

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA – CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
CURSO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA

DAVI SOUZA DELLA LIBERA

**CONTROLE BIOLÓGICO DA CIGARRINHA E DA LAGARTA-DO-
CARTUCHO EM HÍBRIDOS DE MILHO, COM *Beauveria* spp.**

Ilha Solteira
2022

Davi Souza Della Libera

Controle biológico da cigarrinha e da lagarta-do-cartucho em híbridos de milho, com *Beauveria spp.*

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Faculdade de Engenharia
de Ilha Solteira, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo.

Orientador
Prof. Dr. João Antonio da Costa Andrade

Coorientador
Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini

Ilha Solteira
2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

D357c Della Libera, Davi Souza.
Controle biológico da cigarrinha e da lagarta-do-cartucho em híbridos de milho, com *Beauveria* spp. / Davi Souza Della Libera. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2022 35 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2022

Orientador: João Antonio da Costa Andrade

Coorientador: Paulo Cezar Ceresini

Inclui bibliografia

1. *Beauveria*. 2. Controle biológico. 3. *Dalbulus maidis*. 4. *Zea mays*. 5. Manejo integrado. 6. *Spodoptera frugiperda*.

Raiane da Silva Santos
Raiane da Silva Santos

Supervisora Técnica de Serviço
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação
C328-9-9999



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Ilha Solteira

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE ENGENHARIA - CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
CURSO DE ENGENHARIA AGRÔNOMICA
ATA DA DEFESA – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO: "CONTROLE BIOLÓGICO DA CIGARRINHA E DA LAGARTA-DO-CARTUCHO EM HÍBRIDOS DE MILHO, COM *Beauveria spp*"

ALUNO: DAVI SOUZA DELLA LIBERA - RA: 162054459

ORIENTADOR: Prof. Dr. JOÃO ANTONIO DA COSTA ANDRADE

Aprovado (X) – Reprovado () pela Comissão Examinadora com a Nota: 9,3

Comissão Examinadora:


Prof. Dr. João Antonio da Costa Andrade
Presidente (Orientador)


Ms. Tatiane Carla Silva


Ms. Lucas Lopes e Silva


Aluno: Davi Souza Della Libera
Ilha Solteira(SP), 17 de outubro de 2022.

AGRADECIMENTOS

À minha família por todo o suporte e incentivo que me deram ao longo de minha graduação, aos meus amigos da minha república, DZ7 Alqueires, pela amizade que formamos, pelos meus amigos da minha cidade, pelo companheirismo e pela minha turma pelos momentos bons que tivemos.

Também à Universidade Estadual Paulista – Campus de Ilha Solteira e seus professores, que me ensinaram e me guiaram por toda a graduação.

Agradeço ao CNPQ pela bolsa de pesquisa e pela oportunidade ofertada para realização desse trabalho de conclusão de curso.

Ao Prof. Dr. João Antônio da Costa Andrade, pela paciência, apoio, tempo e confiança que teve comigo, ao grupo de estágio em melhoramento genético de milho por todo o companheirismo no campo e no laboratório.

Ao Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini pela oportunidade que me deu ao me proporcionar uma iniciação científica o qual aprendi muito ao longo desse projeto e ao grupo de Fitopatologia molecular, por todos os ensinamentos que me foram passadas e ajudas que tive ao longo do meu projeto além do companheirismo que desenvolvemos.

Além disso agradeço a Deus pelas oportunidades que tive até aqui.

RESUMO

O controle de diversas pragas de importância agrícola vem se tornando cada vez mais difícil pelo uso de inseticidas, o qual se dá possivelmente em função da emergência de populações de insetos pragas e vetores resistentes a diversos princípios ativos. Sendo assim, a utilização de métodos alternativos vem ganhando cada vez mais força e, dentre esses métodos, um em destaque é o controle biológico, o qual utiliza microrganismos, como a *Beauveria* spp., para o controle de diversas pragas agrícolas, como no caso da lagarta do cartucho e da cigarrinha do milho. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi de determinar, em condições de campo, o potencial do fungo *Beauveria* spp como agente de controle biológico da cigarrinha (*Dalbulus maidis*), diminuindo os sintomas do complexo enfezamento, e da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) em milho. O fungo utilizado foi isolado no laboratório de Fitopatologia Molecular da UNESP de Ilha Solteira e multiplicado em milheto. A aplicação foi de 34,2 kg/ ha de milheto colonizado, em 10 híbridos em esquema experimental em blocos ao acaso com quatro repetições. O mesmo experimento foi conduzido sem aplicação do fungo para verificação do seu efeito. Não houve efeito do fungo no controle de lagarta do cartucho e da cigarrinha do milho.

Palavras-chaves: Beauveria, Controle biológico, *Dalbulus maidis*, Enfezamento, Manejo integrado, *Spodoptera frugiperda*, Mollicutes, *Zea mays*.

ABSTRACT

The control of various pests of agricultural importance has become increasingly difficult due to the use of insecticides, which is possibly due to the emergence of populations of insect pests and vectors resistant to several active principles. Therefore, the use of alternative methods has been gaining more and more strength and, among these methods, one of the highlights is biological control, which uses microorganisms, such as *Beauveria* spp., to control agricultural pests, as in the case of fall armyworm and corn leafhopper. Thus, the objective of this work was to determine, under field conditions, the potential of the fungus *Beauveria* spp. as a biological control agent for leafhopper (*Dalbulus maidis*), reducing the symptoms of corn stunt complex, and fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in corn. The fungus used was isolated in the Molecular Phytopathology Laboratory of UNESP in Ilha Solteira and multiplied in millet for later inoculation in the field. The application was 34.2 kg/ha of colonized pearl millet, in 10 hybrids in an experimental design in randomized blocks with four replications. The same experiment was carried out without applying the fungus to verify its effect. There was no effect of the fungus on the control of fall armyworm and corn leafhopper.

Key words: *Beauveria*, Integrated management, Biological control, *Spodoptera frugiperda*, Mollicutes, *Zea mays*.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Características dos híbridos utilizados no experimento -----21
- Tabela 2** - Quadrados médios da análise de variância conjunta, médias e coeficientes de variação (CV%) para os caracteres número de cigarrinhas vivas (NCV), número de lagartas vivas (NLV), nota para lagarta do cartucho (NL), porcentagem de plantas com enfezamento (ENF%), porcentagem de espigas gessadas (EG%) e rendimento de grãos (RG), para a primeira safra 2020/21 -
----- 25
- Tabela 3** - Quadrados médios da análise de variância conjunta, médias e coeficientes de variação (CV%) para os caracteres número de cigarrinhas vivas (NCV), número de lagartas vivas (NLV), nota para lagarta do cartucho (NL) e, porcentagem de plantas com enfezamento (ENF%), para a segunda safra 2021
----- 25
- Tabela 4** - Médias de híbridos e experimentos (com e sem *Beauveria*) para os caracteres número de cigarrinhas vivas (NCV), número de lagartas vivas (NLV), nota para lagarta do cartucho (NL), porcentagem de plantas com enfezamento (ENF), porcentagem de espigas gessadas (EG%) e rendimento de grãos (RG), para a primeira safra 2020/21 ----- 27
- Tabela 5** - Médias de híbridos e experimentos (com e sem *Beauveria*) para os caracteres número de cigarrinhas vivas (NCV), número de lagartas vivas (NLV), nota para lagarta do cartucho (NL), porcentagem de plantas com enfezamento (ENF), para a segunda safra 2021 ----- 28

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - **A.** Sintomas do ataque de lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) em milho. **B.** Plantas de milho com sintomas avançados de enfezamento. **C.** Infestação de cigarrinhas (*Dalbulus maidis*) vetoras de fitoplasmas e espiroplasma dos enfezamentos do milho. **D.** Produção de formulado de *Beauveria* spp em substrato a base de milheto para veiculação do agente de biocontrole em campos experimentais de milho. **E.** Cultura pura de *Beauveria* spp. -----9
- Figura 2** - Cigarrinhas do milho (*Dalbulus maidis*) ----- 13
- Figura 3** - **A.** Maize bushy stunt phytoplasma, causador do Enfezamento vermelho. **B.** *S. kunkelii*, causador do Enfezamento pálido -----15
- Figura 4** - **A.** Enfezamento Vermelho (Fitoplasma). **B.** Enfezamento Pálido (Espiroplasma) ----- 16
- Figura 5** - Lagarta do Cartucho (*Spodoptera frugiperda*) ----- 17
- Figura 6** - Localização da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP – Campus de Ilha Solteira, no município de Selvíria, no Cerrado do Mato Grosso do Sul, na divisa entre os estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo (Brasil) -----20
- Figura 7** - *Beauveria* spp. em meio de cultivo BDA ----- 22
- Figura 8** - Escala de Davis invertida para ataque de *Spodoptera frugiperda* ----- 23

Sumário

1. Introdução.....	8
2. Objetivo geral	10
2.1. Objetivos específicos	10
3. Revisão de literatura	11
3.1 A cultura do milho (<i>Zea mays L.</i>).....	11
3.2 Cigarrinha-do-milho (<i>Dalbulus maidis</i>)	12
3.3 Enfezamento do milho	13
3.3.1 Os molicutes.....	14
3.3.2 Enfezamentos vermelho e pálido.....	15
3.4 Lagarta do cartucho (<i>Spodoptera frugiperda</i>).....	16
3.5 <i>Beauveria</i> spp	18
3.6 Controle biológico	19
4. Material e métodos	20
4.1 Procedimentos de campo	20
4.2 Procedimentos em laboratório	22
4.3 Caracteres avaliados	22
5. Resultados e Discussão.....	24
6. Conclusão	30
Referências.....	31

1. Introdução

Sendo uma planta originária das Américas, o milho (*Zea mays* L.) foi domesticado entre 8.000 e 10.000 anos atrás. Na atualidade é cultivado em todo território nacional e diversos países pelo mundo. Tem como características ser uma planta ereta, com baixo afilamento, monòica-monoclina, classificada no grupo das plantas C-4 e possuindo uma ampla adaptação a diferentes condições de ambiente. Porém, mesmo se adaptando a diferentes temperaturas, tem um maior potencial produtivo entre 24 e 30°C, radiação solar elevada e adequada disponibilidade hídrica do solo.

Atualmente, no Brasil, a cultura caracteriza-se pela semeadura em duas épocas: primeira safra ou safra de verão e segunda safra. Diversos fatores tecnológicos permitem que produtores brasileiros de milho tenham níveis elevados de rendimento atualmente, alguns chegando a 14 toneladas ha⁻¹.

Por outro lado, mesmo o milho sendo considerado uma planta rústica, devido a sua utilização cada vez mais frequente em sistema de monocultivo, problemas fitossanitários de pragas e doenças vêm se intensificando.

Uma das principais pragas da cultura é a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) (Figura 1, A) que eleva o custo de produção, pois exige inúmeras aplicações de inseticidas ao longo do ciclo da cultura, nas principais regiões produtoras de milho no Brasil.

Entre as doenças de importância atual no milho está o complexo enfezamento (Figura 1, B), o qual vem afetando seriamente o desempenho econômico das lavouras com uma redução em 70% da produção de grãos da planta doente, em relação à planta sadia, em cultivares suscetíveis. Para resolver esse problema, vem sendo estudadas soluções que gerem híbridos mais resistentes a tal doença e métodos de controle da praga-vetor.

O complexo enfezamento é causado por mollicutes (espiroplasma e fitoplasma), microrganismos procariotos pertencentes a uma classe de bactérias que se distingue pela ausência de parede celular (OLIVEIRA et al., 2004). O espiroplasma é responsável pela doença denominada enfezamento pálido e o fitoplasma pelo enfezamento vermelho.

Os mollicutes afetam o desenvolvimento, a nutrição e a fisiologia das plantas infectadas e por consequência, a produção de grãos. A amplitude desses efeitos e a

intensidade dos sintomas dependem do nível de resistência da cultivar de milho (OLIVEIRA et al., 2004).

No Brasil, os agentes causais dos enfezamentos são transmitidos de uma planta de milho doente para uma sadia, por um único inseto-vetor, denominado de cigarrinha-do-milho [*Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae)] (Figura 1, C) (OLIVEIRA et al., 2004).

Os espiroplasmas e fitoplasmas são adquiridos pelas cigarrinhas durante a alimentação do inseto nas plantas doentes que disseminam o patógeno, principalmente nas glândulas salivares de onde são inoculados, em plantas saudáveis, quando as cigarrinhas iniciam o processo alimentar. O tipo de transmissão desses microrganismos por esse inseto-vetor que nesse caso é a cigarrinha-do-milho é denominado de “persistente e propagativa”. Sendo assim, uma vez que a cigarrinha adquire os molículos, ela se torna transmissora por toda sua vida (NAULT, 1980; NAULT e KNOKE, 1981; MARKHAM e ALIVIZATOS, 1983; ALIVIZATOS e MARKHAM, 1986; TSAI e FALK, 1988; LEGRAND e POWER, 1994).

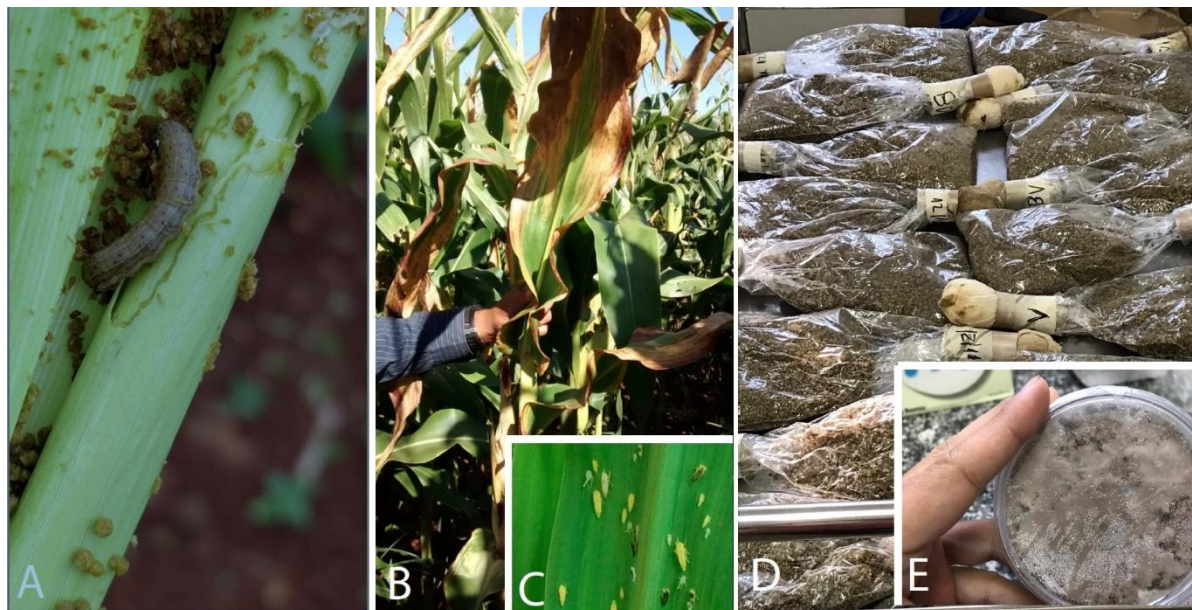


Figura 1. A. Sintomas do ataque de lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) em milho. B. Plantas de milho com sintomas avançados de enfezamento. C. Infestação de cigarrinhas (*Dalbulus maidis*) vetores de fitoplasmas e espiroplasma dos enfezamentos do milho. D. Produção de formulado de *Beauveria* spp em substrato à base de milheto para veiculação do agente de biocontrole em campos experimentais de milho. E. Cultura pura de *Beauveria* spp. **Fonte:** O próprio autor.

O uso de inseticidas nem sempre tem sido eficaz no controle da lagarta do cartucho e no manejo da incidência da cigarrinha-do-milho possivelmente em função da emergência de populações de insetos pragas e vetores resistentes a diversos princípios ativos. Por sua vez, a redução do uso de inseticidas é também uma questão importante do ponto de vista de minimizar o impacto sobre as populações de inimigos naturais de insetos, pragas e vetores e por isso a adoção de componentes de manejo integrado de pragas, que incluam alternativas como o controle biológico, necessita ser incentivado.

Entre os agentes de controle biológico está o fungo Ascomiceto *Beauveria* spp. A *Beauveria* spp., é um fungo que reside naturalmente nos solos brasileiros e infecta insetos, usado como inseticida microbiológico para diversas pragas como broca-do-café, moleque-da-bananeira, gorgulho do eucalipto, bicudo da cana-de-açúcar, percevejos, mosca branca, ácaros, cochonilha, cupins, pulgão, vaquinhas e outros. Em milho existe a tentativa de utilizá-lo no manejo integrado de lagarta do cartucho e da cigarrinha-do-milho (MORAES et al. 2015), além de outros insetos praga.

2. Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo geral determinar, em condições de campo, o potencial do fungo *Beauveria* spp como agente de controle biológico da cigarrinha (*Dalbulus maidis*), diminuindo os sintomas do complexo enfezamento e da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) em milho.

2.1. Objetivos específicos

Verificar a incidência da cigarrinha (*D. maidis*), da lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda*), e dos enfezamentos, nos híbridos comerciais de milho XB6012, 60XB14, XB9003, XB8010, XB8030Bt, AG7098, AG8088, JM2M77 e JM2M88, em primeira e segunda safras, tratados e não tratados com o agente de biocontrole *Beauveria* spp., formulado em nosso laboratório.

3. Revisão de literatura

3.1 A cultura do milho (*Zea mays L.*)

O milho é uma gramínea da família das Poaceae tendo que seus primeiros registros datam de 7300 anos atrás, sendo originário da região da América Central, mas especificamente nas regiões de planície no sudoeste do México, sendo seu ancestral selvagem o *Balsas teosinte* (PATERNIANI et al., 2000; BALDO, 2007).

No Brasil, povos indígenas já conheciam o milho antes mesmo da chegada dos portugueses. Com a chegada dos europeus a cultura passou a ser mais explorada e o consumo aumentou, sendo um alimento consumido até hoje. No entanto, o consumo brasileiro ainda é baixo, sendo cerca de 60 a 80% destinado à alimentação animal, comparado a países da América Central o qual tem como base da alimentação (EMBRAPA, 2015).

Seu cultivo é feito em mais de dois milhões de estabelecimentos agropecuários, em todo o Brasil, totalizando uma área plantada de 21,664 milhões de hectares, considerando a safra de 2021/2022. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, totalizando 115,223 milhões de toneladas na safra 2021/22, com uma produtividade de 5.319 kg/ha, tendo sido maior que a safra passada (CONAB, 2022).

Com relação ao período de cultivo, o Brasil, sendo um país tropical, leva uma grande vantagem quando comparado com as condições do clima temperado (EMBRAPA, 2013), propiciando assim dois momentos de semeadura, sendo a 1ª safra e a 2ª safra.

A semeadura da segunda safra vem crescendo exponencialmente desde o final da década de 80, quando houve a necessidade de milho para a suinocultores e a avicultores, o qual até então dependiam de culturas como trigo e girassol, únicas opções economicamente viáveis para semeadura no período outono/inverno na ocasião, e a perspectiva de colheita e comercialização do produto em época afastada de sua maior oferta (CRUZ et al., 2006).

Sendo uma cultura que se tem o ano todo em campo, devido às duas safras e aos milhos verdes, resultou no aumento do número de pragas e doenças para a cultura, sendo assim, em geral temos as pragas de solo afetando as sementes, raízes e base do colmo, levando a morte e tombamento de plantas e consequentemente a falha nas linhas semeadas, já na parte aérea existe uma variedade maior de insetos e efeitos, havendo danos diretos e indiretos, sendo que os diretos fazem com que partes da planta, que afetam

a fotossíntese e acúmulo de fotoassimilados diminuam, e os efeitos indiretos são as transmissões de patógenos pelos insetos vetores.

Dentro das principais pragas que podem causar sérios danos para a cultura temos a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e a cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*), o qual para a cigarrinha são capazes de disseminar fitopatógenos, sendo os patógenos associados aos enfezamentos.

3.2 Cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*)

A cigarrinha-do-milho, *D. maidis* (DeLong e Wolcott 1950) (Hemiptera: Cicadellidae) é um inseto muito pequeno, com cerca de 3,7 a 4,3 mm de comprimento, de coloração amarelo-palha (Figura 2). Os adultos apresentam duas manchas circulares negras presentes na parte dorsal da cabeça e podem ser facilmente visualizados no cartucho das plantas de milho, sendo capazes de manter altas populações durante todo o ciclo da cultura. São insetos hemimetábolos e apresentam aparelho bucal do tipo sugador labial, alimentando-se preferencialmente do cartucho da planta de milho e colocam os ovos dentro do tecido da nervura central da folha.

A cigarrinha-do-milho vem-se tornando uma praga importante não só pelo dano direto, mas, principalmente, por transmitir três doenças causadas por fitoplasma, espiroplasma e vírus. Segundo Cruz et al. (2002), as perdas na lavoura de milho variam de 9 a 90%, dependendo da susceptibilidade das cultivares utilizadas, do patógeno envolvido e das condições ambientais.

Geralmente, os sintomas das plantas infectadas aparecem depois de 4 a 7 semanas. Os danos diretos causados pela cigarrinha às plantas decorrem da sucção de seiva. A alta concentração de cigarrinha pode levar a murcha e a morte das plantas recém-germinadas, tendo como agravante as excretas das cigarrinhas (honeydew) que favorece, principalmente, a proliferação de fungos do gênero *Capnodium*, que causam a fumagina no limbo foliar (BUSHING; BURTON 1974, NAULT et al. 1983, MARIN 1987), o que interfere na fotossíntese da planta. Geralmente, os danos são mais acentuados em plantios realizados tardiamente e em cultivos de safrinha.

O principal método de controle para as doenças causada por essa praga, tem sido o emprego de cultivares resistentes, o qual tem-se observado diferenças significativas entre os híbridos comerciais disponíveis no mercado quanto a susceptibilidade às doenças transmitidas pela cigarrinha (Cruz et al., 2002). Outra opção são os tratamentos químicos,

o qual segundo Agrofite (2018) salienta que se utilizam defensivos foliares quando se verifica a presença da praga na plantação, quando há falhas na prevenção, ou por fim de efeito residual no tratamento de sementes. Os que possuem registro no país para *D. maidis* são o tiametoxam, lambda-cialotrina, clotianidina, bifentrina e carbosulfano (AGROFIT, 2018).



Figura 2: Cigarrinhas do milho (*Dalbulus maidis*). **Fonte:** O próprio autor

3.3 Enfezamento do milho

Os enfezamentos do milho, o qual faz parte de um complexo onde se tem o enfezamento pálido e o vermelho, está se tornando a principal doença do milho nas últimas safras, com perdas severas em diversas regiões do país (SILVA et al., 2017). As perdas podem chegar a 100%, dependendo da época de infecção e suscetibilidade do cultivar em campo (NAULT, 1990).

As primeiras observações das doenças surgiram no Brasil na década de 70, mas foram tratados com importância secundária, já que seus efeitos e prejuízos não eram muito expressivos (COSTA et al., 1971). Porém, esse fato se alterou com o aumento de áreas onde a permanência da cultura em campo era maior, devido ao aumento de plantações na segunda safra, favorecendo a multiplicação do vetor e consequentemente aumentando a disseminação dos patógenos e as perdas causadas pelo enfezamento (SABATO, 2017). Esse fato despertou a necessidade de se entender melhor essa dinâmica, surgindo novos estudos acerca desta problemática.

A infecção se dá principalmente no início do desenvolvimento da planta, nas fases iniciais, com sintomas que evoluem e se manifestam na fase de produção, (COSTA et al., 1971; SABATO et al., 2015).

Os enfezamentos, os quais são mollicutes, afetam seriamente o sistema fotossintético, diminuindo a síntese, a translocação e competindo por fotoassimilados (OLIVEIRA et al., 2004). Além disso, os enfezamentos causam diversas alterações hormonais, principalmente em estruturas reprodutivas, inviabilizando-as (MICHEREFF, 2001). A soma desses fatores tem por consequência a redução no desenvolvimento e assimilação de nutrientes, tamanho da planta, encurtamento de entrenós e nas espigas, redução de tamanho e grãos mal formados, tornando-as improdutivas (KIMATI et al., 1997).

3.3.1 Os mollicutes

Os mollicutes são bactérias que apresentam uma membrana e não uma parede celular, acarretando o pleomorfismo celular, característico desse grupo. Eles são capazes de colonizar células vegetais, se multiplicando no floema, causando prejuízos fisiológicos e produtivos. Sua transmissão se dá por insetos da ordem Hemiptera-Homoptera, onde também são capazes de se multiplicar (OSHIMA et al., 2013).

São responsáveis por infectar mais de 700 espécies de plantas, algumas delas com importância econômica, como o milho (OSHIMA et al., 2013; WEINTRAUB; BEANLAND, 2006). Nessa cultura existem dois mollicutes a serem destacados: o Maize bushy stunt phytoplasma (MBSP), causador do Enfezamento vermelho, e o *S. kunkelii*, causador do Enfezamento pálido (Figura 3).

A relação de transmissão é do tipo persistente propagativa, ou seja, quando o inseto vetor se alimenta do floema de plantas infectadas ingerindo assim o fitopatógeno, o qual vai se multiplicar em seu organismo e disseminar o patógeno até o fim de sua vida, contaminando outras plantas sadias enquanto o inseto vetor se alimenta destas (FAJARDO; NICKEL, 2019).

Os fatores que interferem na incidência dos enfezamentos são a suscetibilidade do híbrido e a fase fenológica do qual foi infectado, sendo que quanto mais cedo ocorrer a infecção, maiores e piores serão os danos ocasionados às plantas (OLIVEIRA; PAIVA, 2004).

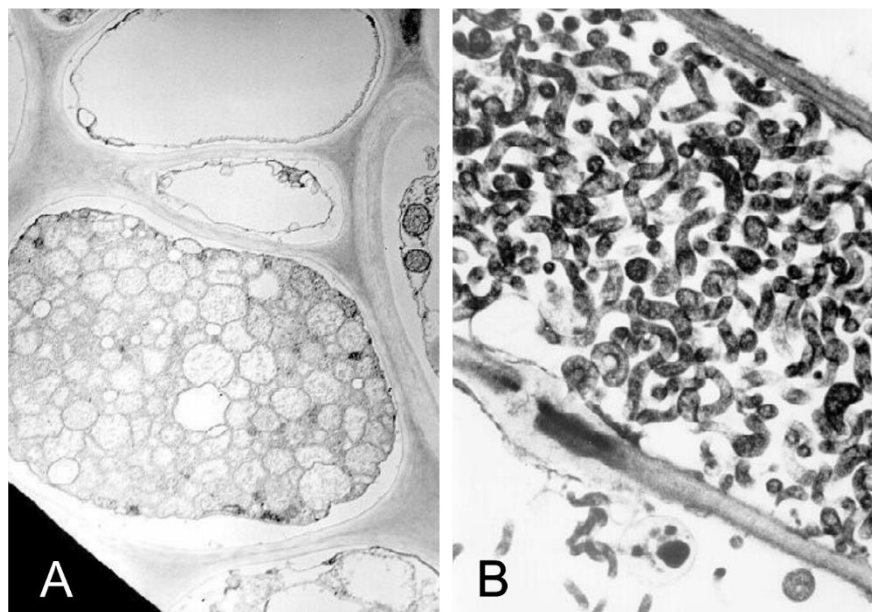


Figura 3: **A.** Maize bushy stunt phytoplasma, causador do Enfezamento vermelho. **B.** *S. kunkelii*, causador do Enfezamento pálido

3.3.2 Enfezamentos vermelho e pálido

O enfezamento vermelho é causado por um fitoplasma, uma bactéria da classe Mollicutes, denominada Maize bushy stunt phytoplasma (MBSP), que infecta o floema das plantas de milho e pode causar perdas de até 100% do milharal (MAPA, 2006). O enfezamento pálido é causado por *S. kunkelii*, da mesma classe do enfezamento vermelho, que pertence ao grupo dos espiroplasmas, podendo causar reduções em graus variáveis na produção de grãos de milho, resultando em até 100% de perdas (Figura 4).

Por serem transmitidos pelo mesmo vetor é comum haver a inoculação nas plantas dos dois patógenos, e assim causando o chamado complexo de enfezamento do milho, e por isso dificultando a identificação do patógeno em questão, no entanto, os sintomas mais expressivos são de enfezamento vermelho (OLIVEIRA; PAIVA, 2004).

Os sintomas do enfezamento vermelho são caracterizados pelo avermelhamento generalizado, proliferação de espigas, redução em altura da planta e dependendo da cultivar, perfilhamento nas axilas foliares ou na base da planta. Os sintomas do enfezamento pálido caracterizam-se pela presença de faixas cloróticas ou esbranquiçadas, que se estendem da base em direção ao ápice das folhas, acentuada redução na altura das plantas e no tamanho das espigas, embora existam relatos de proliferação de espigas e de algum avermelhamento foliar em plantas com enfezamento pálido. Em geral, os sintomas dessas doenças manifestam-se tipicamente na época do enchimento de grãos (NAULT,

1980; MASSOLA Jr et al., 1998). Assim, a diagnose dos enfezamentos causados pelos mollicutes e, particularmente, a distinção entre o enfezamento pálido e o enfezamento vermelho, com base apenas nos sintomas apresentados pelas plantas, pode ser muito difícil, ou mesmo impossível, uma vez que esses sintomas podem ser muito variáveis em função da cultivar, idade em que a planta foi infectada e ambiente (NAULT 1980; TOFFANELLI e BEDENDO, 2001).



Figura 4: **A.** Enfezamento Vermelho (Fitoplasma). **B.** Enfezamento Pálido (Spiroplasma). **Fonte:** O próprio autor

3.4 Lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*)

A lagarta-do-cartucho (SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é a principal praga da cultura do milho no Brasil devido à sua ocorrência generalizada, ou seja, ataca desde da sua emergência até o pendoamento e espigamento e, portanto, mostrando assim o seu potencial de ataque em todas as fases de desenvolvimento da planta, provocando quedas significativas no rendimento de até 34%, (Cruz et al. 2002). Quando o ataque ocorre na fase inicial da cultura, essas perdas são ainda mais significativas devido à morte das plântulas e à diminuição do número de plantas por unidade de área e consequentemente, a produtividade do milho (Campanhola et al., 2003).

A lagarta desenvolvida mede cerca de 40 mm, apresenta coloração variável de pardo-escura, verde até quase preta e com um “Y” invertido na parte frontal da cabeça (Figura 5), (Viana, 2000).

No início do ataque, as lagartas de primeiros instares raspam as folhas, sem perfurar a epiderme da face inferior, deixando a parte da folha meio esbranquiçada. Com o seu desenvolvimento, a lagarta localiza-se no cartucho que será onde irá se alimentar das folhas, causando perfurações, podendo resultar na destruição total do cartucho, além de também seccionar o pendão. Quando a lagarta ocorre na espiga, essa é perfurada na região central ou na base para se alimentar de grãos antes que atinjam a maturação fisiológica, quando encontradas na palhada após a dessecação elas podem seccionar o colmo de plântulas diminuindo assim a população de plantas na lavoura, conseqüentemente sua produtividade, quando ficam localizadas no solo, assemelhando-se à lagarta rosca.

O controle convencional da praga é realizado com o uso de inseticidas, com diferenças na seletividade, ou seja, causando impactos diferenciados sobre os inimigos naturais. Esses inseticidas, devem ser utilizados no início da infestação, quando as lagartas ainda não entraram no cartucho da planta, pois do contrário, o controle se torna mais difícil, uma vez que as lagartas ficam protegidas no interior das plantas (Campanhola et al., 2003). Além dos inseticidas químicos se tem os biológicos, cujo uso tem aumentado nos últimos anos. Esses produtos apresentam como ingredientes ativos, microrganismos entomopatogênicos, como *Beauveria bassiana* e *Bacillus thuringiensis*, por exemplo. A utilização desses produtos em programas de manejo integrado é uma alternativa eficaz e não contaminante (ALVES, 1998).



Figura 5: Lagarta do Cartucho (*Spodoptera frugiperda*). **Fonte:** O próprio autor

3.5 *Beauveria* spp

A *Beauveria* é um gênero anamórfico cosmopolita de artrópodes patogênicos que inclui as espécies agronomicamente importantes, *B. bassiana* e *B. brongniartii*, utilizadas como micoinseticidas para o controle biológico de insetos-praga (Carneiro et al., 2002). Atualmente, esse fungo vem sendo estudado em todo o mundo como um micoinseticida (RIBA; SILVY, 1989), sendo comercializado como pó solúvel de conídios para uso agrícola e doméstico (HASTUTI et al., 1999). Muitos estudos têm mostrado que certos isolados de *B. bassiana* são eficazes no controle de lepidópteros, como *Spodoptera frugiperda*, uma praga-chave tanto na cultura do milho (*Zea mays* L.) quanto em outras culturas anuais (CRUZ, 1995), podendo ser utilizado em pesquisas visando manter a população da praga, em níveis que não causam danos econômicos.

Por ser considerado um fungo filamentosos, apresenta células eucarióticas quitinizadas e crescimento satisfatório em meios de cultura como batata-dextrose-ágar (BDA) e Sabouraud Dextrose-ágar (SDA). As colônias apresentam coloração inicial esbranquiçada, podendo variar até branco-amarelada, no geral de aparência lanosa e superfície levemente almofadada. O diâmetro geral de crescimento a 23°C por 10 dias varia de 15-32 mm, espessura média de 5 mm e reverso variando de incolor a branco amarelado (REHNER et al., 2011). Microscopicamente, apresenta hifas septadas, hialinas e de parede lisa, com tamanho variando de 1-2 μ m. Os conídios encontram-se aglomerados (cinco ou mais por grupo), com formato ovoide e base variando de subesférica a ampuliforme, com tamanho médio de 3 a 6 μ m (REHNER et al., 2011).

O mecanismo de infecção de *B. bassiana* é o mesmo para todos os insetos. O fungo penetra na cutícula dos insetos, utilizando uma combinação de pressão e degradação enzimática, sendo elas a protease e a quitinase (FERRON 1978). Após atravessar o tegumento, o patógeno atinge os tecidos internos e as hifas proliferam até a morte do inseto, que ocorre entre 3 a 7 dias após a infecção, que vai depender da espécie do inseto em questão, além de interferências ambientais. A morte dos insetos é devido à digestão dos tecidos internos e à produção de micotoxina, lançada na hemolinfa (HAJEK e St. LEGER, 1994). Diferenças quanto à virulência estão associadas à eficiência na infecção e às diferenças estruturais da cutícula (HAJEK e St. LEGER, 1994). Vários trabalhos descrevem diferenças quanto à patogenicidade entre isolados de *B. bassiana* (HASTUTI et al., 1999). Entretanto, poucos estudos foram realizados nos trópicos onde, provavelmente, existe uma maior variabilidade genética entre os isolados. Portanto, há

necessidade de se avaliar o potencial dos inóculos encontrados no Brasil, para o controle de pragas na agricultura, tais como a *S. frugiperda* e vetores como *Dalbulus maydis*.

3.6 Controle biológico

O manejo integrado de pragas (MIP) tem como base o uso de várias estratégias de controle, tais como: plantas resistentes, inseticidas seletivos aos inimigos naturais, medidas culturais, uso de parasitoides, predadores e patógenos. O controle biológico com entomopatógenos pode ser definido como o uso de fungos, vírus, bactérias, nematoides e protozoários no controle de pragas. Vários fungos são usados em programas de controle biológico como *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Noumuraea rileyi*.

Desta forma, controle biológico é a regulação do número de plantas e animais por inimigos naturais, ou seja, o restabelecimento do balanço da natureza. (VAN DEN BOSCH et al., 1982). Para Garcia et al. (1988) “é a regulação de populações de organismos vivos resultantes da interação antagonistas como parasitismo, predação e competição”.

Atualmente, devido aos efeitos colaterais decorrentes do uso incorreto de inseticidas químicos em produtos vegetais, esforços se concentram na busca de métodos alternativos de controle às pragas, no sentido de preservar o meio ambiente, os produtores e, finalmente, os próprios consumidores, destacando-se entre estes, com um número crescente, os trabalhos de controle biológico com a utilização de fungos entomopatogênicos.

O controle de *S. frugiperda* no milho é realizado com a utilização de produtos químicos, aplicados com o aparecimento dos primeiros ataques ocasionados na cultura. Entretanto, o uso constante desses produtos, tem gerado problemas, como o desenvolvimento de resistência e a redução da ocorrência de inimigos naturais. Assim, o desenvolvimento de medidas de controle mais ecológicas pode contornar tais problemas.

Nesse contexto, o controle biológico é uma alternativa viável para controlar pragas e patógenos, além de ser vantajoso em relação ao controle químico quando nos referimos ao impacto ambiental, ao custo, à especificidade e ao desenvolvimento de resistência ao produto químico (FARIA, MAGALHÃES, 2001).

4. Material e métodos

4.1 Procedimentos de campo

O trabalho foi desenvolvido em duas épocas, sendo a primeira safra no ano agrícola 2020/21 e na segunda safra de 2021, em um Latossolo Vermelho distrófico, típico argiloso, (Santos et al, 2011), na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP - Campus de Ilha Solteira, localizada no município de Selvíria (MS). A localização geográfica aproximada da área experimental é de 20°22' S, 51°23' W e 363 m de altitude (Figura 6). O clima do local é do tipo Aw, pela classificação de Köppen (2004), com temperatura média anual de 24,5°C, umidade relativa do ar entre 70% e 80% e precipitação média anual de 1435 mm (EMBRAPA, 2015).



Figura 6: Localização da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP – Campus de Ilha Solteira, no município de Selvíria, no Cerrado do Mato Grosso do Sul, na divisa entre os estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo (Brasil). **Fonte:** Adaptado de Google Earth (2020).

Foram avaliados os híbridos comerciais XB6012, 60XB14, XB9003, XB8010, XB8030Bt, AG7098, AG8088, JM2M77 e JM2M88 e o híbrido experimental 8F X 9D (apenas na segunda safra) (Tabela 1).

Tabela 1 – Características dos híbridos utilizados no experimento.

Híbridos	Tipo de híbrido	Ciclo	Tipo de Transgênico	Tipo de grão
XB6012	Híbrido simples	Precoce	Convencional	Semi-duro
60XB14	Híbrido simples	Precoce	Convencional	Duro
XB9003	Híbrido simples	Super precoce	Convencional	Duro
XB8010	Híbrido duplo	Super precoce	Convencional	Duro
XB8030Bt	Híbrido duplo	Precoce	YieldGard	Semi-duro
AG7098	Híbrido simples	Semi precoce	VTPRO2	Semi-dentado
AG8088	Híbrido simples	Precoce	VTPRO2	Duro
JM2M77	Híbrido simples	Precoce	Convencional	Semi-duro
JM2M88	Híbrido simples	Precoce	Convencional	Duro
8F X 9D	Híbrido simples	Precoce	Convencional	Semi-dentado

Foram instalados dois experimentos, com os mesmos tratamentos em cada época, no delineamento de blocos ao acaso com quatro repetições, com parcelas de seis linhas de 5,2m, espaçadas de 0,45m e com um espaçamento entre as covas de 40 cm (população de aproximadamente 55.555 plantas por ha⁻¹).

O controle de ervas, em todos os experimentos, foi realizado com dessecação antes da semeadura, com Glifosato na dose de 2,5 kg/ha e 2,4 D na dose de 550 ml/ha e aplicação de Tembotrione (100 g/ha) mais atrazina (2 L/ha) em pós emergência da cultura e do mato.

A adubação de semeadura foi com 250 kg ha⁻¹ da fórmula 8-28-16 e de cobertura com 230 kg/ha de ureia incorporada quando as plantas estavam no estágio de seis folhas desenvolvidas.

Em um dos experimentos, em cada época, foi aplicado o fungo *Beauveria* spp, no cartucho das plantas, no estágio de três folhas desenvolvidas.

Em relação aos produtos utilizados na primeira safra, no experimento que teve aplicação de *Beauveria* não houve nenhuma aplicação de inseticidas. Na segunda safra, em ambos os experimentos, foram feitas duas aplicações, sendo que na primeira aplicação os produtos utilizados foram os inseticidas Triflumuron 480 g/L na dose de 100 ml/ha e Metomil 215 g/L na dose de 900 ml/ha. Na segunda aplicação foi feita outra aplicação de Metomil 215 g/L agora na dose de 1 l/ha e do Triflumuron 480 g/L na mesma dose da primeira aplicação.

4.2 Procedimentos em laboratório

O fungo foi reativado e repicado em placas de petri em meio BDA (Figura 7), no laboratório de Fitopatologia Molecular da Unesp de Ilha Solteira, com uma concentração em média de $2,41 \times 10^7$ conídios/ml, o qual foi contado através de microscópio óptico com a utilização da Câmara de Neubauer e a conta foi feito através da fórmula, medias dos setores $\times 1,6 \times 10^5$.



Figura 7: *Beauveria* spp. em meio de cultivo BDA **Fonte:** O próprio autor

Após ter crescido nas placas, foi colocado para se multiplicar em milho, o qual foi colocado em sacos próprios para autoclave, sendo 200 g de milho para 200 ml de água deionizada na proporção 1:1 (formulado do inóculo do agente de biocontrole, Figura 1, D). A aplicação no campo foi feita distribuindo 8 g do inóculo em cada linha de 5,2 m ($34,2 \text{ kg/ha}$) procurando atingir os cartuchos das plantas, sendo a aplicação de forma manual. Na segunda época os experimentos foram instalados no mesmo local da primeira, procurando aproveitar a possível permanência do fungo na área experimental, quando da primeira aplicação.

4.3 Caracteres avaliados

Foram avaliados os seguintes caracteres: a) Número de cigarrinhas vivas (NCV) por cartucho (cinco cartuchos da área útil das parcelas), embora na primeira safra por motivo de forte ataque de lagartas, foi contado as cigarrinhas das duas linhas centrais, no estágio de seis folhas desenvolvidas; b) Número de lagartas vivas (NLV) por cartucho nos estádios de seis folhas desenvolvidas (cinco cartuchos colhidos nas linhas laterais das parcelas), os quais foram cortados e levados para o laboratório para ser feito a contagem;

c) Nota para danos de lagarta do cartucho (NL) no estágio de oito folhas, de acordo com escala de Davis (DAVIS; NG; WILLIAMS, 1992) invertida, sendo uma escala de 1 a 9 em que a nota 1 se deu para a planta mais atacada e 9 para a planta sem ataque (Figura 8); d) contagem de plantas com sintomas de enfezamento, avaliadas em todas as plantas da área útil da parcela (quatro linhas centrais) e transformado para porcentagem de plantas com enfezamento (ENF%), no estágio de grãos leitosos; e) Porcentagem de espigas gessadas (EG%) após colheita (espigas com grãos mal granados); e f) Rendimento de grãos (RG) corrigidos para 13% de umidade. Esses dois últimos caracteres não foram possíveis de serem avaliados na segunda safra devido a roubo de espigas e ataque de pássaros.

O programa que foi utilizado para se fazer as análises foi o Sisvar, o qual foi feito as análises de variâncias individual, conjunta, médias e coeficiente de variância (CV), o qual foi feito através do teste F e do teste de Tukey para comparação de médias dos híbridos e dos híbridos dentro de experimentos, caso a interação seja significativa.

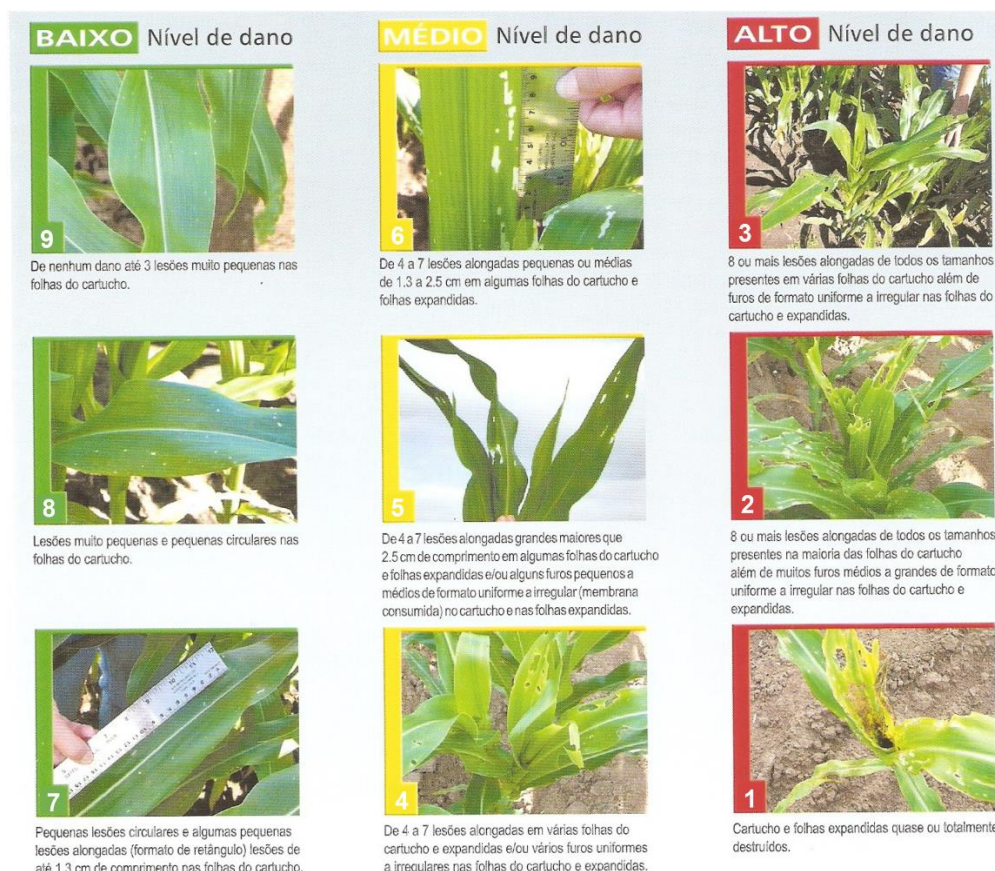


Figura 8: Escala de Davis invertida para notas de ataque de *Spodoptera frugiperda*.

5. Resultados e Discussão

Garcia (1989), afirma que o coeficiente de variação (CV) admite a comparação entre variáveis de naturezas diferentes, no que diz respeito a precisão dos dados, sendo que quanto menor o CV mais homogêneos são os dados adquiridos sobre as mesmas condições e menor é a variação do acaso. Portanto, para se ter uma escala de valores de CV, Pimentel Gomes (1985), estudando os coeficientes de variação obtidos nos ensaios agrícolas, classifica-os da seguinte forma: Baixos - CV inferiores a 10%; Médios - entre 10 e 20%; Altos- entre 20 e 30%; e Muito Altos - valores acima de 30%, podendo diferenciar um pouco esses valores de experimento para experimento, dependendo dos caracteres avaliados.

Ao analisarmos o experimento da safra 20/21 (Tabela 2), percebemos que quase todos os caracteres estão na classificação de CVs muito altos. Porém, por serem quase todos caracteres de contagem, já se esperava CVs mais altos, sendo que o caractere NL apresentou um CV de 22,30 %, classificado como alto e o único caractere que apresentou um CV médio foi RG. Para a segunda safra (Tabela 3), a qual não teve as avaliações de rendimento, percebemos que entre os caracteres avaliados o NLV e a ENF%, apresentaram CVs muito altos, enquanto para NCV ocorreu um CV alto. Para esta safra apenas NL apresentou um CV bom, classificado como médio.

Para a safra 20/21 foi verificado que tanto para NLV como para o NCV não houve significância do teste F para os híbridos (Tabela 2). Para NL, ENF%, EG% e RG, houve significância a 1%, destacando que para EG% só houve diferença estatística devido à capacidade de cada híbrido perante esse caractere. Isso já era esperado, pois entende-se que o tratamento com *Beauveria* spp. dificilmente interfere neste fator, uma vez que o seu possível efeito é no vetor e não no patógeno. Na segunda safra, as análises para os híbridos (Tabela 3) não apresentaram significância para nem um dos caracteres avaliados.

Ao se fazer a análise da interação híbridos x experimentos, percebe-se ausência de significância para os caracteres avaliados, pois o efeito de experimento foi igual em todos os híbridos, para todos os caracteres, sendo assim desnecessário o desdobramento dos experimentos.

Tabela 2 – Quadrados médios da análise de variância conjunta, médias e coeficientes de variação (CV%) para os caracteres número de cigarrinhas vivas (NCV), número de lagartas vivas (NLV), nota para lagarta do cartucho (NL), porcentagem de plantas com enfezamento (ENF%), porcentagem de espigas gessadas (EG%) e rendimento de grãos (RG), para a primeira safra 2020/21.

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios					
		NCV	NLV	NL	ENF (%)	EG (%)	RG (kg/ha)
Blocos/E	6	6,38**	21,01*	0,36	67,30*	29,62	1175735,07
Experimentos (E)	1	21,13**	1065,68**	24,50**	6,28	49,72	18364284,68**
Híbridos (H)	8	2,63	14,46	4,81**	329,89**	127,33**	20528747,50**
H x E	8	2,16	13,33	0,63	6,16	30,11	679029,98
Erro Médio	48	1,73	8,22	0,32	26,15	26,66	849696,84
Médias		1,99	6,37	2,56	11,30	5,49	8625,96
CV (%)		66,31	44,99	22,30	45,25	94,11	10,65

*, ** - Significativos em nível de 5 e 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 3 – Quadrados médios da análise de variância conjunta, médias e coeficientes de variação (CV%) para os caracteres número de cigarrinhas vivas (NCV), número de lagartas vivas (NLV), nota para lagarta do cartucho (NL) e, porcentagem de plantas com enfezamento (ENF%), para a segunda safra 2021.

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios			
		NCV	NLV	NL	ENF (%)
Blocos/E	6	13,6625	0,7458	1,7625*	301,4307
Experimentos(E)	1	27,6125	35,1125**	46,5125**	1149,1280
Híbridos (H)	9	45,8125	2,8458	1,3681	149,3290
H x E	9	42,1125	1,8902	0,9014	406,8387
Erro Médio	54	23,8477	1,8940	0,7532	326,5702
Médias		17,0625	1,6375	6,8125	31,5983
CV (%)		28,62	84,04	12,74	59,19

*, ** - Significativos em nível de 5 e 1% pelo teste F.

Para as médias dos híbridos avaliados pelo teste Tukey para a safra 2020/21 (Tabela 4), para os caracteres NCV e NLV, não houve significância, o qual segundo Alves. (1998), afirma que quando se utilizam fungos entomopatogênicos como *B. bassiana* não se observa eficiência dos agentes antes de no mínimo 12 a 15 dias após a aplicação desses microrganismos, o qual nossa avaliação foi em menos de 12 dias, mesmo com a participação de híbridos transgênicos resistentes à lagarta do cartucho no grupo. Isso pode ter ocorrido pelo fato de a avaliação ter sido feita apenas uma e mais no início do ciclo das plantas, podendo ser que a transgenia não teve tempo para agir na *S. frugiperda* a ponto de diminuir sua população naquele estágio da planta. O híbrido AG 7098 é considerado o um dos mais resistente aos enfezamentos e não diferiu para NCV. Isso tem sentido pelo fato de a resistência ser ao patógeno e não ao vetor. Porém, para a segunda safra (Tabela 5), para NCV, houve diferença estatística, sendo esse o único caractere que diferiu estatisticamente nessa safra, com a avaliação no mesmo estágio fenológico que o da primeira safra. Destaca-se que o híbrido AG8088 que apresentou o melhor desempenho, sendo o menos preferido pelas cigarrinhas, enquanto o híbrido JM2M77 foi o mais preferido. Essa diferença entre as duas safras pode ter sido ocasionada pela maior pressão de infestação, comum na segunda safra nesta região, o que já era esperado para a segunda safra, embora outra possibilidade para essas diferenças de significância entre as safras seja que na safra 20/21 não foi aplicado inseticida no experimento com *Beauveria* spp. Na segunda safra foi aplicado em ambos os experimentos, podendo assim ter diferenciados as análises entre as safras.

Na análise do caractere NL para a primeira safra os híbridos transgênicos VTPRO2 (AG8088 e AG7098) foram menos atacados. Sendo assim os únicos que diferiram estatisticamente dos demais, porém as notas foram baixas na escala de Davis invertida, indicando que a pressão de infestação foi muito forte nessa época. Nessa situação até o híbrido transgênico (XB8030), com apenas o evento Yieldgard (primeiro evento transgênico para lagartas), comportou-se como os convencionais, indicando assim uma quebra de resistência pela seleção de lagartas resistentes à proteína. Na segunda safra não houve diferenças estatísticas entre os híbridos, provavelmente devido à ação dos inseticidas aplicados.

Tabela 4 – Médias de híbridos e experimentos (com e sem *Beauveria* spp.) para os caracteres número de cigarrinhas vivas (NCV), número de lagartas vivas (NLV), nota para lagarta do cartucho (NL), porcentagem de plantas com enfezamento (ENF %), porcentagem de espigas gessadas (EG%) e rendimento de grãos (RG), para a primeira safra 2020/21.

Híbridos/ Experimentos ¹	NCV	NLV	NL	ENF (%)	EG (%)	RG (kg/ha)
AG7098	2,8750	5,3750	3,8750 a	2,5663 d	0,9913 b	10830 a
AG8088	2,0000	5,0000	3,7500 a	5,1025 cd	4,1875 ab	10630 a
XB6012	2,0000	7,1250	2,7500 b	6,4000 bcd	2,4150 b	10050 ab
60XB14	2,5000	5,2500	2,0000 b	8,0988 bcd	3,7375 ab	8673 bc
JM2M77	1,6667	6,0000	2,5556 b	13,7322 ab	11,3411 a	8512 c
JM2M88	2,1428	6,4286	1,8571 b	11,4986 bc	11,9414 a	7948 c
XB8030Bt	2,2500	8,2500	2,2500 b	12,9450 abc	3,9288 ab	7930 c
XB8010	1,6250	8,6250	1,8750 b	19,8900 a	8,2375 ab	7188 cd
XB9003	0,8750	5,3750	2,0000 b	21,1875 a	2,6713 b	6045 d
Com <i>Beauveria</i>	2,5278a	10,222a	1,9722a	11,5953	6,3172	8148 a
Sem <i>Beauveria</i>	1,4444b	2,5278b	3,1389 b	11,0047	4,6553	9158 b

¹ – Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Para a ENF% nota-se que os híbridos JM2M77, XB8030Bt, XB9003 e XB8010, foram os piores e os híbridos JM2M77 e JM2M88 foram os piores para EG%. Enquanto isso, o híbrido AG7098, considerado um dos híbridos comerciais mais tolerantes ao enfezamento, confirmou essa informação, apresentando menor porcentagem de enfezamento e de espigas gessadas. Como colocado antes, a resistência é ao patógeno e não ao vetor, pois está no grupo que apresentou uma maior média para NCV. Os híbridos XB9003 e XB6012, embora tenham apresentado mais sintomas para ENF%, apresentaram bom desempenho para EG%. Isso pode ser explicado por uma infecção mais tardia pelos mollicutes ou uma menor obstrução dos vasos pelo patógeno, ou seja, uma relativa tolerância.

Analisando o caractere RG, percebemos que, embora o ataque de *Spodoptera frugiperda* tenha sido muito severo, a maioria dos híbridos produziram bem, tendo como destaque AG7098 e AG8088, possivelmente por serem transgênicos, com ligeira superioridade para tolerância às lagartas e possivelmente devido ao potencial produtivo superior. O híbrido que teve destaque foi o XB6012, mesmo não sendo transgênico, equiparou-se aos dois anteriores, indicando que mesmo o intenso ataque de lagartas (nota 2,75), não foi suficiente para diminuir o RG. Outro destaque, mais agora negativo, foi para o XB8030 que mesmo sendo transgênico, porém com evento mais antigo (Yieldgard), se mostrou com o pior RG.

Tabela 5 – Médias de híbridos e experimentos (com e sem *Beauveria* spp.) para os caracteres número de cigarrinhas vivas (NCV), número de lagartas vivas (NLV), nota para lagarta do cartucho (NL), porcentagem de plantas com enfezamento (ENF %), para a segunda safra 2021.

Híbridos/ Experimentos ¹	NCV	NLV	NL	ENF (%)
AG7098	18,250 ab	0,375	7,625	34,095
AG8088	13,750 a	1,500	6,500	33,803
XB6012	14,500 ab	1,375	6,625	33,566
60XB14	17,875 ab	2,375	7,250	24,918
JM2M77	21,875 b	1,750	6,375	32,405
JM2M88	16,625 ab	1,875	6,500	23,549
XB8030Bt	16,375 ab	1,250	6,750	37,525
XB8010	19,000 ab	1,750	7,250	33,610
XB9003	15,000 ab	1,625	6,625	29,925
8F x 9D	17,375 ab	2,500	6,625	32,588
Com <i>Beauveria</i>	17,650	2,300a	6,050b	27,808
Sem <i>Beauveria</i>	14,475	0,975b	7,575a	35,388

¹- Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey.

Analisando a utilização ou não do fungo, os caracteres NLV e NL foram significativos para as duas safras, enquanto o NCV apresentou significância apenas na safra 20/21. O RG apresentou significância também só nesta safra, porém não foi feita essa avaliação para a segunda safra. A ENF% não apresentou diferenças significativas entre os experimentos com e sem *Beauveria* para nenhuma das safras (Tabelas 4 e 5). Para os experimentos, tendo como tratamentos o uso e o não uso da *Beauveria* spp., quando comparados percebemos que para as duas safras todos os caracteres que apresentaram diferenças significativas, com um desempenho inferior do experimento que teve a aplicação da *Beauveria* spp. (Tabela 4 e 5), contrariando a hipótese inicial de que o fungo diminuiria o ataque de lagartas e a incidência de cigarrinhas. Na primeira safra, no experimento sem o fungo teve a aplicação de inseticida, enquanto o que teve aplicação do fungo não, podendo ser que nesse caso o inseticida auxiliou no menor ataque das pragas. Para o caso da segunda safra em ambos os experimentos teve a aplicação de inseticidas, porém o resultado continuou sendo o mesmo, exceto para NCV que não apresentou diferença significativa. Segundo Toledo et al. (2011) isso pode ter ocorrido devido a penetração fúngica por *Beauveria* spp., no hospedeiro *D. maidis* ser dificultada ao nível cuticular por diversas barreiras químicas, como compostos secundários (fenóis, quinonas e lipídios) bem como pela presença de bactérias antagônicas. Para lagarta do cartucho na primeira safra isso pode ter acontecido pelo efeito dos inseticidas que amenizaram um pouco o forte ataque ocorrido nesta época, com nota média de 1,97 para o experimento apenas com *Beauveria* e 3,14 para o experimento apenas com inseticidas (Tabela 4). Na segunda safra, o ataque de lagartas não foi tão intenso e as notas foram 6,05 e 7,57, respectivamente para o experimento com e sem *Beauveria* (Tabela 5), porém segundo Faria et al., (1992), sob condições de laboratório foram utilizados outros isolados em várias concentrações tendo sido controlado em todas e ainda possuir uma das concentrações menor do que o do presente trabalho, sendo assim segundo este trabalho mostra que é possível controlar a lagarta com este fungo.

Em ambas as safras o ENF% não apresentou diferenças significativas entre os experimentos, embora na primeira safra o NCV tenha sido diferente. Essa diferença para NCV não foi o suficiente para alterar o ENF%. No entanto, as médias de ENF% foram bem maiores na segunda safra (27,81 e 35,39 %) do que na primeira (11,59 e 11,00%) (Tabelas 4 e 5), confirmando observações de campo que indicam uma pressão mais forte da doença na segunda safra. Com pressão maior, a infecção pode ter ocorrido em plantas mais novas, aumentando os sintomas, como colocado por Costa et al. (1971) e Sabato et

al. (2015). Portanto, percebe-se que as diferenças entre os experimentos com e sem *Beauveria* spp., foram devidas à aplicação de inseticidas e não ao fungo. Além de considerarmos que essa situação pode ter ocorrido pelo fato de que o isolado não ser eficiente. Segundo Martins et al. (2009), estudos recentes mostram que esses produtos microbiológicos a base de *Beauveria bassiana* são eficazes no controle de lagartas em algumas culturas, como o algodoeiro, entretanto, podemos levantar as hipóteses de que a forma de aplicação não tenha sido eficiente. Salientamos que o uso de inseticidas microbiológicos ainda permanece significativamente atrás dos inseticidas químicos, contudo, muitos aspectos relacionados à segurança e ao meio ambiente favorecem o contínuo uso e aumento da utilização desses agentes para o controle de pragas, além disso, esses inseticidas apresentam custos reduzidos para o desenvolvimento e registro quando comparados com os inseticidas químicos convencionais (GALLO et al., 2002).

A nova hipótese precisa ser estudada em outro projeto, sendo recomendado avaliar primeiro a utilização desse mesmo isolado em laboratório para verificar se realmente controla essas pragas para que depois caso der resultado positivo, passar a aplicação em campo pensando em outros métodos, tais como com a aplicação em pulverização de suspensão dos esporos do fungo e em combinação com o uso de inseticidas, como recomendado pelo controle integrado de pragas e se mesmo assim não controlar de fato o isolado não será eficiente para controle dessas pragas. Como é difícil esperar 100% de controle do vetor por um fungo entomopatogênico, a infecção ocorrendo, mesmo por poucos vetores, irá causar danos normalmente.

6. Conclusão

O fungo entomopatogênico *Beauveria* spp., isolado do laboratório de Fitopatologia Molecular da UNESP de Ilha Solteira, não foi eficaz para o controle da *Spodoptera frugiperda* e *Dalbulus maidis* em condições de campo.

Referências

- AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários** 2018. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br>. Acesso em: 01/07/2018
- ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ. 1998. 1163p.
- ALIVIZATOS, A. S.; MARKHAM, P. G. Multiplication of corn stunt spiroplasma in *Dalbulus maidis* and transpiration in vitro, following injection. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 108, n. 3, 1986. p. 535-544.
- BALDO, M. N. **Comportamento anatômico, fisiológico e agrônomo do milho (*Zea mays* L.) submetido a estresses de ambiente em diferentes estádios fenológicos**. ESALQ. Piracicaba, 2007.
- BUSHING, R. W.; BURTON, V. E. Leafhopper damage to silage corn in California. **Journal of Economic Entomology**, v.67, 1974. p.656- 658.
- CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Controle biológico de pragas e outras técnicas alternativas**. 2003.
- CARNEIRO, A. A. et al. Caracterização da diversidade genética de isolados de *Beauveria bassiana* por RAPD. In: **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 24., 2002, Florianópolis, SC. Meio ambiente e a nova agenda para o agronegócio de milho e sorgo: [resumos expandidos]. Sete Lagoas: ABMS: Embrapa Milho e Sorgo; Florianópolis: Epagri, 2002., 2002.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO 2021. **Perspectivas para a Agropecuária - Volume 9 – Safra 2021/2022 - Edição Grãos**. Disponível em <<https://www.conab.gov.br/perspectivas-para-a-agropecuaria>>. Acesso em: 25 junho. 2022.
- COSTA, A.S; KITAJIMA, E.W.; ARRUDA, S.C. Moléstia de Vírus e de micoplasma do milho em São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, v.4, n.4, 1971. p.39-41.
- CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; GONTIJO NETO, M. M.; VIANA, J. H. M. **Manejo da cultura do Milho**. MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. CIRCULAR TÉCNICA 87. Sete Lagoas, MG. Dez., 2006
- CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. **Cultivo do milho: pragas da fase vegetativa e reprodutiva**. Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2002.

CRUZ, I. Manejo Integrado de Pragas de milho com ênfase para o controle biológico. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS, 4., 1995, Campinas, SP. **Anais**. Campinas: Instituto Biológico, 1995. p. 48-92.

DAVIS, F. M.; NG, S. S.; WILLIAMS, W. P. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm. Mississippi: **Agricultural and Forest Experiment Station**, 1992. 9p. (Technical Bulletin, 186).

DELONG, D. M. The genera *Balbulus* and *Dalbulus* in North America including Mexico (Homoptera: Cicadellidae). **Bull. Brooklyn Entomol. Soc**, v. 45, n. 4, 1950. p. 105-116.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Embrapa, Brasília, 2013, 83p.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo do Milho**, Embrapa, Brasília, 2015.

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE (Dourados - MS). **O Clima na Região do Bolsão de Mato Grosso do Sul**. 1. ed. Dourados - MS: [s. n.], 2015. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007480/1/DOC2014127.pdf>. Acesso em: 1 dez. 2020.

FAJARDO, T. V. M.; NICKEL, O. **Transmissão de vírus e controle de viroses em plantas**. EMBRAPA UVA E VINHO. Bento Gonçalves, RS, 2019.

FARIA, L. L. F.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R. **Patogenicidade do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE) sob condições de laboratório**. Cadernos Ômega. Série Agronomia, Recife, n. 4, 1992. p. 207-217.

FARIA, M. R. de; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 22, 2001. p. 18-21.

FERRON, P. **Biological control of insect pests by entomogenous fungi**. Annu. Rev. Entomol, v. 23, 1978. p 409-442.

GARCIA, C. H. **Tabelas para classificação do coeficiente de variação**. IPEF, 1989. 11 p., 1989.

GARCIA, R.; CALTAGIRONE, L. E.; GUTIERREZ, A. P. **Comments on a redefinition of biological control**. **BioScience**, v. 38, p. 692-694, 1988.

GOOGLE EARTH: website. <http://earth.google.com>, 2020.

GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R.P.L., BAPTISTA, G.C., BERTI FILHO, E., PARRA, J.R.P., ZUCHHI, R.A., ALVES, S.B., VENDRAMIM, J.D., MARCHINI, L.C., LOPES, J.R.S., OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

HAJEK, A. E.; ST. LEGER, R. J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual review of entomology**, v. 39, n. 1, 1994. p. 293-322.

HASTUTI, BS; GLARE, TR; CHAPMAN, RB Efeitos da temperatura e umidade na suscetibilidade de *Paropsis charybdis* a *Beauveria bassiana*. In: **Proceedings of the New Zealand Plant Protection Conference**, 1999. p. 103-107.

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

KÖPPEN, W. **Classificação de Köppen: significado dos símbolos e critérios para classificações**. In: VIANELLO, R. L.; ALVES, A. R. Meteorologia básica e aplicações. Viçosa: Editora da UFV, 2004. 449 p.

LEGRAND, A. I.; POWER, A. G. Inoculation and acquisition of maize bushy stunt mycoplasma by its leafhopper vector *Dalbulus maidis*. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 125, n. 1, 1994. p. 115-121.

MASSOLA JÚNIOR, N. S. et al. **Quantificação de danos causados pelo enfezamento vermelho e enfezamento pálido do milho em condições de campo**. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 24, n. 2, 1999. p. 136-142.

MARIN, R. Biología y comportamiento de *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae). **Rev. Per. Entomol.** v. 30, 1987. p. 113- 117.

MARTINS, G. M. et al. **Inseticidas químicos e microbianos no controle da lagarta-do-cartucho na fase inicial da cultura do milho**. Revista Caatinga, v. 22, n. 2, 2009. p. 170-174.

MARKHAM, P. G.; ALIVIZATOS, A. S. **A transmissão do espiroplasma do stunt do milho por vetores naturais e experimentais**. In International Maize Virus Disease Colloquium and Workshop, Wooster, Ohio (EUA), 1982. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento Agrícola de Ohio, 1983. p. 56-61.

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

MORAES, R. F. O.; TOSCANO, L. C.; PEREIRA, M. F. A.; PIETROBOM, V. L.; BARBOZA, C. A. M. S.; MARUYAMA, I. ***Beauveria bassiana* em associação com milho geneticamente modificado no manejo de *Spodoptera frugiperda* e *Rhopalosiphum maidis***. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.82, 1-7, 2015

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

NAULT, L.R.; DELONG, D.M.; TRIPLEHORN, B.W.; STYLER, W. E. **More on the association of Dalbulus (Homoptera-Cicadellidae) with Mexican Tripsacum (Poaceae), including the description of two new species of leafhoppers**. Annals of the Entomological Society of America, v.76, 1983. p. 05-309.

NAULT, L.R; KNOKE, J. K. Maize vectors. In: GORDON; D. T.; KNOKE; J. K.; SCOTT, G. E. Virus and virus like disease of maize in the United States. **Wooster**: Ohio State University, 1981. p. 77-84.

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

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

OLIVEIRA, E.; MAGALHÃES, P. C.; GOMIDE, R. L.; VASCONCELOS, C. A.; SOUZA, I. R. P.; SHAFERT, R. Growth and nutrition of mollicute infected maize. **Plant Disease**. St. Paul, v. 86, n. 9, 2004. p. 945-949.

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

PATERNIANI, E.; NASS, L. L.; SANTOS, M. X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil. In: Uma história brasileira do milho - o valor dos recursos genéticos. Brasília, 2000.

PIMENTEL-GOMES, Curso de Estatística Experimental. **Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais - IPEF**, Piracicaba-SP. ESALQ/USP, n. 171, 1985. p. 1-10.

REHNER, S. A. et al. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. **Mycologia**, v. 103, n. 5, 2011. p. 1055-1073.

RIBA, G.; SILVY, C. **Combattre les ravageurs des cultures. Enjeux et perspectives**. Paris: INRA, 1989

SANTOS, H. G.; CARVALHO JUNIOR, W.; DART, R. O.; AGLIO, M. L. D.; SOUSA, J. S.; PARES, J. G.; FONTANA, A.; MARTINS, A. L. S.; OLIVEIRA, A. P. **O novo mapa de solos do Brasil: legenda atualizada**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 67 p.

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

SABATO, E. O. Enfezamentos e viroses no milho. In: **SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA**, Cuiabá. Construindo sistemas de produção sustentáveis e rentáveis: livro de palestras. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, cap. 7, 2017. p. 196-219.

SILVA, D. D.; AGUIAR, F. M.; COTA, L. V.; COSTA, R. V.; MENDES, S. M. Molicutes em milho: a diversificação de sistemas de produção pode ser a solução? **Novos sistemas de produção**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2017. cap. 4, p. 32-52.

TOFFANELLI, CLÁUDIA M.; BEDENDO, IVAN P. Effect of infective population of *Dalbulus maidis* on kernel yield and symptoms development associated with the maize bushy stunt phytoplasma. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, 2002. p. 82-86.

TSAI, J. H.; FALK, B. W. Tropical maize pathogens and their associated insect vectors. In: HARRIS, K. F. *Advances in disease vector research*. New York: **Springer**, 1988. p. 177-201.

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. 29, 2011.

VAN DEN BOSCH, R; MESSENGER, P. S.; GUTIERREZ, A. P. **An introduction to biological control**. New York: Plenum Press, 1982. 247p.

VIANA, P. A. Manejo de pragas na cultura do milho. In: **CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO**, 23., 2000, Uberlândia, MG. A inovação tecnológica e a competitividade no contexto dos mercados globalizados: resumos expandidos. Sete Lagoas: ABMS: Embrapa Milho e Sorgo; Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2000.

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