repetições por tratamento. Em cada repetição, foram adicionados dez adultos de cigarrinha. A mortalidade e esporulação dos fungos foi avaliada cinco dias após a pulverização. Na avaliação, foram registrados o número de insetos colonizados. Os dados foram sujeitos à análise de variância ( $p < 0,01$ ) e as suposições de homogeneidade de variâncias foram avaliadas através do teste de Cochran, enquanto a normalidade dos resíduos foi verificada pelo teste de Jaque-Bera. Quando foi observada diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott, utilizando o software Speed Stat 2.8.

Para avaliação da concentração letal sobre a cigarrinha do milho, foi selecionado o isolado *Metarhizium* sp. IDM 1-1 em função da disponibilidade do inseto e por ele apresentar



maior mortalidade dentre os isolados provenientes de *D. maidis*. As concentrações testadas foram  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$  conídios/mL e a testemunha recebeu aplicação somente de água destilada. Cada tratamento teve seis repetições e cada repetição foi feita com dez adultos de *D. maidis*. Os experimentos foram conduzidos nas mesmas condições do ensaio anterior. Após 120 horas, foi avaliada a quantidade de insetos colonizados. Os dados obtidos foram submetidos à análise de Probit no software R versão 4.2.1.

Para o teste de compatibilidade com produtos químicos, foram utilizados o isolado 9, representante do gênero *Beauveria*, e o isolado IDM 1-1, representante do gênero *Metarhizium*. Nessa etapa não foi utilizado nenhum representante do gênero *Cordyceps*, pois nenhum dos isolados testados apresentou alta mortalidade no experimento. O objetivo deste teste foi avaliar o crescimento micelial dos isolados em meio de cultura contendo inseticida, sendo que aqueles registrados na cultura do milho utilizado foram: clorfluazuron, clorpirifós, deltametrina, metomil, lufenurom e profenofós. O volume de calda considerado foi 50 mL e os volumes de cada produto foram: 0,06 mL de clorfluazuron, 0,60 mL de clorpirifós, 0,2 mL de deltametrina, 0,198 mL de metomil e 0,8 mL de profenofós + lufenurom.

Uma alíquota de 1 mL foi retirada de cada solução e espalhada numa placa de Petri (8,5 cm de diâmetro), contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) com auxílio de micropipeta automática. Após a aplicação dos produtos, os isolados foram inoculados em quatro pontos equidistantes por placa com auxílio de um palito de dente previamente autoclavado. Cada tratamento teve cinco repetições. Na testemunha não foram adicionados produtos químicos. As placas foram mantidas em B.O.D. nas mesmas condições usadas para o crescimento dos isolados fúngicos.

Após cinco dias, foram obtidas fotos pela câmera do *smartphone* Samsung A73 e mensurada a área das colônias em mm<sup>2</sup> utilizando a ferramenta polígono no *software* ImageJ®.

### 3 Resultados e Discussão

Os isolados fúngicos testados apresentaram diferentes níveis de patogenicidade (Figura 2). Foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos cinco dias após inoculação. Os isolados *Metarhizium* sp. IDM 1-1, *Beauveria* sp. 9, *Metarhizium* sp. IDM 4 e *Beauveria* sp. BEA 7 tiveram maior taxa de patogenicidade aos adultos de *D. maidis*. Nenhum dos isolados do gênero *Cordyceps* tiveram patogenicidade superior a 30% (Tabela 2).

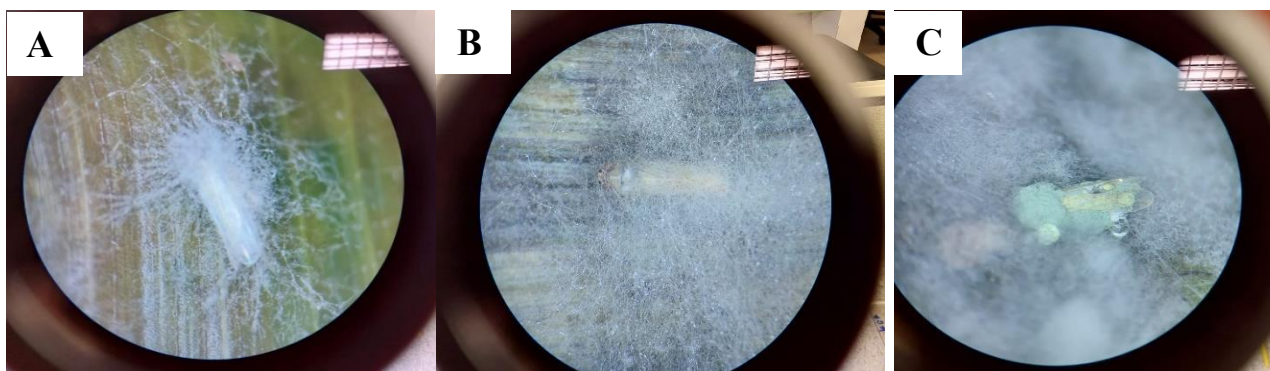


FIGURA 2. Adultos de *Dalbulus maidis* mortos por fungos entomopatogênicos (A) *Beauveria* sp 9, (B) *C. fumosorea* IBCB 130 e (C) *Metarhizium* sp. IDM 1-1  
Fonte: a autora (2023).

Resultados diferentes foram observados por Toledo, Lenicov e Lastra (2007) em casa de vegetação, com menor mortalidade cumulativa de 14,0 e 49,9 % aos 7 e 14 dias após aplicação do isolado *Beauveria bassiana* CEP 147, respectivamente. Os autores relataram o comportamento de “limpeza” de adultos *D. maidis* após a aplicação do isolado. Ibarra-Aparicio, Moya e Padilla (2005) não observaram diferenças significativas na mortalidade entre os isolados das espécies *B. bassiana* e *M. anisopliae*, porém todas as cepas de *B. bassiana* testadas apresentaram menor porcentagem de esporulação. Toledo, Alippi e Lenicov (2011) verificaram que bactérias isoladas da cutícula de *D. maidis* inibiram a ação de *B. bassiana* sobre o inseto.

TABELA 2. Mortalidade (%) de adultos de *Dalbulus maidis* causada por diferentes isolados de fungos entomopatogênicos em condições de laboratório

Tratamento	Mortalidade (%)*
<i>Metarhizium</i> sp. IDM 1-1	75,45 ± 15,03 a
<i>Beauveria</i> sp. 9	67,73 ± 10,17 a
<i>Metarhizium</i> sp. IDM 4	64,86 ± 16,88 a
<i>Beauveria</i> sp. BEA 7	63,81 ± 10,96 a
<i>Metarhizium</i> sp. IDM 2	57,52 ± 19,35 b
<i>Metarhizium</i> sp. IDM 9-1	54,83 ± 18,14 b
<i>Beauveria</i> sp. 2	52,11 ± 17,22 b
<i>Metarhizium</i> sp. IDM 3-2	50,64 ± 9,44 b
<i>Beauveria</i> sp. BEA 8	47,07 ± 9,18 b
<i>Metarhizium</i> sp. 353	41,82 ± 8,80 c
<i>Metarhizium</i> sp. IDM 5-2	40,10 ± 10,77 c
Desconhecido 6	36,88 ± 8,72 c
<i>Metarhizium</i> sp. MA04	33,21 ± 13,58 c
	...continua...

TABELA 2, Cont.

<i>Metarhizium</i> sp. IDM 8	33,19 ± 12,80 c
<i>Metarhizium</i> sp. IDM 3-1	32,71 ± 11,18 c
<i>Beauveria</i> sp. BEA 6	30,52 ± 6,65 c
<i>Cordyceps fumosorea</i> 391	28,53 ± 14,01 c
<i>Beauveria</i> sp. Nova	26,15 ± 7,88 d
<i>Metarhizium</i> sp. IDM 5-1	24,73 ± 7,23 d
<i>Beauveria</i> sp. 44	23,22 ± 10,20 d
<i>Metarhizium</i> sp. 364	20,82 ± 8,91 d
<i>Metarhizium</i> sp. 383	17,07 ± 9,44 d
<i>Metarhizium</i> sp. 323	16,74 ± 7,38 d
<i>Metarhizium</i> sp. 325	16,73 ± 7,93 d
<i>Cordyceps fumosorea</i> 130	7,45 ± 2,91 d
Testemunha	0,00
CV(%)	30,36

Média ± Erro Padrão da média. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott em nível de 1% de probabilidade.

Silva *et al.* (2009) observaram eficiência de controle de 70% do isolado *B. bassiana* (não formulado) na concentração  $4 \times 10^{12}$  conídios viáveis por hectare em condições de campo (milho safrinha), superior ao inseticida Decis® (deltametrina). Anjos (2023), ao trabalhar com formulações comerciais, verificou que a pulverização isolada do produto Octane® (*C. fumosoresea* ESALQ 1296 –  $500 \text{ g ha}^{-1}$ ) obteve maior porcentagem de insetos colonizados, quando comparada a outros bioinseticidas à base de *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Neste mesmo trabalho, observou que o bioinseticida Bometil®, composto por *B. bassiana* IBCB 66 e *M. anisopliae* IBCB 425 na dose de  $300 \text{ g ha}^{-1}$ , teve a porcentagem de 60% de insetos colonizados e, quando associado ao inseticida Perito 970 SG® (acefato) na dose  $1.000 \text{ g ha}^{-1}$ , obteve 88% de insetos colonizados.

Este é o primeiro relato da patogenicidade de *Beauveria* sp., *Cordyceps* sp. e *Metarhizium* sp sobre adultos de *D. maidis* em condições de laboratório. Trabalhos anteriores foram realizados em condições de casa de vegetação e/ou campo.

Foram observadas diferenças significativas entre as concentrações testadas para *Metarhizium* sp. IDM 1-1 e a testemunha ( $p < 0,001$ ), porém não entre as concentrações utilizadas. A mortalidade confirmada variou entre 58,55% na concentração  $1 \times 10^6$  a 76,54% na concentração  $1 \times 10^9$  conídios/mL do isolado *Metarhizium* sp. IDM 1-1. Freitas *et al.* (2012) observaram maior patogenicidade do isolado *M. anisopliae* IBCB 425 sobre ninfas de *Mahanarva fimbriolata* na concentração  $1 \times 10^9$  conídios/mL. Para ninfas de *B. tabaci*, a

concentração letal dos isolados *M. anisopliae* Esalq 09 e Unioeste 43 foram  $7,8 \times 10^8$  e  $4,3 \times 10^5$ , respectivamente (Potrich *et al.*, 2011). Loureiro e Moino Junior (2006) observaram 100% de mortalidade de *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera: Aphididae) e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) na concentração  $1 \times 10^8$  conídios/mL do isolado *M. anisopliae* IBCB 121.

Quanto ao crescimento micelial dos isolados *Beauveria* sp. 9 e *Metarhizium* sp. IDM 1-1 em meio de cultura, os inseticidas clorfluazuron, clorpirifós e profenofós + lufenurom não afetaram de forma significativa o crescimento micelial do isolado *Beauveria* spp. 9. Porém, nos tratamentos metomil e deltametrina, foi observada menor área de crescimento micelial (Tabela 3). Tamai *et al.* (2002) classificaram a deltametrina compatível ao isolado *B. bassiana* PL63.

TABELA 3. Área de crescimento micelial do isolado *Beauveria* sp. 9 em meio BDA com inseticidas registrados para a cultura do milho

Tratamento	Área (mm <sup>2</sup> )*
Clorpirifós	6,40 ± 0,87 a
Clorfluazuron	5,48 ± 0,73 a
Profenofós + Lufenurom	5,58 ± 0,80 a
Deltametrina	2,22 ± 0,30 b
Metomil	3,60 ± 0,68 b
Controle	6,96 ± 0,51 a
CV (%)	30,01

Média ± Erro Padrão da média. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott em nível de 1% de probabilidade.

Todos os inseticidas testados afetaram de forma negativa o crescimento micelial do isolado *Metarhizium* sp. IDM 1-1 e diferiram de forma significativa da testemunha (Tabela 4). O inseticida que teve maior inibição do crescimento micelial foi o profenofós + lufenurom. Pelizza *et al.* (2018) obtiveram resultado semelhante ao testar o isolado *M. anisopliae* cepa LPSC 907 com lufenurom na dosagem 200 ppm, porém não houve diferença no crescimento micelial do isolado *M. anisopliae* UNIOESTE 86. Todavia, alguns inseticidas podem alterar a produção de conídios sem inibir o crescimento micelial dos isolados (Fregonesi, Mochi e Monteiro, 2016; Albonetti *et al.*, 2020).

TABELA 4. Área de crescimento micelial do isolado *Metarhizium* sp. IDM 1-1 em meio BDA com inseticidas registrados para a cultura do milho

Tratamento	Área (mm <sup>2</sup> )*
Clorfluazuron	4,38 ± 0,72 b
Clorpirifós	4,60 ± 0,21 b
Deltametrina	3,24 ± 0,53 c
Metomil	2,64 ± 0,49 c
Profenofós + Lufenurom	1,04 ± 0,14 d
Controle	7,02 ± 0,32 a
CV (%)	26,13

Média ± Erro Padrão da média. \*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott em nível de 1% de probabilidade.

Testes de compatibilidade são importantes para o manejo integrado eficiente, pois alguns dos princípios ativos de inseticidas atuam em vias metabólicas comuns a todos os seres vivos, como os neurotransmissores, inibidores da síntese de quitina e respiração celular. Por isso é necessário o emprego de moléculas químicas que não interfiram na eficiência dos fungos entomopatogênicos (Andaló *et al.*, 2004; Spadotto, 2006).

A origem dos isolados pode influenciar na seletividade, pois isolados do mesmo gênero possuem código genético diferente e são adaptados às condições ambientais específicas. Outros fatores a serem considerados são a formulação, dose e tipo de aplicação do agente de biocontrole e molécula química. Gonçalves (2017) verificou diferenças no crescimento micelial e produção de esporos quando testou a aplicação da molécula química por aspersão e incorporação no meio de cultura. Ribeiro *et al.* (2023) salientam que a associação de inseticidas biológicos e químicos é crucial para o manejo de *D. maidis*.

#### 4 Conclusão

Os isolados testados apresentaram diferenças nas taxas de patogenicidade a adultos de *D. maidis* em condições de laboratório. Não houve discrepância significativa na concentração letal do isolado *Metarhizium* sp. IDM 1-1. Os princípios ativos deltametrina e metomil afetaram o crescimento micelial de *Beauveria* sp. 9 e o princípio ativo Profenofós + Lufenurom causou maior inibição no crescimento micelial do isolado *Metarhizium* sp. IDM 1-1.

## REFERÊNCIAS

- AGROFIT – Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Brasil: Ministério da Agricultura, 2023. Disponível em: [agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 29 maio 2023.
- ALBONETI, A. L.; CECCONELLO, D. M.; RINGENBERG, R.; SANTOS, C. V.; BONINI, A. K.; ALVES, L. F. A.; ALVES, V. S. Efeito de produtos fitossanitários utilizados na cultura da mandioca sobre aspectos biológicos de fungos entomopatogênicos. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e450997248, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7248>
- ALVES, S. B. Fungos Entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. cap. 11, p. 289-370.
- ANJOS, W. I. **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. Disponível em: <https://tede2.uepg.br/jspui/handle/prefix/3980>. Acesso em: 10 set. 2023.
- FONTES, G. M. E.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2020. v. 1, 510p.
- FREGONESI, A. F.; MOCHI, D. A.; MONTEIRO, A. C. Compatibilidade de isolados de *Beauveria bassiana* a inseticidas, herbicidas e maturadores em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. e0242014, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000242014>
- FREITAS, A. F.; LOUREIRO, E. S.; ALMEIDA, M. E. B.; PESSOA, L. G. A. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 2, p. 247–254, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1808-16572012000200013>
- GÊA, B. C. C. **Avaliação de fungos entomopatogênicos obtidos de diferentes ecossistemas brasileiros no controle biológico de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) e de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)**, 2022. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/236740>. Acesso em: 11 jun. 2023.
- GONCALVES, V. P.: **Compatibilidade de agrotóxicos e óleos essenciais a *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, p. 63, 2017. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1089889/1/AnaPaulaAfonsoDissertacaoVanessa.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2021.
- IBARRA-APARICIO, G.; MOYA, G. R.; PADILLA, A. B. Efeito de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre la chicharrita del maíz (*Dalbulus maidis*) (DeLong y Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae). **Folia Entomologica México**, v. 44, n. 1, p. 1-6, 2005.

LOUREIRO, E. DE S.; MOINO JUNIOR., A. Patogenicidade de fungos hifomicetos aos pulgões *Aphis gossypii* Glover e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 5, p. 660–665, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2006000500014>

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. 2022. **Neotropical Entomology**, v. 51, n. 1, p. 1-17. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00932-9>

PELIZZA S.A.; SCHALAMUK, S. M. R S.; STENGLLEIN, S. A.; PACHECO-MARINO S. G.; SCORSETTI A. C. Compatibility of chemical insecticides and entomopathogenic fungi for control of soybean defoliating pest, *Rachiplusia nu*. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 50, n. 2, p. 189-201, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.06.002>

POTRICH, M.; NEVES, P. M. O. J.; ALVES, L. F. A.; PIZZATTO, M.; SILVA, E. R. L.; LUCKMANN, D.; GOUVEA, A.; ROMAN, J. C. Virulência de fungos entomopatogênicos a ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, sup. 1, p. 1783–1792, 2011. DOI: 10.5433/1679-0359.2011v32n4Sup1p1783. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n4Sup1p1783>

RIBEIRO, L.P.; AMANDIO, D. T. T.; RAKES, M.; BELEGANTE, F.; MORESCO, C.; NESI, C. N.; ZANARDI, A. M.; GRÜTZMACHER, A. D.; BERNARDI, D.; ZANARDI, O. Z. Insecticides for corn leafhopper management versus entomopathogenic fungal isolates: In vitro compatibility, physical-chemical interactions, and on-farm assessments. **Crop Protection**, v. 174, 106417. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106417>

ROSSINI, L. A. D. C. J.; SANTOS, G.; RIBEIRO, J. D.; REIS, F. B. Associação de surfactantes a inseticidas para o controle de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae) na cultura do milho. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 4, p. 4022-4029, 2020. DOI: <https://doi.org/10.34188/bjaerv3n4-098>

SILVA, A. H.; TOSCANO, L. C.; MARUYAMA, W. I.; PEREIRA, M. F. A.; CARDOSO, S. Controle de *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) DeLong & Wolcott (1923) por *Beauveria bassiana* na cultura do milho. **Boletim de Sanidad Vegetal Plagas**, v. 35, p. 657-664, 2009.

SILVEIRA, C. H. **Eficácia de inseticidas no controle de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) e da transmissão de espiroplasma do milho**. 2019. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/D.11.2020.tde-20012020-162602>. Acesso em: 31 jul. 2021.

SOUZA, A. D.; OLIVEIRA, M. C.; TAMAI, A. M.; FARIA, M.; LOPES, B. R. 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**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.08.004>

- SPADOTTO, C.A. Abordagem interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos. **Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar**, São Manuel, 9 p., 2006. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/237798386\\_ABORDAGEM\\_INTERDISCIPLINAR\\_NA\\_AVALIACAO\\_AMBIENTAL\\_DE\\_AGROTOXICOS](https://www.researchgate.net/publication/237798386_ABORDAGEM_INTERDISCIPLINAR_NA_AVALIACAO_AMBIENTAL_DE_AGROTOXICOS). Acesso em: 28 out. 2023.
- TAMAI, M.A.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; FAION, M.; PADULLA, L.F.L. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, p. 89-96, 2002.
- TOLEDO, A.V., LENICOV, A. M. M. R.; LASTRA, C.C. L. Pathogenicity of fungal isolates (Ascomycota: Hypocreales) against *Peregrinus maidis*, *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae), and *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae), vectors of corn diseases. **Mycopathologia**, v.163, p. 225–232, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-007-9006-y>
- TOLEDO, A.V.; ALIPPI, A.M.; LENICOV, A.M.M. R. Growth inhibition of *Beauveria bassiana* by bacteria isolated from the cuticular surface of the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* and the planthopper, *Delphacodes kuscheli*, two important vectors of maize pathogens, **Journal of Insect Science**, v. 11, n. 1, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1673/031.011.0129>
- VILANOVA, E. S.; RAMOS, A.; OLIVEIRA, M. C. S.; ESTEVES, M. B.; GONÇALVES, M. C.; LOPES, J. R. First report of a mastrevirus (Geminiviridae) transmitted by the corn leafhopper. **Plant Disease**, v. 106, n. 5, p. 1330-1333, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-1882-SC>