

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/02/2022.

RODRIGO DONIZETI FARIA

**RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MILHO *Bt* E NÃO-*Bt* A *Dalbulus maidis*
(HEMIPTERA: CICADELLIDAE) E MOLICUTES**

Botucatu

2020

RODRIGO DONIZETI FARIA

**RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MILHO *Bt* E NÃO-*Bt* A *Dalbulus maidis*
(HEMIPTERA: CICADELLIDAE) E MOLICUTES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientador: Edson Luiz Lopes Baldin

**Botucatu
2020**

F224r

Faria, Rodrigo Donizeti

Resistência de genótipos de milho Bt e não-Bt a *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) e mollicutes / Rodrigo Donizeti
Faria. -- Botucatu, 2020
75 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu
Orientador: Edson Luiz Lopes Baldin

1. Resistência de plantas. 2. Manejo Integrado de Pragas. 3.
Antixenose. 4. Antibiose. 5. Cigarrinha-do-milho. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


Título: **“RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MILHO A *Dalbulus maidis* (HEMIPTERA:CICADELLIDAE) E MOLICUTES”**

AUTOR: RODRIGO DONIZETI FARIA

ORIENTADOR: EDSON LUIZ LOPES BALDIN

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. EDSON LUIZ LOPES BALDIN
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. CARLOS GILBERTO RAETANO
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP


Dr. ANDRÉ LUIZ LOURENÇÃO
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Fitossanidade / Instituto Agronômico de Campinas

Botucatu, 28 de fevereiro de 2020.

Dedico

Aos meus pais,

Albertino Aparecido Faria e Zélia Aparecida Fogatti Rossi Faria, por todo amor, carinho, incentivo e atenção em toda jornada da minha vida.

Aos meus irmãos,

Rafael Donizeti Faria e Camila Aparecida Faria, pelas palavras de incentivo, apoio e por acreditarem nas minhas conquistas.

A minha avó,

Virginia Fogatti Rossi, pelo amor, carinho e dedicação.

Aos meus padrinhos,

Sebastião Esterão dos Reis e Lucia Faria dos Reis, por ajudarem na minha formação, incentivarem e apoiarem minhas conquistas.

À toda minha família, por sempre acreditar e me incentivar

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, Nossa Senhora Aparecida e Beato Donizetti Tavares de Lima, por guiarem os meus passos nessa caminhada e me darem forças todos os dias para enfrentar as batalhas.

Aos meus amados pais Albertino Aparecido Faria e Zélia Aparecida Fogatti Rossi Faria, pelo amor, carinho, conforto, exemplo e por todos os esforços que contribuíram para a minha formação. Sou eternamente grato por tudo.

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Lopes Baldin, pela orientação, ensinamentos, amizade, paciência, por todo exemplo de caráter, dedicação e profissionalismo e o por me incentivar e acreditar no meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Gilberto Raetano, por participar da banca de avaliação e de todos os ensinamentos adquiridos nas disciplinas ministradas durante o curso e os momentos de descontração no laboratório.

Ao Dr. André Luiz Lourenção, pelo fornecimento de materiais para a realização dos ensaios e por participar da banca de avaliação do presente trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, campus de Botucatu, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Proteção de Plantas, a todos os professores e funcionários, pelo conhecimento transmitido, amizade, companheirismo, exemplos e a colaboração para a execução deste trabalho.

Aos funcionários da FEPE (Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão da FCA/UNESP) em especial ao Mário, Mané, Custódio, Dirceu, Rúbia, Flavio e José, por todo auxílio e prestação de serviço na condução do experimento a campo.

Aos funcionários da biblioteca e da seção técnica de Pós-Graduação UNESP/FCA, pela ajuda e colaboração em todas as etapas.

Ao professor Dr. João Roberto Spotti Lopes e o doutorando Anderson Ramos do departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, pelo fornecimento dos insetos para a criação e dos conhecimentos adquiridos durante as visitas.

Ao meu amigo (irmão) Thiago Luis Martins Fanela (Flanela), por todo apoio, conhecimento, auxílio e motivação para execução deste trabalho.

A todos os meus amigos e amigas do Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas (LARESPI): Jéssica Gorri, Vinícius (Sem Sintoma), Vinícius (Djohan), Sabrina Ongaratto, Alisson Silva, Nádia (Talismã), Yago (Cocorra), Thaís Braga, Adilson (Naka), Maria Clézia, Felipe (Seu Boneco), Luiz (Pialo), Vinícius (Celeal), Guilherme (Delivery), Carolina (Pamonha), Isabella (Ladyretorno), Mateus (Leilão), Rafael (Usuário), Willian (Coroinha), Pedro (Urso), Ramon (Rémon), Sérgio (Genaro), por todo auxílio, companheirismo, amizade, ensinamentos e momentos de descontração.

Aos meus amigos da pós-graduação, Lisandro (Tarzan), Lucas (Caseiro) e Jean (Meia Bomba) por toda amizade, momentos de descontração e confraternização.

A todos os membros da minha família por acreditarem no meu potencial e me encorajarem para realizar este trabalho.

A todas as pessoas que me ajudaram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos principais cereais cultivados no mundo. O Brasil é o terceiro maior produtor deste grão ficando atrás somente da China e dos Estados Unidos da América. A cigarrinha *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) causa danos diretos à cultura por meio da sucção contínua de seiva, além de ser vetora de fitopatógenos como o espiroplasma *Spiroplasma kunkelli* Whitcomb (CSS) e o fitoplasma *Candidatus Phytoplasma asteris* (MBSP), mollicutes responsáveis por enfezamentos nas lavouras. O uso do controle químico dessa espécie apresenta baixa eficiência por se tratar de um inseto com alto grau de dispersão. A utilização de genótipos resistentes a pragas agrícolas é uma estratégia valiosa e compatível com as demais ferramentas do manejo integrado de pragas (MIP). O presente estudo objetivou avaliar 32 genótipos de milho não-*Bt* e *Bt* sob condições de campo, visando caracterizar a expressão de antixenose e a incidência de mollicutes. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro na “safrinha” (2018) e o segundo na “safra de verão” (2018/2019). Para a constatação da presença do espiroplasma e do fitoplasma, foi realizada análise PCR na “safra de verão” (2018/2019). Posteriormente, avaliou-se a possível expressão de resistência por antixenose e/ou antibiose em 11 genótipos de milho previamente selecionados no ensaio conduzido a campo (Capítulo 1), sobre *D. maidis* em casa de vegetação. Os parâmetros biológicos avaliados foram: duração dos estádios e do período ninfal, viabilidade por ínstar e total da fase ninfal e longevidade de adultos. Adicionalmente, foram feitas análises morfológicas e físicas dos genótipos (densidade de tricomas, dureza da folha e nervura), visando estabelecer correlações com as categorias de resistência. Nos ensaios conduzidos a campo, não houve diferença significativa quanto à infestação por adultos nos genótipos estudados em ambas as safras; contudo, XB 8018, XB 8018 *Bt*, XB 8030, XB 8030 *Bt*, XB 9003, 90XB06 *Bt*, JM 2M60, 60XB14, XB 7116 *Bt*, 30F53 HR e SCS 154 Fortuna se destacaram com menores valores absolutos de adultos de *D. maidis* sobre suas plantas, sugerindo a presença de fatores antixenóticos de resistência. Os genótipos 90XB06 *Bt*, 30F53 VYHR, SCS 156 Colorado, IAC 8046, 30F53 YH, DKB 310 VTPRO3 não foram infectados por fitoplasma e espiroplasma durante a safra de verão. No ensaio da biologia, constatou-se que os genótipos 90XB06, IAC 8390, XB 9003 e DKB 310 PRO3 expressaram

antixenose sobre *D. maidis*, reduzindo a oviposição do inseto. Os genótipos 60XB14, 90XB06, IAC 8046, XB8018 e IAC 8390 expressaram antibiose e/ou antixenose sobre a cigarrinha, reduzindo a viabilidade ninfal. A dureza das nervuras está provavelmente associada à resistência de alguns dos genótipos avaliados e configura-se como importante defesa morfológica contra *D. maidis*. Os resultados podem auxiliar os programas de melhoramento genético de milho focando resistência a *D. maidis* e os patógenos associados e contribuindo com o MIP da cultura.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Cigarrinha-do-milho. Antixenose. Antibiose. MIP.

ABSTRACT

Corn (*Zea mays L.*) is one of the main cereals grown in the world. Brazil is the third largest producer of this grain behind only China and the United States of America. The leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) causes direct damage to the crop through the continuous suction of sap, in addition to being a vector of phytopathogens such as the *Spiroplasma kunkelli* Whitcomb (CSS) and the phytoplasma *Candidatus Phytoplasma asteris* (MBSP), responsible for red stunt. The use of chemical control of this species has low efficiency because it is an individual with a high degree of dispersion. The use of genotypes resistant to agricultural pests is a valuable strategy and compatible with other integrated pest management (IPM) tools. The present study aimed to evaluate 32 no-*Bt* and *Bt* corn genotypes under field conditions, aiming to characterize the expression of antixenosis and the incidence of molicutes. Two experiments were carried out, the first in the second harvest (2018) and the second in the first harvest (2018/2019). To contact the presence of spiroplasma and phytoplasma, PCR analysis was performed in the first harvest (2018/2019). Subsequently, the possible expression of resistance by antixenosis and /or antibiosis was evaluated in 11 corn genotypes previously selected in the field trial (Chapter 1), on *D. maidis* in a greenhouse. The biological parameters evaluated were: duration of the stages and the nymphal period, viability per instar and total of the nymphal phase and adult longevity. Additionally, morphological and physical analyzes of the genotypes (trichome density, leaf hardness and rib) were carried out, aiming at establishing correlations with the resistance categories. In field trials, there was no significant difference in infestation by adults in the genotypes studied in both harvests, however XB 8018, XB 8018 *Bt*, XB 8030, XB 8030 *Bt*, XB 9003, 90XB06 *Bt*, JM 2M60, 60XB14, XB 7116 *Bt*, 30F53 HR and SCS 154 Fortuna stood out with lower absolute values of *D. maidis* adults on their plants, suggesting the presence of antixenotic resistance factors. The genotypes 90XB06 *Bt*, 30F53 VYHR, SCS 156 Colorado, IAC 8046, 30F53 YH, DKB 310 VTPRO3 were not infected by phytoplasma and spiroplasma during the first harvest. In the biology test, it was found that the genotypes 90XB06, IAC 8390, XB 9003 and DKB 310 PRO3 expressed antixenosis on *D. maidis*, reducing the oviposition of the insect. The genotypes 60XB14, 90XB06, IAC 8046, XB8018 and IAC 8390 expressed antibiosis and / or antixenosis on leafhoppers,

reducing nymphal viability. The hardness of the ribs is probably associated with the resistance of some of the evaluated genotypes and is an important morphological defense mechanism against *D. maidis*. The results can help maize breeding programs by focusing on resistance to *D. maidis* and associated pathogens and contributing to the IPM of the crop.

Keywords: *Zea mays* L. Corn leafhopper. Antixenosis. Antibiosis. MIP.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1 - Avaliação de resistência de genótipos de milho *Bt* e não-*Bt* a *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) e mollicutes associados

Figura 1 - Precipitação pluviométrica, umidade relativa, temperaturas máxima, média e mínima do ar de março de 2018 a maio de 2019. Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP - Botucatu, SP.39

Capítulo 2 - Níveis variáveis de antibiose e/ou antixenose de genótipos de milho *Bt* e não-*Bt* sobre *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae)

Figure 1 - Correlação entre oviposição de *Dalbulus maidis* e dureza da folha em 11 genótipos de milho.61

Figure 2 - Correlação entre viabilidade ninfal de *Dalbulus maidis* e dureza de nervura em 11 genótipos de milho.61

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 - Avaliação de resistência de genótipos de milho *Bt* e não-*Bt* a *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) e mollicutes associados

Tabela 1 - Nome, características e origens de 32 genótipos de milho avaliados quanto à resistência a <i>Dalbulus maidis</i> e mollicutes.....	30
Tabela 2 - Medianas de adultos e ninfas de <i>Dalbulus maidis</i> obtidos durante a safrinha em 29 genótipos de milho a campo. Botucatu, SP, 2018.	35
Tabela 3 - Medianas de adultos e ninfas de <i>Dalbulus maidis</i> obtidos durante a safra de verão em 30 genótipos de milho a campo. Botucatu, SP, 2018/2019.	38
Tabela 4 - Análise molecular de incidência de espiroplasma e fitoplasma em 30 genótipos de milho durante a safra de verão. Botucatu, SP, 2018/2019.....	41

Capítulo 2 - Níveis variáveis de antibiose e/ou antixenose de genótipos de milho *Bt* e não-*Bt* sobre *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae)

Tabela 1 - Nome, características e origens dos 11 genótipos de milho avaliados quanto à resistência a <i>D. maidis</i>	51
Tabela 2 - Medianas de dureza (gf/cm) de folhas e nervuras e densidade (n ^o /cm ²) de tricomas de 11 genótipos de milho.	56
Tabela 3 - Medianas de duração (dias) por ínstar, período total ninfal e longevidade de <i>Dalbulus maidis</i> em 11 genótipos de milho.	57
Tabela 4 - Medianas de viabilidade (%) por ínstar e total ninfal de <i>Dalbulus maidis</i> em 11 genótipos de milho.	59
Tabela 5 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) envolvendo oviposição de <i>D. maidis</i> , viabilidade ninfal e características morfológicas em 11 genótipos de milho.	60

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	19
CAPÍTULO 1 - AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MILHO <i>Bt</i> E Não-<i>Bt</i> A <i>Dalbulus maidis</i> (HEMIPTERA: CICADELLIDAE) E MOLICUTES ASSOCIADOS	25
1.1 INTRODUÇÃO	27
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	29
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO 2 - NÍVEIS VARIÁVEIS DE ANTIBIOSE E/OU ANTIXENOSE DE GENÓTIPOS DE MILHO <i>Bt</i> E NÃO-<i>Bt</i> SOBRE <i>Dalbulus maidis</i> (HEMIPTERA: CICADELLIDAE)	47
2.1 INTRODUÇÃO	49
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	50
2.3 RESULTADOS	54
2.5 DISCUSSÃO	62
REFERÊNCIAS	65
CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
REFERÊNCIAS	71

INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo do milho (*Zea mays* L.) tem crescido exponencialmente nas últimas décadas em todo o mundo, tornando-se a maior cultura agrícola e ultrapassando a marca de 1 bilhão de toneladas produzidas ao ano (CONTINI et al., 2019; USDA, 2019). Esse grão tem grande importância econômica e social, uma vez que apresenta alto valor nutricional e é utilizado intensamente para alimentação humana e animal, além de servir como matéria-prima nas indústrias. Do ponto de vista social, é um alimento de baixo custo, pela viabilidade de cultivo em grande e/ou pequena escala (GALVÃO et al., 2014). No mercado mundial, cerca de 60% do milho é destinado principalmente à produção animal, 13,4% para o consumo humano e 15,5% para a produção de biocombustível (OECD-FAO, 2018). Existem mais de 150 produtos industrializados utilizando esse grão como matéria-prima na elaboração de óleos, amido, adoçantes, xaropes, lisina, combustíveis, fármacos, vitaminas entre outros (STRAZZI, 2015; VELJKOVIĆA et al., 2018).

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho, ficando atrás somente dos Estados Unidos da América (EUA) e China. Estima-se que a área plantada com esse cereal no país, incluindo-se a primeira e segunda safras, seja de aproximadamente 17.537,0 mil hectares. A média estimada de produção é de 26.293,3 e 70.936,5 mil toneladas para a primeira e segunda safras de 2019/2020, com uma produtividade média de 5.508 kg/ha. Na safra de verão de 2019 verificou-se menor representatividade da cultura, uma vez que em relação a outros anos, está relacionado à mudança na preferência de plantio por produtores, que optaram pelo cultivo de soja (CONAB, 2019). Por outro lado, o aumento da produtividade em território nacional tem sido relacionado ao desenvolvimento e expansão das áreas agrícolas, avanços nas áreas da tecnologia e biotecnologia e a adesão por boa parte dos produtores, à sementes com altos índices de produtividade. Essa mudança de cenário fez saltar a produção nos últimos 40 anos que era de 20 milhões de toneladas na safra de 1976/77 para 97,8 milhões de toneladas na safra 2016/2017 (CONTINI et al., 2019).

Durante o cultivo de milho existe contínua preocupação dos produtores com relação às perdas ocasionadas por doenças e pelo ataque de artrópodes-praga, os quais podem provocar prejuízos de até 100% nas lavouras. Dentre as pragas que geralmente estão associadas à cultura, destacam insetos da ordem Lepidoptera:

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (lagarta-do-cartucho-do-milho), *Helicoverpa zea* (Boddie) e *Helicoverpa armigera* (Hübner) (lagartas-das-espigas). São também comuns insetos da ordem Coleoptera, tais como: *Diabrotica speciosa* (Germar) (larva-alfinete), *Cyclocephala* spp. (Dejean) e *Diloboderus abderus* (Sturm) (corós), além de algumas espécies de Hemiptera: *Dichelops melacanthus* (Dallas) (percevejo barriga-verde), *Euschistus heros* (Fabricius) percevejo-marrom, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (pulgão-do-milho) e *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (cigarrinha-do-milho) (BIANCO, 2012; CRUZ, 2012; NAULT, 1980; WAQUIL et al., 1999).

Fatores como a sucessão contínua de culturas como soja, milho e algodão, aplicações excessivas de defensivos, presença de plantas invasoras nas áreas adjacentes ao cultivo, aliados ao uso de métodos inadequados de manejo, têm proporcionado a ocorrência de surtos populacionais de espécies-praga anteriormente consideradas secundárias (SANTOS et al., 2009; SOUZA et al., 2014). Durante décadas, especialmente antes da liberação comercial do milho transgênico, a cultura, demandava muitas pulverizações de inseticidas para o controle de insetos mastigadores (principalmente *S. frugiperda*), controlando involuntariamente organismos não-alvo (CRUZ, 2012).

O plantio de culturas com biotecnologia vem aumentando expressivamente nas últimas décadas e tem sido amplamente adotado por produtores em todo o mundo, proporcionando benefícios para agricultura, economia, além de redução no impacto ambiental, pela diminuição do número de pulverizações com inseticidas. Estima-se que a área acumulada plantada com plantas transgênicas nos últimos 20 anos seja de 2,15 bilhões de hectares, sendo 1,04 bilhões destinados para soja, 0,64 bilhões para o cultivo de milho, 0,34 bilhões para o algodão e 0,13 bilhões para a canola, distribuídos em 24 países (ISAAA, 2017).

O Brasil ocupa o segundo lugar entre os países que mais implementam culturas com biotecnologia, com uma área de aproximadamente 50,2 milhões de hectares, sendo 15,6 milhões de hectares destinados ao milho de primeira e segunda safras (ISAAA, 2017). Assim como verificado em outros países, o aumento no plantio de áreas com tecnologia *Bt* proporcionou redução significativa na aplicação de inseticidas, causando uma mudança no status econômico das pragas associadas à lavoura, especialmente para insetos sugadores e que anteriormente não eram considerados pragas-chave (CRUZ, 2012).

Dentre os insetos sugadores da cultura do milho, a cigarrinha *D. maidis* destaca-se pelos prejuízos significativos que tem acarretado às plantações de milho (OLIVEIRA et al., 2002a). Esse inseto ocorre em toda a região neotropical, sendo a única espécie do gênero que ocorre em plantações de milho no Brasil (NAULT, 1985; OLIVEIRA et al., 2004). O sistema de cultivo de primeira e segunda safra do milho no Brasil, funciona como uma “ponte verde”, permitindo a sobrevivência desse inseto e dos patógenos associados tornando ineficiente a rotação de culturas, que outrora impedia que o inseto completasse o ciclo e a permanência na área (SILVA et al., 2017). Outro fato comumente associado, deve-se à presença do milho voluntário (tiguera), que permite a sobrevivência da *D. maidis* e patógenos associados que ocasionam enfezamentos, no milho (CAROLINI et al., 2013).

Dalbulus maidis é uma espécie que se adapta rapidamente a novos ambientes. Apresenta corpo pequeno, ciclo biológico curto, podendo ter várias gerações no ciclo da planta hospedeira, multiplicando-se rapidamente, sendo caracterizada como espécie estrategista r. Os adultos da cigarrinha-do-milho apresentam 3,7 mm a 4,3 mm de comprimento, com coloração amarelo palha, a cabeça possui tamanho médio de 0,6-0,75 mm, com duas manchas circulares negras. A coloração da cigarrinha-do-milho pode variar de região para região, em tonalidades mais claras ou mais escuras (TRIPLEHORN; NAULT, 1985; WAQUIL et al., 1999). O período embrionário de *D. maidis* pode variar de cinco a 12 dias, em temperaturas entre 23 e 26°C (MARÍN et al., 1987; WAQUIL et al., 1999). É uma espécie hemimetabólica apresentando cinco estágios ninfais com duração de 3,8; 3,1; 2,8; 3,3; e 2,7 dias, em temperatura de 26°C. O período médio de ovo a adulto pode variar de 24,5 a 27,1 dias (WAQUIL et al., 1999; ZURITA et al., 2000).

O período de pré-oviposição das fêmeas da cigarrinha é de 8,5 dias e o período de oviposição é de 29,6 dias (MÁRIN et al., 1987). Os ovos medem 1,3 mm, são de coloração branca e possuem o córion transparente. As fêmeas inserem individualmente os ovos nos tecidos das plantas sob a camada epidérmica do limbo foliar, ou na nervura central da folha, em posição horizontal, os quais ficam em linhas paralelas às nervuras da folha. A deposição dos ovos pode ser isolada, em pares, ou em grupos de cinco ou seis ovos (HEADY; NAULT, 1984; HEADY; MADDEN; NAULT, 1985; WAQUIL et al., 1999).

A cigarrinha-do-milho é considerada um dos principais hemípteros-praga da cultura, além de ser vetora de patógenos do milho nas Américas, causando necroses, alterações fisiológicas severas devido à injeção de saliva tóxica ou posturas endofíticas e, principalmente, pela inoculação de patógenos que provocam enfezamentos (NAULT, 1980; WAQUIL et al., 1999; LOPES; OLIVEIRA, 2004). No Brasil, sua ocorrência foi registrada em mais de 143 municípios pertencentes a 17 estados e no Distrito Federal. Estudos realizados em território nacional de levantamento da abundância de espécies de cigarrinhas revelaram que a espécie *D. maidis* representou 90,1% das cigarrinhas coletadas pertencentes a família Cicadellidae (OLIVEIRA; QUERINO; FRIZZAS, 2017). Esse inseto tem alta capacidade de dispersão, podendo percorrer distâncias maiores que 20 km, contribuindo para a sobrevivência, e dispersão, de indivíduos para outras áreas (OLIVEIRA; LOPES; NAULT, 2013).

Os enfezamentos são causados por dois fitopatógenos da classe Mollicutes: *Spiroplasma kunkelii*, conhecido por 'corn stunt spiroplasma', e *Candidatus Phytoplasma asteris*, conhecido por 'maize bushy stunt phytoplasma' (MBSP). Adicionalmente, *D. maidis* também pode transmitir o vírus *Maize rayado fino virus* (MRFV), que ocasiona pontos cloróticos, manchas ou linhas-curtas distribuídas de forma uniforme nas folhas do milho (NAULT, 1980, 1990). Os mollicutes são geralmente conhecidos como espiroplasma e fitoplasma; são seres procariontes, sem parede celular definida e a sua transmissão ocorre de forma persistente-propagativa por espécies de cigarrinhas (NAULT, 1980).

O espiroplasma ocasiona o enfezamento-pálido do milho. Os sintomas característicos da presença patógeno são manchas cloróticas e independentes, produzidas na base das folhas e que, posteriormente, coalescem e formam bandas grandes; os entrenós se desenvolvem menos e a planta tem a altura reduzida, dando o aspecto de "enfezada". Ainda, formam-se brotos nas axilas das folhas e o colmo e as folhas adquirem a cor avermelhada. O fitoplasma ocasiona o enfezamento-vermelho e os sintomas assemelham-se aos do espiroplasma, exceto pela severidade e a maior intensidade da cor vermelha, que chega a ser púrpura em folhas mais velhas, e por abundante perfilhamento nas axilas foliares e na base das plantas (NAULT, 1980; SABATO, 2017).

Plantas de milho que apresentam infecções ocasionadas por espiroplasma ou fitoplasma têm a capacidade de absorção de nutrientes comprometida e, como

consequência, mostram redução no crescimento e na produção de grãos (OLIVEIRA et al., 2002b), com perdas de até 70% na produtividade (OLIVEIRA et al., 2005). Para o manejo das doenças associadas a estes patógenos no milho, recomenda-se a utilização de cultivares resistentes, além do controle do vetor por meio de aplicações com inseticidas sintéticos sistêmicos, via foliar ou o tratamento de sementes (CASELA; KRATTIGER, 1998; LOPES; OLIVEIRA, 2004; COTA et al., 2018).

Entretanto, o uso indiscriminado de inseticidas e de misturas de ingredientes ativos pode ocasionar impactos irreversíveis ao meio ambiente, prejudicando organismos não-alvo, além de alterar o agroecossistema (SANCHEZ-BAYO; TENNEKES; GOKA, 2013; MAHMOOD et al., 2016), e selecionar indivíduos resistentes, reduzindo a eficiência dessa prática de controle (NAUEN et al., 2012; HAFEEZ et al., 2018).

O uso de cultivares resistentes a insetos pode ser uma alternativa eficiente para a redução no uso de inseticidas nas lavouras, além de ser compatível com as demais táticas previstas no Manejo Integrado de Pragas (MIP). A resistência de plantas a determinadas espécies de pragas está relacionada com suas características físicas, químicas e morfológicas, que podem alterar a preferência e a biologia do inseto contribuindo para diminuição da população do mesmo e mantendo-a em níveis que não causam prejuízos econômicos, além de contribuir para a conservação do agroecossistema e proporcionar maior rentabilidade ao produtor (PAINTER, 1951; BALDIN et al., 2019). Com relação ao manejo das doenças do milho, a utilização de cultivares resistentes a patógenos é também considerada o método mais eficiente para a redução das perdas nas lavouras (TEXEIRA; SABATO et al., 2017).

Considerando-se a importância crescente e o expressivo potencial de danos que *D. maidis* e os patógenos associados apresentam para a cultura do milho, este estudo teve como objetivo selecionar genótipos de milho *Bt* e não-*Bt* mais resistentes frente ao ataque da cigarrinha-do-milho *D. maidis*, bem como seus patógenos associados a campo. Em adição, foram avaliados parâmetros biológicos do inseto confinado a genótipos de milho selecionados na etapa anterior em casa-de-vegetação. Os objetivos específicos do trabalho foram: a) caracterizar a possível expressão de antixenose sobre *D. maidis* e resistência a mollicutes em 32 genótipos *Bt* e não-*Bt* de milho; b) caracterizar a possível expressão de antibiose e/ ou antixenose de genótipos de milho selecionados sob condições de semi-campo.

A dissertação foi dividida em dois capítulos visando atingir os objetivos anteriormente descritos. O primeiro foi intitulado “Avaliação de resistência de genótipos de milho *Bt* e não-*Bt* a *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) e mollicutes associados” e foi redigido de acordo com as normas da revista *Bragantia*. O segundo, intitulado “Níveis variáveis de antibiose e/ou antixenose de genótipos de milho *Bt* e não-*Bt* sobre *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae), foi redigido conforme as normas da revista *Arthropod-Plant Interactions*. Essas informações podem ser úteis aos programas de melhoramento genético de milho focando resistência à cigarrinha e patógenos envolvidos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos quanto a resistência de plantas a pragas e doenças de importância econômica são imprescindíveis para programas de melhoramento genético de plantas e é uma ferramenta valiosa para o manejo integrado de pragas. Neste trabalho foi avaliado 32 genótipos submetidos a condições de campo e 11 genótipos avaliados em casa de vegetação.

Não houve diferença significativa quanto à infestação por adultos e ninfas nos genótipos estudados em ambas as safras, porém os cultivares XB 8018, XB 8018 *Bt*, XB 8030, XB 8030 *Bt*, XB 9003, 90XB06 *Bt*, JM 2M60, 60XB14, XB 7116 *Bt*, 30F53 HR e SCS 154 Fortuna se destacaram com menores valores absolutos de adultos de *D. maidis* sobre suas plantas, sugerindo a presença de fatores antixenóticos de resistência.

As análises de PCR realizadas na “safra de verão” revelaram que os genótipos 90XB06 *Bt*, 30F53 VYHR, SCS 156 Colorado, IAC 8046, 30F53 YH, DKB 310 VTPRO3 não foram infectados por fitoplasma e espiroplasma, indicando potencial para resistência aos enfezamentos associados à cigarrinha.

Nos ensaios conduzidos e casa-de-vegetação os genótipos 90XB06, IAC 8390, XB 9003 e DKB 310 PRO3 expressaram antixenose sobre *D. maidis*, reduzindo a oviposição do inseto. Os genótipos 60XB14, 90XB06, IAC 8046, XB 8018 e IAC 8390 expressaram antibiose e/ou antixenose sobre a cigarrinha, reduzindo a viabilidade ninfal.

No bioensaio realizado foi observado que a dureza das nervuras está provavelmente associada à resistência de alguns dos genótipos avaliados e configura-se como importante defesa morfológica contra *D. maidis*.

Os resultados obtidos no presente trabalho podem contribuir para programas de melhoramento genético de plantas visando a resistência de plantas.

REFERÊNCIAS

BALDIN, E.L.L.; VENDRAMIN, J.D.; LOURENÇÃO, A.L. Resistência de plantas a insetos: fundamentos e aplicações. Piracicaba: **Fealq**, 2019.

BIANCO, R. Manejo de Pragas não Alvo no Milho *Bt*: Pragas de Solo e Redutores de Estande In: PATERNIANI, M.E. A. G. Z.; DUARTE, A. P.; TSUNECHIRO, A. (Ed.). **Diversidade e inovações na cadeia produtiva de milho e sorgo na era dos transgênicos**. Campinas: ABMS/IAC, p. 321-340, 2012.

CARLONI, E. et al. Presence of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and of *Spiroplasma kunkelii* in the temperate region of Argentina. **Journal of economic entomology**, v. 106, n. 4, p. 1574-1581, 2013.

CASELA, C.R.; KRATTIGER, A.F. **Diagnosing maize diseases in Latin America**. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, Ithaca, NY (EUA), 1998.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, Safra 2019/20 – Primeiro levantamento**, Brasília. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 13 nov. 2019.

CONTINI, E. et al. Milho: caracterização e desafios tecnológicos. **Embrapa Milho e Sorgo-Nota Técnica/Nota Científica (ALICE)**, 2019.

COTA, L. V. et al. Resistência de genótipos de milho aos enfezamentos. **Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2018.

CRUZ, I. Manejo de Pragas não Alvo de Milho *Bt* Incidentes na Parte Aérea da Planta In: PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; DUARTE, A. P.; TSUNECHIRO, A. (Ed.). **Diversidade e inovações na cadeia produtiva de milho e sorgo na era dos transgênicos**. Campinas: ABMS/IAC, p. 321-340, 2012.

GALVÃO, J.C.C. et al. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. **Ceres**, v. 61, n. 7, 2014.

HAFEEZ, M. et al. Gossypol-induced fitness gain and increased resistance to deltamethrin in beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). **Pest Management Science**, v. 75, n. 3, p. 683-693, 2018.

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

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

ISAAA. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2017: Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years**. Ithaca, 2017.

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

MAHMOOD, I. et al. Effects of pesticides on environment. In: **Plant, Soil and Microbes**. Springer, Cham, 2016. p. 253-269.

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

NAUEN, R. et al. IRAC: insecticide resistance, and mode of action classification of insecticides. **Modern Crop Protection Compounds**, Volumes 1-3, Second Edition, p. 935-955, 2012.

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

NAULT, L. R. Evolutionary relationships between maize leafhoppers and their host plants. The leafhoppers and planthoppers. **Wiley**, New York, p. 309-330, 1985.

NAULT, L. R. Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogen host ranges, and vectors. **Phytopathology**, v. 70, n. 7, p. 659-662, 1980.

OECD/FAO, **OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026**, OECD Publishing, Paris, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-en>. Acesso: 12 nov. 2019.

OLIVEIRA, C.M. et al. Disseminação de molícutes do milho a longas distâncias por *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 91-95, 2002 a.

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

OLIVEIRA, E. et al. Molícutes e vírus na cultura do milho no Brasil: caracterização e fatores que afetam sua incidência. **Doenças em milho: molícutes, vírus, vetores, mancha por Phaeosphaeria**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 17-34, 2004.

OLIVEIRA, E. et al. *Spiroplasma* and Phytoplasma infection reduce kernel production and nutrient and water contents of several but not all maize cultivars [*Zea mays* L.]. **Maydica** (Italy), 2005.

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

OLIVEIRA, C. M.; QUERINO, R. B.; FRIZZAS M. R. Cigarrinhas na cultura do milho no Brasil. In: OLIVEIRA C.M. SABATO, E. O. **Doenças em milho: insetos-vetores, molícutes e vírus**. Brasília, DF: EMBRAPA, 71-94 p., 2017.

PAINTER, R. H. **Insect resistance in crop plants**. New York: McMillan, 1951.

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

SANCHEZ-BAYO, F.P.; TENNEKES, H. A.; GOKA, K. Impact of systemic insecticides on organisms and ecosystems. **InTech**, 2013.

SANTOS, K. B. et al. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, v. 50, n. 2, p. 157-163, 2009.

SILVA, D. D. et.al. Molicutes em milho: a diversificação de sistemas de produção pode ser a solução? In: MEDEIROS, F. H. V.; PEDROSO, L. A.; GUIMARÃES, M. de R. F.; SILVA, B. A. A. de S.; ALMEIDA, L. G. F. de; SILVA, F. J.; SILVA, R. L. M.; FERREIRA, L. C.; PEREIRA, A. K. M.; COUTO, T. B. R.; GOMES, V. A.; MEDEIROS, R. M.; VEIGA, C. M. de O.; SILVA, M. de F.; FIGUEIREDO, Y. F.; GATTI, G. V. N.; NICOLLI, C. P. (Ed.). **Novos sistemas de produção**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2017. cap. 4, p. 32-52.

SOUZA, B. H. S. et al. Aspectos bionômicos de *Spodoptera eridania* (Cramer): uma praga em expansão na cultura da soja na região do cerrado brasileiro.

EntomoBrasilis, v. 7, n. 2, p. 75-80, 2014.

STRAZZI, S. Derivados do milho são usados em mais de 150 diferentes produtos industriais. **Revista Visão Agrícola–USP/ESALQ**, n. 13, p. 146-150, 2015.

VELJKOVIĆA, V. B et al. Biodiesel production from corn oil: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 91, p. 531-548, 2018.

TEXEIRA F. F.; SABATO E. O. Resistência do milho aos enfezamentos causados por molicutes. In: OLIVEIRA C.M. SABATO, E. O. **Doenças em milho: insetos-vetores, molicutes e vírus**. Brasília, DF: EMBRAPA, 181-188 p., 2017.

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

TSAI, J.H. Bionomics of *Dalbulus maidis* (DeLong e Wolcott), a vector of mollicutes and virus (Homoptera: Cicadellidae). In: **Mycoplasma Diseases of Crops**. Springer, New York, NY p. 209-221, 1988.

USDA, United States Department of Agriculture. **USDA Agricultural Projections to 2028**. Disponível em: <<https://www.usda.gov/oce/commodity/projections/>> Acesso: 14 nov. 2019.

WAQUIL, J.M. et al. Aspectos da biologia da cigarrinhado-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 413-420, 1999.

ZURITA, Y.A.; ANJOS, N.; WAQUIL, J. M. Aspectos biológicos de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) em híbridos de milho (*Zea mays* L.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 347-352, 2000.