UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

FCA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

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 molicutes / Rodrigo Donizeti Faria. -- Botucatu, 2020
75 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, 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 Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

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 Estevão 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 Agronômicas, 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 todos 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), molicutes 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 molicutes. 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 molicutes 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 molicutes associados
Tabela 1 - Nome, características e origens de 32 genótipos de milho avaliados quanto à resistência a *Dalbulus maidis* e molicutes.....30
Tabela 2 - Medianas de adultos e ninfas de *Dalbulus maidis* obtidos durante a safrinha em 29 genótipos de milho a campo. Botucatu, SP, 2018. 35
Tabela 3 - Medianas de adultos e ninfas de *Dalbulus maidis* 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 *D. maidis*. 51
Tabela 2 - Medianas de dureza (gf/cm) de folhas e nervuras e densidade (nº/cm2) de tricomas de 11 genótipos de milho.....56
Tabela 3 - Medianas de duração (dias) por ínstar, período total ninfal e longevidade de *Dalbulus maidis* em 11 genótipos de milho. 57
Tabela 4 - Medianas de viabilidade (%) por ínstar e total ninfal de *Dalbulus maidis* em 11 genótipos de milho. 59
Tabela 5 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) envolvendo oviposição de *D. maidis*, viabilidade ninfal e características morfológicas em 11 genótipos de milho. 60

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL 19

CAPÍTULO 1 - AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MILHO *Bt* E Não-*Bt* A *Dalbulus maidis* (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 *Bt* E NÃO-*Bt* SOBRE *Dalbulus maidis* (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 madis 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. madis* pode variar de cinco a 12 dias, em temperaturas entre 23 e 26ºC (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 26ºC. 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 munícipios 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 molicutes 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 molicutes 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 molicutes 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.

CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MILHO *Bt* e Não-*Bt* A *Dalbulus maidis* (HEMIPTERA: CICADELLIDAE) E MOLICUTES ASSOCIADOS

Resumo

A cultura do milho é um dos principais cereais plantados no Brasil. No entanto, o rendimento da cultura é significativamente comprometido devido ao ataque de artrópodes-praga. 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), molicutes responsáveis por enfezamentos nas lavouras. Em função da eficiência limitada do controle químico, o uso de genótipos resistentes ao inseto e aos patógenos associados pode ser considerado uma estratégia valiosa, visando reduzir o uso de inseticidas sintéticos e seus impactos no ambiente, além de diminuir os custos de produção. Este estudo teve como objetivo avaliar a infestação da cigarrinha visando caracterizar a expressão de antixenose e a incidência de molicutes em 32 genótipos de milho *Bt* e não-*Bt* sob condições de campo. Cada genótipo representou um tratamento, em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições. As avaliações de infestação por ninfas e adultos da cigarrinha sobre as plantas foram realizadas semanalmente a partir do estágio fenológico V4-V5. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro na “safrinha” (2018) e o segundo na “safra de verão” (2018/2019). A incidência de molicutes nos genótipos foi avaliada na “safra de verão” por meio de análises em PCR para a distinção entre espiroplasma e fitoplasma. 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, indicando potencial para resistência aos enfezamentos associados à

cigarrinha. Os resultados obtidos nos ensaios podem auxiliar em programas de melhoramento de cultivares resistentes a *D. maidis* e patógenos envolvidos.

Palavras-chave: *Zea mays* L., antixenose, cigarrinha-do-milho, espiroplasma, fitoplasma.

Abstract

Corn is one of the main cereals grown in Brazil. However, the yield of the crop is significantly compromised due to the attack of pest-arthropods. 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 spiroplasma *Spiroplasma* kunkelli Whitcomb (CSS) and the phytoplasma *Candidatus* Phytoplasma asteris (MBSP), responsible for red stunt. Due to the limited efficiency of chemical control, the use of genotypes resistant to insects and associated pathogens can be considered a valuable strategy, aiming to reduce the use of synthetic insecticides and their impacts on the environment, in addition to reducing production costs. This study aimed to evaluate leafhopper infestation in order to characterize the expression of antixenosis and the incidence of molicutes in 32 *Bt* and non-*Bt* corn genotypes under field conditions. Each genotype represented a treatment, in a randomized block design, with four replications. The infestation evaluations by nymphs and adults of the leafhopper on the plants were carried out weekly from the phenological stage V4-V5. Two experiments were carried out, the first in the second harvest (2018) and the second in the first harvest (2018/2019). The incidence of molicutes in the genotypes was evaluated in the first harvest by means of PCR analysis to distinguish between spiroplasma and phytoplasma. There was no significant difference regarding the infestation by adults in the genotypes studied in both seasons, 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 summer harvest, indicating the potential for resistance to

stabbings associated with spittlebug. The results obtained in the tests can assist in breeding programs for cultivars resistant to *D. maidis* and involved pathogens.

Keywords: *Zea mays* L., antixenosis, corn leafhopper, spiroplasma, phytoplasma.

1.1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos principais grãos cultivados no país, sendo o Brasil o terceiro maior produtor mundial desse cereal. A maior parte da abastece o mercado interno e cerca de 70 a 90% deste volume é destinado à alimentação e manutenção de criações de animais (COSTA et al., 2010). As produções estimadas para a primeira e segunda safras de 2019/2020 são de 26.293,3 e 70.936,5 mil toneladas, respectivamente, com produtividade média de 5.508 kg/ha (CONAB, 2019).

A produção de cereais em grandes extensões pode favorecer a incidência de patógenos e artrópodes-praga que os utilizam para alimentação, reprodução e abrigo e que, quando não controlados, pode ocasionar prejuízos irreversíveis ao produtor (Kogan, 1998). Dentre os insetos-praga que infestam a cultura do milho no Brasil, a cigarrinha-do-milho *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) tem se destacado nos últimos anos, principalmente com o advento do plantio do milho em segunda safra, que favoreceu a permanência do artrópode e de seus patógenos associados nas lavouras (OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015a). *Dalbulus maidis* é um inseto específico da cultura do milho no Brasil e foi registrado em 143 municípios pertencentes a 17 estados e o distrito federal (WAQUIL, 1997; LOPES e OLIVEIRA, 2004; OLIVEIRA et al., 2013).

Adultos e ninfas da cigarrinha ocasionam danos diretos por meio da sucção de seiva e alterações fisiológicas devido à injeção de toxinas presentes na saliva e/ou de posturas endofíticas. Indiretamente, o inseto também compromete a sanidade das lavouras, em decorrência da transmissão de patógenos (NAULT, 1980; WAQUIL et al., 1999; LOPES e OLIVEIRA, 2004).

Dalbulus maidis é responsável pela transmissão de molicutes causadores de enfezamentos, como o espiroplasma *Spiroplasma kunkelli* Whitcomb (*Corn stunt spiroplasma* – CSS) e o fitoplasma (*Maize bushy stunt phytoplasma* – MBSP), além do vírus-da-risca-do-milho (*Maize rayado fino virus* – MRFV) (NAULT, 1980). O enfezamento pálido é ocasionado pelo espiroplasma e os sintomas se caracterizam

pela presença de manchas cloróticas independentes, produzidas na base das folhas; os entrenós se desenvolvem menos e a planta tem a altura reduzida, formando-se brotos nas axilas das folhas, e o colmo e as folhas adquirem a cor avermelhada. O fitoplasma ocasiona o enfezamento-vermelho; os sintomas assemelham-se aos do espiroplasma, exceto pela severidade e a maior intensidade de cor vermelha, que chega a ser púrpura nas folhas mais velhas, além do abundante perfilhamento nas axilas foliares e na base das plantas (NAULT, 1980, 1990).

O controle da cigarrinha-do-milho é comumente realizado por meio de inseticidas sintéticos, via aplicação foliar e/ou tratamento de sementes (Tsai et al., 1990; Oliveira et al., 2007, 2008). Contudo, experimentos a campo demonstraram não haver diferença significativa quanto à incidência de enfezamentos e produtividade a partir do uso combinado ou isolado de tratamento de sementes e pulverizações com ingredientes ativos recomendados (OLIVEIRA, 2007). Essa baixa eficiência do controle químico pode ser decorrente da elevada capacidade migratória do inseto entre lavouras adjacentes (OLIVEIRA et al., 2013).

Em decorrência das limitações e impactos decorrentes do método químico, o uso de genótipos resistentes pode ser considerado uma alternativa valiosa para a manutenção das populações de insetos-praga, mantendo-as em nível de equilíbrio e contribuindo com os preceitos do MIP (LARA, 1991; BALDIN et al., 2019). A resistência de plantas aos insetos pode ser classificada em três categorias: antixenose, antibiose e tolerância (PAINTER, 1951; SMITH, 2005). A expressão de antixenose está relacionada à morfologia e componentes químicos das plantas, que alteram a preferência para alimentação, permanência e/ ou oviposição do inseto sobre as mesmas. Na antibiose o inseto se alimenta normalmente da planta, porém ocorre variados efeitos adversos sobre a biologia do inseto, em decorrência da presença de compostos químicos deletérios. Plantas tolerantes não afetam a biologia e/ou o comportamento do inseto, porém tem a capacidade de resistir ou se recuperar após o ataque do mesmo, mantendo bons índices de produtividade (SMITH, 2005).

De forma similar, a utilização de cultivares resistentes a patógenos é apontada como um dos principais métodos para reduzir e/ ou erradicar as doenças das plantas nas lavouras (FEHR, 1987). No caso dos enfezamentos do milho, essa prática é altamente promissora, uma vez que os patógenos envolvidos com as doenças apresentam baixa variabilidade genética, independentemente dos locais de ocorrência (GOMES et al., 2004).

Já foram realizados alguns estudos visando identificar possíveis fontes de resistência ao inseto (COLLINS e PITRE, 1969; TSAI, 1988; WAQUIL, 1998; ZURITA et al., 2000). No entanto, esses trabalhos avaliaram um pequeno número de materiais, com baixa variabilidade genética e limitada inserção no mercado, diferentemente do presente estudo. Com base no exposto, avaliou-se a possível resistência de 32 genótipos comerciais de milho (*Bt* e não-*Bt*), a *D. maidis* e molicutes associados em duas safras de campo. Os resultados podem contribuir para o manejo de cigarrinhas e doenças associadas às lavoras de milho.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos sob condições de campo na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) safra 2018 (22º 49′ 32.2″ S 48º 25′ 43.5″ O) e safra 2018/2019 (22º 50′ 39.1″ S 48º 25′ 28.8″ O), pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Campus Botucatu, SP, entre 2018 (“safrinha”) e 2019 (“safra de verão”).

Obtenção dos genótipos

Os genótipos utilizados são comerciais e ainda não foram avaliados quanto à resistência a *D. maidis*. Foram utilizados 32 genótipos de milho *Bt* e não-*Bt* (Tabela 1), provenientes dos bancos de germoplasma do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI/CEPAF), Semeali® Sementes Ltda (Araçatuba, SP), Corteva® Agriscience, Jmen® Sementes (Orlândia, SP) e Bayer® CropScience.

Tabela 1. Nome, características e origens de 32 genótipos de milho avaliados quanto à resistência a *Dalbulus maidis* e molicutes.

Genótipo	Características	Origem
60XB14	Híbrido simples (HS), convencional.	Semeali®
60XB14 *Bt*	Híbrido simples (HS), portador de Cry1Ab que confere resistência a Lepidoptera.	
90XB06	Híbrido simples modificado (HSM), convencional.	
90XB06 *Bt*	Híbrido simples modificado (HSM), portador de Cry1Ab que confe resistência a Lepidoptera.	
XB 6012 *Bt*	Híbrido simples (HS), portador de Cry1Ab que confere resistência a Lepidoptera.	
XB 9003	Híbrido simples (HS), convencional.	
XB 9003 *Bt*	Híbrido simples (HS), portador de Cry1Ab que confere resistência a Lepidoptera.	
XB 7116 *Bt*	Hibrido triplo (HT), portador de Cry1Ab que confere resistência a Lepidoptera.	
XB 8018	Híbrido duplo (HD), convencional.	
XB 8018 *Bt*	Híbrido duplo (HD), portador de Cry1Ab que confere resistência a Lepidoptera.	
XB 8010	Híbrido duplo (HD), convencional.	
XB 8010 *Bt*	Híbrido duplo (HD), portador de Cry1Ab que confere resistência a Lepidoptera.	
XB 8030	Híbrido duplo (HD), convencional.	
XB 8030 *Bt*	Híbrido duplo (HD), portador de Cry1Ab que confere resistência a Lepidoptera.	
30F53	Tolerante ao herbicida glifosato (Milho Roundup Ready 2)	Corteva®
30F53 HR	Tolerante ao herbicida glifosato (Milho Roundup Ready 2).	
30F53 YH	Resistente a insetos da ordem Lepidoptera e tolerante ao herbicida glufosinato de amônio.	
30F53 VYHR	Resistente a insetos da ordem Lepidoptera e tolerante aos herbicidas glufosinato de amônio e glifosato.	
30F35 YH	Resistente a insetos da ordem Lepidoptera e tolerante ao herbicida glufosinato de amônio.	
P3862 H	Resistente a insetos da ordem Lepidoptera e tolerante ao herbicida glufosinato de amônio.	
SCS 156 Colorado	Convencional, variedade de polinização aberta.	Epagri
SCS 154 Fortuna	Convencional, variedade de polinização aberta.	
IAC 8077	Convencional.	IAC
IAC 8390	Convencional.	
IAC 8046	Convencional.	
IAC AIRAN	Convencional.	
JM 2M80	Convencional.	Jmen
JM 2M77	Convencional.	
JM 2M60	Convencional.	

DKB 290 VTPRO2	Portador de Cry1A.105 e Cry2Ab2 que conferem resistência a Lepidoptera e tolerância ao glifosato.	Bayer®
DKB 310 VTPRO3	Portador de Cry1A.105 e Cry2Ab2 que conferem resistência a Lepidoptera e Cry3Bb que confere resistência à larva-alfinete e tolerância ao herbicida glifosato.	
DKB 390 VTPRO	Portador de Cry1A.105 e Cry2Ab2 que conferem resistência a Lepidoptera e tolerância ao herbicida glifosato.	

Avaliação de infestação de *D. maidis*

Na primeira safra (“safrinha”) implementada em 2018, utilizou-se uma área de 2.088 m^2 (22º 49′ 32.2″ S 48º 25′ 43.5″ O), a qual recebeu previamente gradagem média. Na sequência, foram abertos sulcos com uma semeadora-adubadora tratorizada modelo T²SI, marca TATU, regulada com o espaçamento de 0,50 m entre linhas de plantio, aplicando 250 kg/ha do formulado N-P-K (8-28-16). A semeadura das parcelas foi realizada em (16/03/2018) com auxílio de plantadeira manual, distribuindo-se cinco sementes por metro linear. Quando o milho atingiu o estádio fenológico V4-V5 (RITCHIE et al., 1993) foi realizada a aplicação do herbicida atrazina (500g i.a./L) na dosagem de 5 L/ha e 60 kg de nitrogênio para adubação de cobertura. Adotou-se um delineamento experimental de blocos ao acaso, com 29 tratamentos (Tabela 1) e quatro repetições, totalizando 116 parcelas. As parcelas continham cinco linhas de cultivo com 5,0 m de comprimento (7,5 m^2) e foram espaçadas em 1,0 m entre si. Preservaram-se 2,0 m de distância entre os blocos. As amostragens foram realizadas na linha central de cada parcela.

Para a segunda safra (“de verão”) instalada em 2018/2019, previamente foi realizada a dessecação das plantas invasoras a partir da aplicação de glifosato (792,5g i.a./kg) na dose de 3kg/ha. A semeadura das parcelas foi realizada em (20/12/2018) com a semeadora-adubadora tratorizada modelo SHP 249, marca Semeato, com espaçamento de 0,50 m entre fileiras e densidade de cinco sementes por metro linear. As parcelas mediram 5,0 × 1,5 m (7,5 m^2) e foram adubadas com 250 kg/ha do formulado N-P-K (8-28-16). Adotaram-se os mesmos espaçamentos entre parcelas e entre blocos, bem como os mesmos métodos de avaliação empregados na primeira safra. Empregou-se um delineamento experimental de blocos ao acaso, com 30 tratamentos e quatro repetições, totalizando 120 parcelas.

As coletas ocorreram de forma destrutiva, coletando-se três plantas por parcela, a partir do momento em que as plantas atingiram o estádio fenológico V4-V5. Utilizou-se sacos plásticos de polietileno preto, os quais envolveram toda a planta até sua base, onde foram amarrados com barbante para evitar a fuga dos insetos. Optou-se por esta metodologia, uma vez que estudos prévios demosntraram que esta técnica é mais apurada em relação à amostragem feita com rede entomológica (Waquil, 1997). As plantas coletadas foram então encaminhadas para o Laboratório de Resistencia de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas (LARESPI) e armazenadas em câmara fria à 8 ºC. Para a determinação do número de adultos e ninfas presentes em cada tratamento, as plantas foram retiradas dos sacos e foi observado toda as estruturas e verificou-se o interior dos sacos. Foram realizadas três avaliações na safra 2018 (Tabela 2) e quatro avaliações na safra 2018/2019 (Tabela 3), sendo as coletas efetuadas em semanas intercaladas, num período de 60 dias.

Incidência de enfezamentos

Na safra 2018/2019 foi feita a coleta aleatória de discos foliares em quatro plantas por parcela, os quais foram submetidos a análise por PCR (Polymerase Chain Reaction). A extração do DNA foi realizada conforme a metodologia Doyle and Doyle (1990). Os discos recém-coletados foram macerados com 400 µL de solução tampão CTAB pré-aquecido a 65ºC em banho maria. Após esse processo, o produto obtido foi submetido à agitação por cinco minutos e incubado por 30 minutos a 65ºC. Na sequência, o mesmo foi resfriado por 10 minutos em temperatura ambiente, adicionando-se 400 µL de clorofórmio, o qual foi levemente misturado por um minuto. A solução foi centrifugada a 13.000 rpm por cinco minutos. Então transferiu-se 200 µL da fase aquosa para um novo tubo, adicionando-se 200 µL de isopropanol armazenado a -20ºC e agitado levemente durante um minuto. A solução foi incubada por 30 minutos na temperatura de -20ºC e, após esse processo, centrifugada por 5 minutos a 12.000 rpm, resultando na formação do pellet. Foi adicionado 200 µL de etanol 70% armazenado a -20ºC para a eliminação de impurezas no pellet e o líquido foi descartado. Após esse processo o pellet foi ressuspendido com 40 µL de água MiliQ e incubado por 30 minutos no Thermo Shaker (modelo K80-100 K80-200, marca Kasvi). As amostras de DNA desse processo foram armazenadas em freezer a -20ºC.

A identificação dos patógenos que ocasionam os sintomas de enfezamentos foi feita por meio de reação multiplex para a detecção *Spiroplasma kunkelii* e *Candidatus*

Phytoplasma asteris e os primers utilizados foram CSSF2 (5’ – GGCAAAAGATGTAACAAAAGT – 3’), CSSR6 (5’ – GTTACTTCAACAGTAGTTGCG - 3’) (BARROS et al., 2001), R16R2 (5’ – ACGACTGCTGCTAAGACTGG -3’), R16F2 (5’ – TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG – 3’) (Lee et al., 1993; Barros et al., 2001).

A reação foi realizada com 25,0 µL do volume total, contendo 12,5 µL de gotaq; 1,0 µL CSSF2; 1,0 µL CSSR6; 1,0 µL R16R2; 1,0 µL R16F2 e 3,0 µL de DNA. O programa de PCR consiste em desnaturação de dois minutos a 94°C, 40 ciclos de um minuto a 94°C, fase de anelamento de um minuto a 52°C, seguido de fase de extensão por dois minutos a 72°C, finalizando com extensão final de 10 minutos a 72 °C (SAGHAI-MAROOF et al., 1984).

Para a realização da eletroforese, os fragmentos das reações em PCR foram dissolvidos em gel agarose 1,0% e visualizados sob luz ultravioleta. As bandas de DNA para a detecção molecular dos fitopatógenos são de 500 pb para espiroplasma e de 1200 pb para fitoplasma.

Análises estatísticas

Os dados das safras 2018 e 2018/2019 foram analisados por meio de estatística não-paramétrica, sendo submetidos ao teste de Kruskal-Wallis rank ($p < 0,05$), empregando-se o software Minitab 16 (MINITAB, 2010). Os tratamentos foram comparados entre si quanto à ocorrência no número de adultos e ninfas de *D. maidis.*

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A infestação de cigarrinhas-do-milho ocorreu de forma natural no campo, sendo sua presença constada a partir do estádio fenológico V1-V2 nas safras de 2018 e 2018/2019. Com base nas avaliações de infestação por adultos e ninfas de *D. maidis* realizadas a campo, não houve diferença significativa entre os materiais nas safras 2018 e 2018/2019 (Tabelas 2 e 3). Considerando-se os valores absolutos da safra 2018, os genótipos 90XB06, XB 9003 *Bt* e 30F53 HR apresentaram as menores ou medianas de adultos de *D. maidis* na primeira avaliação (0,33 insetos), seguidos por SCS 156 Colorado e JM 2M60 (0,34) (Tabela 2). Os genótipos XB 6012 *Bt*, XB 8010, JM 2M80 (1,17), apresentaram maior nível de infestação, seguidos de DKB 390 VTPRO, DKB 290 VTPRO2 e XB 8030 *Bt* (1,00). Não foram constatadas ninfas nesta primeira avaliação aos 14 dias após emergência (DAE).

Aos 32 DAE, na segunda avaliação da safra 2018, o genótipo 90XB06 *Bt* não apresentou infestação por adultos da cigarrinha. Por sua vez, XB 8018 *Bt* apresentou apenas 0,17 indíviduos, seguido por XB 8030 *Bt*, 30F53 VYHR (0,33), JM 2M80 e JM 2M77 (0,34) (Tabela 2). 30F53 apresentou o maior número de cigarrinhas sobre suas plantas (1,67), seguido por 90XB06, 60XB14 *Bt* (1,17) e DKB 390 VTPRO (1,00) (Tabela 2). Embora nessa avaliação tenha sido constatada a presença de ninfas sobre as plantas, as mesmas ocorreram em baixas quantidades. O genótipo DKB 290 VTPRO2, apresentou a maior mediana (0,25), seguido por XB 8030 *Bt,* XB 8030, XB 6012 *Bt,* 60XB14 *Bt,* 30F53 HR, 30F53 VYHR, IAC AIRAN e JM 2M77 (0,17). Os demais genótipos não apresentaram ninfas nas parcelas avaliadas (Tabela 2).

Aos 46 DAE, os genótipos que apresentaram as menores infestações por adultos foram XB 8030 *Bt*, XB 8018, XB 9003 *Bt* e 90XB06 *Bt* (0,33), seguidos por XB 8010 *Bt* (0,42) (Tabela 2). Os genótipos com maior infestação foram JM 2M77 (1,67), 30F53 (1,50), XB 8030 (1,34), 60XB14 *Bt*, 30F53 VYHR, DKB 310 VTPRO3 (1,17) e DKB 290 VTPRO2 (1,00). Na terceira avaliação verificou-se um incremento na quantidade de ninfas sobre as plantas, embora os genótipos XB 8010, 90XB06 *Bt,* XB 8030 não tenham apresentado nenhuma ninfa nas parcelas (Tabela 2). As maiores infestações por ninfas foram registradas em DKB 310 VTPRO3 (0,92), DKB 290 VTPRO2, JM 2M80, XB 8010 *Bt* (0,84) e 60XB14 (0,83) (Tabela 2).

Tabela 2. Medianas de adultos e ninfas de *Dalbulus maidis* obtidos durante a safrinha em 29 genótipos de milho a campo. Botucatu, SP, 2018.

Genótipo[1]	Avaliação 1 (14 DAE)[3]		Avaliação 2 (32 DAE)		Avaliação 3 46 (DAE)		Média	
	adultos	ninfas	adultos	ninfas	adultos	ninfas	adultos	ninfas
XB 8030 *Bt*	1,00 a [2](2,50; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (1,00; 0,00)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,33 a (0,33; 0,33)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,52 a (1,13; 0,33)	0,17 a (0,25; 0,00)
XB 8018	0,84 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0;00)	0,33 a (1,00; 0,33)	0,33 a (0,67; 0,00)	0,56 a (0,79; 0,50)	0,00 a (0,33; 0,00)
90XB06 *Bt*	0,84 a (1,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,33)	0,58 a (0,83; 0,08)	0,00 a (0,08; 0,00)
JM 2M60	0,34 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,33; 0,00)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,58 a (0,58; 0,42)	0,00 a (0,42; 0,00)
XB 9003	0,42 a (0,50; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,84 a (2,00; 0,67)	0,00 a (0,50; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,33)	0,17 a (1,00; 0,33)	0,59 a (1,08; 0,38)	0,00 a (0,25; 0,00)
XB 8030	0,67 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	1,34 a (1,67; 0,33)	0,00 a (1,67; 0,00)	0,63 a (1,17; 0,44)	0,00 a (0,42; 0,00)
XB 8018 *Bt*	0,67 a (1,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,59 a (1,00; 0,33)	0,34 a (0,67; 0,00)	0,63 a (0,75; 0,42)	0,00 a (0,33; 0,00)
30F53 VYHR	0,84 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (1,33; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	1,17 a (1,67; 0,67)	0,34 a (1,00; 0,00)	0,64 a (1,17; 0,39)	0,37 a (0,42; 0,00)
90XB06	0,33 a (1,33; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,17 a (1,67; 0,50)	0,00 a (0,67; 0,00)	0,67 a (1,00; 0,00)	0,33 a (0,67; 0,00)	0,66 a (1,13; 0,58)	0,00 a (0,33; 0,00)
JM 2M77	0,50 a (1,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,34 a (2,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	1,67 a (2,33; 0,00)	0,50 a (0,67; 0,00)	0,67 a (1,42; 0,67)	0,00 a (0,92; 0,00)
JM 2M80	1,17 a (2,00; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,34 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,50; 0,00)	0,67 a (1,33; 0,00)	0,84 a (1,33; 0,67)	0,67 a (1,17; 0,42)	0,00 a (0,92; 0,00)
60XB14	0,50 a (1,33; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,00)	0,00 a (1,67; 0,00)	0,67 a (1,00; 0,33)	0,83 a (1,67; 0,00)	0,67 a (0,67; 0,50)	0,00 a (0,82; 0,00)
SCS 156 Colorado	0,34 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (0,67; 1,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,67 a (0,67; 0,50)	0,42 a (2,00; 0,33)	0,69 a (0,75; 0,58)	0,04 a (0,79; 0,00)
XB 9003 *Bt*	0,33 a (2,00; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (5,00; 0,33)	0,00 a (0,33; 0;00)	0,33 a (0,67; 0,00)	0,50 a (0,67; 0,00)	0,69 a (1,67; 0,33)	0,00 a (0,42; 0,00)
XB 7116 *Bt*	0,50 a (1,00; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,84 a (1,67; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,00; 0,00)	0,42 a (0,67; 0,33)	0,75 a (0,92; 0,58)	0,00 a (0,46; 0,00)
DKB 310 VTPRO3	0,67 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,33; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,17 a (2,00; 0,50)	0,92 a (1,33; 0,33)	0,75 a (1,21; 0,67)	0,00 a (0,88; 0,00)
XB 8010 *Bt*	0,84 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,33; 0,67)	0,00 a (0,67; 0,00)	0,42 a (1,00; 0,50)	0,84 a (1,00; 0,50)	0,75 a (0,83; 0,54)	0,00 a (0,79; 0,00)
XB 6012 *Bt*	1,17 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,84 a (1,00; 0,67)	0,33 a (1,67; 0,50)	0,76 a (0,92; 0,50)	0,17 a (0,50; 0,00)
IAC 8046	0,50 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,84 a (1,00; 0,50)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,84 a (1,00; 0,33)	0,50 a (3,00; 0,00)	0,77 a (0,79; 0,75)	0,07 a (1,00; 0,00)
IAC 8390	1,00 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,00; 0,67)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,75 a (1,33; 0,33)	0,67 a (3,00; 0,00)	0,77 a (0,83; 0,75)	0,00 a (1,08; 0,00)
IAC 8077	0,67 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,50; 0,00)	0,50 a (0,67; 0,00)	0,77 a (0,71; 0,58)	0,00 a (0,42; 0,00)
30F53 HR	0,33 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,84 a (2,00; 0,33)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,84 a (1,00; 0,33)	0,50 a (1,00; 0,00)	0,81 a (1,00; 0,33)	0,00 a (0,50; 0,00)
IAC AIRAN	0,84 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,84 a (2,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,33)	0,50 a (2,33; 0,00)	0,34 a (1,00; 0,00)	0,83 a (0,92; 0,75)	0,00 a (0,42; 0,00)
30F53 YHR	0,84 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (2,33; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,83 a (2,00; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,33)	0,86 a (1,00; 0,75)	0,00 a (0,58; 0,00)
30F53	0,50 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,67 a (3,00; 1,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	1,50 a (1,67; 0,33)	0,50 a (2,00; 0,33)	0,90 a (2,00; 0,39)	0,00 a (0,71; 0,00)
60XB14 *Bt*	0,50 a (2,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,17 a (2,00; 0,33)	0,17 a (0,33; 0,00)	1,17 a (1,67; 0,50)	0,50 a (1,33; 0,00)	0,94 a (1,17; 0,75)	0,00 a (0,58; 0,00)
XB 8010	1,17 a (1,50; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,33; 0,33)	0,00 a (0,33; 0;00)	0,83 a (2,00; 0,00)	0,00 a (2,00; 0,00)	0,98 a (1,04; 0,75)	0,08 a (0,50; 0,00)
DKB 290 VTPRO2	1,00 a (3,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,75 a (1,67; 0,33)	0,25 a (1,00; 0,00)	1,00 a (1,33; 0,67)	0,84 a (1,00; 0,50)	1,04 a (1,33; 0,88)	0,38 a (0,88; 0,00)
DKB 390 VTPRO	1,00 a (3,67; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,00 a (2,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,33)	0,17 a (1,33; 0,00)	1,08 a (1,50; 0,50)	0,00 a (0,42; 0,00)
P	0,9958	-	0,5088	0,7498	0,4404	0,5082	0,5248	0,2700

[1]Medianas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis rank (p >0,05). [2]Amplitude das repetições (máxima; mínima). [3] Dias após a emergência.

Durante a realização do experimento em 2018, verificou-se grandes períodos com ausência de precipitação (Figura 1), gerando significativo déficit hídrico às plantas com progressivo murchamento e inviabilizando a realização de uma quarta avaliação de infestação a campo. De maneira geral, constatou-se ligeiro aumento na infestação da cigarrinha ao longo das avaliações a campo, fato provavelmente relacionado ao estabelecimento da espécie na cultura.

Na safra verão (2018/2019) os genótipos 90XB06 (0,67), IAC 8046, P3862 H (1,00), XB 9003, 30F53 HR, DKB 290 VTPRO2, DKB 310 VTPRO3 (1,50) e IAC AIRAN, IAC 8390 (1,67) apresentaram menores índices de infestação por adultos da cigarrinha na primeira avaliação (Tabela 3). De maneira oposta, constataram-se maiores medianas de adultos em IAC 8077 (3,50), DKB 390 VTPRO (2,83), XB 8018, XB 8018 *Bt*, XB 8030, SCS 156 Colorado (2,50) e 30F53 (2,33).

Aos 30 dias DAE, os genótipos menos infestados por adultos foram XB 7116 *Bt*, XB 8018, XB 8030, 30F53 HR, SCS 154 Fortuna (0,33), XB 9003 *Bt* (0,58), seguidos por XB 8010 *Bt*, XB 6012 *Bt*, XB 9003, XB 8018 *Bt* e 30F35 YH (0,67) (Tabela 3). P3862 H (1,83), XB 8030 *Bt* (1,50), 90XB06, 90XB06 *Bt*, 30F53 VYHR, IAC AIRAN, DKB 390 VTPRO (1,17) foram os mais infestados. Na terceira avaliação, os genótipos 60XB14, XB 8018 *Bt,* XB 8010, 90XB06 *Bt*, 30F53 HR, DKB 310 VTPRO3 não receberam infestação do inseto. XB 8030, 60XB14 *Bt*, 30F53, SCS 156 Colorado, JM 2M77, DKB 390 VTPRO também se destacaram com medianas iguais 0,17 indivíduos. Os genótipos que apresentaram maior infestação nessa avaliação foram XB 8030 Bt (1,00) e 30F53 VYHR (0,83).

Na última avaliação, os genótipos XB 8018 *Bt*, XB 7116 *Bt*, XB 8018, XB 8030, 60XB14 *Bt*, 30F53 HR, SCS 156 Colorado, IAC 8077, IAC AIRAN, P3862 H, JM 2M77, 30F35 YH, DKB 310 VTPRO3, SCS 154 Fortuna não apresentaram infestação por adultos de *D. maidis* (Tabela 3). DKB 390 VTPRO (0,50), 90XB06, XB 8010 *Bt*, XB 6012 *Bt* (0,33) foram os mais infestados. Em geral, verificou-se baixa infestação por ninfas nos genótipos na safra 2018/2019 (Tabela 3). Foram registrados índices pluviométricos considerados normais para a safra de verão (Figura 1).

Comparativamente entre as safras avaliados neste trabalho, o número de insetos aumentou ao longo das avaliações e foi ligeiramente superior na safrinha (2018) em comparação com a safra de verão. Esses resultados corroboram o verificado por outros autores, que reportaram maiores infestações entre os meses de fevereiro a abril ou épocas mais secas em comparação com outros períodos de verão

(WAQUIL, 1997; OLIVEIRA et al., 2015a). Adicionalmente, os dados sugerem que, em razão do verânico ocorrido em 2018, houve redução na oferta de alimento em plantios adjacentes ao experimento, estimulando a permanência do inseto na área avaliada. Essa permanência pode também justificar as maiores médias de ninfas registradas nos genótipos durante a safrinha.

Na safra de verão (2018/2019), a população apresentou-se maior no início do ciclo e declinou gradativamente durante a realização do experimento (Tabela 3). No entanto, o índice pluviométrico (Figura 1) no período ficou dentro do esperado e as áreas de milho adjacentes ao experimento apresentavam desenvolvimento normal, inclusive com plantas em estádios fenológicos diferentes, o que pode ter também estimulado a movimentação de *D. maidis* para essas áreas, visto que este inseto-vetor possui alta atividade migratória (OLIVEIRA et al., 2013, 2015a). Estudos têm demonstrado que *D. maidis* possui alta capacidade de dispersão, podendo migrar para outras áreas em um raio >20 km, sendo este um fator fundamental para a sua sobrevivência (OLIVEIRA et al., 2013). Nossas avaliações indicam que o inseto também apresenta grande mobilidade entre plantas dentro de uma mesma lavoura, sugerindo amplo potencial de infestação, independentemente do genótipo empregado. Esse comportamento migratório tem dificultado as ações de controle do inseto e impulsionado aplicações com inseticidas sintéticos nos estádios iniciais da cultura, fase em que as plantas de milho são também mais sujeitas aos enfezamentos (BHIRUD e PITRE et al., 1972; OLIVEIRA et al., 2007; GARCÍA-GONZALEZ et al., 2017), embora os sintomas se tornem mais visíveis na fase reprodutiva da cultura (COSTA et al., 1971; NAULT, 1980; OLIVEIRA et al., 2015b).

Tabela 3. Medianas de adultos e ninfas de *Dalbulus maidis* obtidos durante a safra de verão em 30 genótipos de milho a campo. Botucatu, SP, 2018/2019.

Genótipo[1]	Avaliação 1 (16 DAE)[3]		Avaliação 2 (30 DAE)		Avaliação 3 (44 DAE)		Avaliação 4 (58 DAE)		Média	
	adultos	ninfas	adultos	ninfas	adultos	ninfas	adultos	ninfas	adultos	ninfas
XB 8030	2,50 a [2](7,00; 1,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,29 a (3,33; 0,08)	0,00 a (0,08; 0,00)
30F53 HR	1,50 a (2,67; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (1,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,29 a (2,33; 0,08)	0,00 a (0,16; 0,00)
XB 8018	2,50 a (3,33; 1,67)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,33 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (0,50; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,31 a (2,50; 0,08)	0,00 a (0,11; 0,00)
60XB14	1,67 a (4,00; 1,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,50; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,38 a (2,08; 0,12)	0,00 a (0,00; 0,00)
XB 7116 *Bt*	2,00 a (3,00; 0,50)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,38 a (1,87; 0,08)	0,00 a (0,00; 0,00)
XB 8018 *Bt*	2,50 a (4,00; 0,67)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,00; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,50; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,40 a (2,41; 0,12)	0,00 a (0,08; 0,00)
SCS 154 Fortuna	1,83 a (2,67; 0,67)	0,00 a (0,50; 0,00)	0,33 a (0,50; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (0,67; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,40 a (1,75; 0,16)	0,06 a (0,16; 0,00)
XB 9003	1,50 a (4,33; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,33; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (0,50; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,91; 0,20)	0,00 a (0,00; 0,00)
30F35 YH	2,08 a (2,67; 0,67)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (0,67; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,33 a (0,67; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,51 a (2,29; 0,08)	0,08 a (0,08; 0,00)
XB 8010 *Bt*	1,83 a (3,33; 1,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,50 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (0,67; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,54 a (2,08, 0,41)	0,04 a (0,16; 0,00)
30F53	2,33 a (3,00; 2,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,83 a (1,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,67; 0,00)	0,54 a (2,25; 0,16)	0,00 a (0,08; 0,00)
DKB 310 VTPRO3	1,50 a (2,00; 0,67)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,83 a (1,67; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,54 a (1,50; 0,08)	0,00 a (0,08; 0,00)
XB 9003 *Bt*	2,17 a (2,67; 1,67)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,58 a (0,67; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,56 a (2,16; 0,16)	0,00 a (0,08; 0,00)
XB 8010	2,00 a (3,00; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,83 a (1,67; 0,33)	0,17 a (0,67; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,17 a (0,50; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,56 a (1,83; 0,08)	0,08 a (0,25; 0,00)
SCS 156 Colorado	2,50 a (5,00; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,00 a (1,00; 1,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,58 a (2,58; 0,08)	0,04 a (0,16; 0,00)
IAC 8046	1,00 a (2,67; 0,67)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,83 a (2,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (0,33; 0,00)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,58 a (1,33; 0,25)	0,04 a (0,25; 0,00)
XB 6012 *Bt*	1,38 a (3,00; 0,50)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,67 a (0,33; 0,00)	0,17 a (1,67; 0,33)	0,58 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,33 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,60 a (1,56; 0,33)	0,08 a (0,50; 0,00)
JM 2M77	1,83 a (2,67; 0,67)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,83 a (1,00; 0,67)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,63 a (1,91; 0,08)	0,00 a (0,00; 0,00)
90XB06	0,67 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,17 a (1,33; 0,67)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,33 a (0,33; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,63 a (1,08; 0,16)	0,00 a (0,83; 0,00)
60XB14 *Bt*	1,83 a (3,33; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,92 a (1,50; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (1,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,67 a (1,83; 0,08)	0,00 a (0,00; 0,00)
30F53 YH	2,33 a (2,33; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,83 a (1,50; 0,33)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,69 a (2,00; 0,33)	0,00 a (0,25; 0,00)
DKB 290 VTPRO2	1,50 a (3,67; 1,33)	0,00 a (0,67; 0,00)	1,00 a (1,33; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,50 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,33 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,71 a (2,00; 0,41)	0,08 a (0,16; 0,00)
P3862H	1,00 a (2,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,83 a (2,33; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,33 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,75 a (1,58; 0,00)	0,04 a (0,08; 0,00)
IAC 8390	1,67 a (2,33; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,00 a (1,33; 0,67)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,42 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (1,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,77 a (1,50; 0,50)	0,00 a (0,16; 0,00)
IAC 8077	3,50 a (5,00; 1,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,83 a (2,00; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,33 a (1,33; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,79 a (3,33; 0,16)	0,00 a (0,80; 0,00)
90XB06 *Bt*	1,83 a (4,67; 1,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,17 a (3,00; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,00 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,79 a (2,41;0,25)	0,00 a (0,00;0,00)
IAC AIRAN	1,67 a (3,00; 1,50)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,17 a (1,67; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,67 a (1,33; 0,67)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,88 a (1,95; 0,00)	0,00 a (0,08; 0,00)
DKB 390 VTPRO	2,83 a (4,67; 1,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,17 a (2,00; 0,33)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,50 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	0,83 a (2,91; 0,16)	0,00 a (0,00; 0,00)
XB 8030 *Bt*	2,38 a (4,00; 1,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	1,50 a (2,00; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	1,00 a (1,00; 0,00)	0,00 a (0,67; 0,00)	0,17 a (0,33; 0,00)	0,00 a (0,00; 0,00)	1,04 a (2,52; 0,16)	0,08 a (0,16; 0,08)
30F53 VYHR	1,83 a (2,67; 0,00)	0,00 a (0,33; 0,00)	1,17 a (1,33; 0,67)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,83 a (2,00; 0,33)	0,00 a (0,33; 0,00)	0,17 a (0,67; 0,00)	0,00 a (0,67; 0,00)	1,04 a (1,58; 0,25)	0,08 a (0,25; 0,00)
P	0,8638	0,7584	0,1657	0,2323	0,5286	0,5490	0,4307	0,6325	0,9999	0,1407

[1]Medianas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis rank (p >0,05). [2]Amplitude das repetições (máxima; mínima). [3] Dias após a emergência.

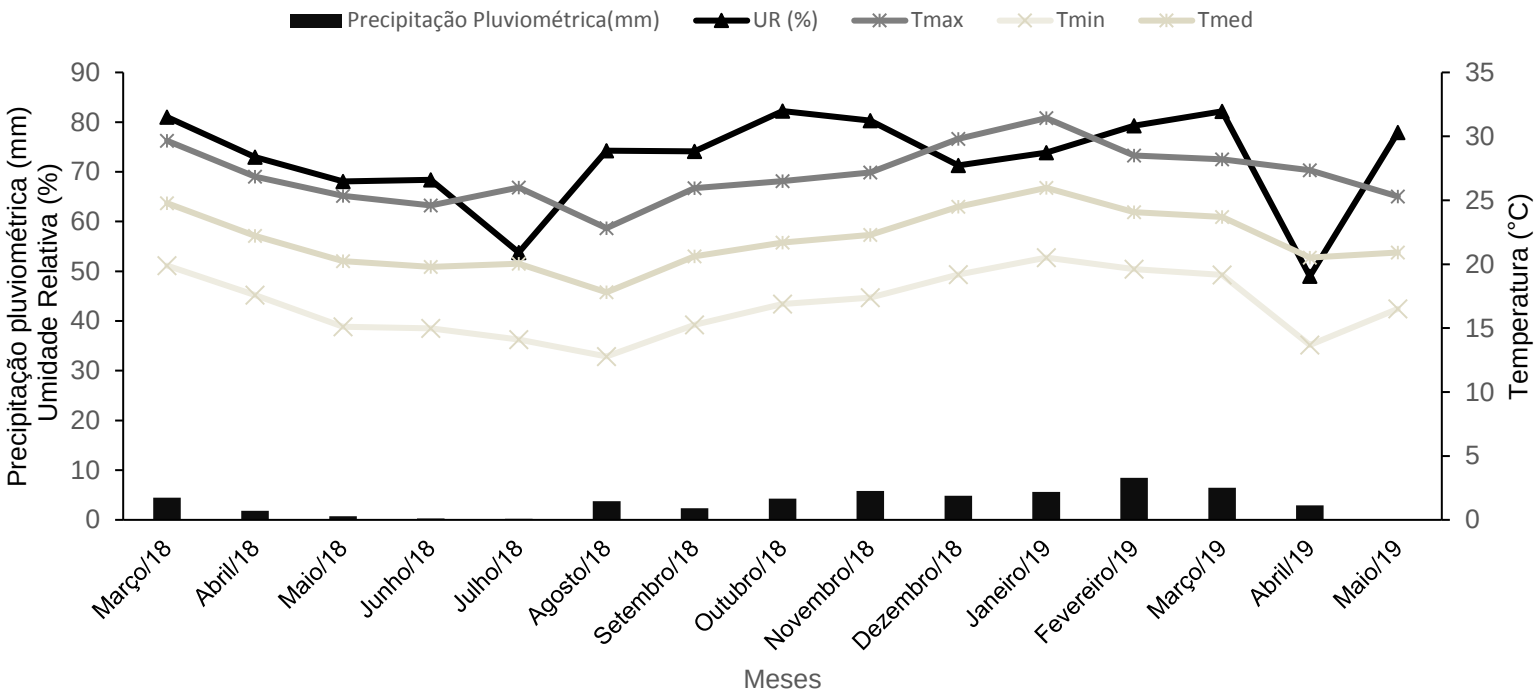

Figura 1. Precipitação pluviométrica, umidade relativa, temperaturas máxima, média e mínima do ar de março de 2018 a maio de 2019. Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP - Botucatu, SP.

De forma geral, os dados de infestação da cigarrinha nas duas safras revelam grande variação na preferência do inseto pelos genótipos investigados. Contudo, considerando-se as médias de adultos por genótipo em todo o ensaio, verifica-se tendência de menores infestações em XB 8030 *Bt*, XB 9003, XB 8018, 90XB06 *Bt*, JM 2M60 (< 0,60 indivíduos) na safrinha e em 60XB14, XB 8018 *Bt*, XB 7116 *Bt*, XB 8018, XB 8030, 30F53 HR, SCS 154 Fortuna (< 0,50 indivíduos) na safra de verão, sugerindo a presença de fatores antixenóticos nos respectivos materiais. Genótipos portadores de antixenose apresentam características físicas, morfológicas ou químicas que afetam negativamente o comportamento do inseto durante o processo de seleção hospedeira (BALDIN et al., 2019), o que pode justificar as menores médias de infestação nos materiais descritos acima. Embora o presente estudo tenha avaliado um amplo germoplasma, o baixo gradiente nos níveis de suscetibilidade dos materiais quanto à infestação por *D. maidis* podem estar relacionados com a íntima relação do inseto com a planta hospedeira, uma vez que é específico do milho no Brasil, e o que o torna menos vulnerável a fatores de resistência. Em um estudo comparativo de preferência entre balsa teosinte (*Zea mays* subespécie *parviglumis*), planta ancestral do milho, e diferentes cultivares milho não-*Bt* constatou-se que o milho é mais suscetível em relação à planta ancestral, provavelmente em função da domesticação da cultura (GAILLARD et al., 2018; MOYA-RAYGOZA et al., 2018), além de ser um inseto especialista (VAN DER MEIJIDEN, 1996).

Dentre os materiais considerados promissores em termos de resistência à cigarrinha, existem genótipos convencionais e transgênicos de milho (XB 8030 e XB 8030 *Bt*; XB 8018 e XB 8018 *Bt*), indicando que as toxinas de *Bt* associadas não afetaram a preferência dos insetos a campo. Os presentes resultados diferem de estudos prévios que reportaram maior suscetibilidade de genótipos de milho transgênico em comparação com milhos não-*Bt* (VIRLA et al., 2010).

Com base na análise de PCR realizada com os genótipos durante a safra de verão (Tabela 4), constatou-se predominância de espiroplasma (80%), semelhante ao documentado por outros autores em ensaios a campo (OLIVEIRA et al., 2007). Por sua vez, a incidência de fitoplasma foi vericada em apenas quatro genótipos (13,3%). Os genótipos com ausência de fitoplasma e espiroplasma foram 90XB06 *Bt,* 30F53 VYHR, SCS 156 Colorado, IAC 8046, 30F53 YH, DKB 310 VTPRO3. XB 8010 apresentou a maior incidência de enfezamentos (62,5% das plantas), seguido por IAC 8390 com (37,50%).

Tabela 4. Análise molecular de incidência de espiroplasma e fitoplasma em 30 genótipos de milho durante a safra de verão. Botucatu, SP, 2018/2019.

Genótipo	Bloco 1		Bloco 2		Bloco 3		Bloco 4		Frequência (%)		Média enfezamentos
	*Esp.	*Fito.	Esp.	Fito.	Esp.	Fito.	Esp.	Fito.	Esp.	Fito.	
90XB06 *Bt*	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
30F53 VYHR	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
SCS 156 Colorado	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
IAC 8046	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
30F35 YH	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
DKB 310 VTPRO3	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
60XB14	-	-	-	-	-	-	+	-	25	0	12,5
XB 8030 *Bt*	-	-	-	-	-	-	+	-	25	0	12,5
90XB06	-	-	-	-	-	-	+	-	25	0	12,5
XB 9003	+	-	-	-	-	-	-	-	25	0	12,5
XB 7116 *Bt*	+	-	+	-	-	-	-	-	25	0	12,5
30F53 YH	-	-	-	-	+	-	-	-	25	0	12,5
IAC 8077	-	-	-	-	-	-	+	-	25	0	12,5
IAC AIRAN	-	-	-	-	-	-	+	-	25	0	12,5
P3862H	-	-	-	-	-	-	+	-	25	0	12,5
JM 2M77	-	-	-	-	+	-	-	-	25	0	12,5
DKB 290 VTPRO2	-	-	+	-	-	-	-	-	25	0	12,5
SCS 154 Fortuna	-	-	-	-	-	-	+	-	25	0	12,5
XB 8010 *Bt*	+	-	-	-	+	-	-	-	50	0	25
XB 6012 *Bt*	-	-	-	-	-	-	+	+	25	25	25
XB 8018	+	-	-	-	+	-	-	-	50	0	25
XB 8018 Bt	+	-	-	-	-	-	+	-	50	0	25
XB 9003 *Bt*	+	-	+	-	-	-	-	-	50	0	25
XB 8030	-	-	+	-	-	-	+	-	50	0	25
60XB14 *Bt*	-	-	-	-	+	-	+	-	50	0	25
30F53	-	-	+	+	-	-	-	-	25	25	25
30F53 HR	-	-	-	-	-	-	+	+	25	25	25
DKB 390 VTPRO	-	-	+	-	+	-	+	-	50	0	25
IAC 8390	+	-	+	-	-	-	+	-	75	0	37,5
XB 8010	+	+	+	-	+	-	+	-	100	25	62,5

*Esp. (espiroplasma), Fito. (fitoplasma).

Para a maioria dos materiais onde a presença dos patógenos foi confirmada via PCR, também verificou-se visualmente os sintomas de enfezamento presente nas plantas. Contudo, apesar da constatação da presença de espiroplasma em um bloco de plantas do genótipo 60XB14, não foram constatados sintomas de enfezamento no estádio fase fenológico R3, sugerindo tolerância do material ao patógeno.

Trabalhos a campo vêm demostrando que a maior incidência e severidade dos enfezamentos ocorre no milho semeado tardiamente (OLIVEIRA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015b). Nesse sentido, vale destacar que nas áreas adjacentes ao experimento haviam outras lavouras de milho em diferentes estádios fenológicos (desde plantas recém-emergidas até plantas em estádio reprodutivo avançado), além de milho “tiguera”, o que pode ter favorecido a migração de cigarrinhas infectantes (OLIVEIRA et al., 2013; MOYA-RAYGOZA et al., 2014). Em adição, já foi documentado que *D. maidis* tem preferência em se alimentar sobre plantas assintomáticas em relação àquelas com sintomas aparentes de enfezamento-vermelho (GARCÍA-GONZALEZ et al., 2017).

Com base nos resultados obtidos nas duas safras conduzidos a campo na região em que o estudo foi desenvolvido, os genótipos 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 apresentam indicativos de expressão de resistência (antixenose) sobre adultos de *D. maidis*. Considerando-se os dados obtidos na safra de verão, 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. Nossos dados podem ser úteis aos programas de melhoramento genético de milho focando resistência a insetos vetores e patógenos envolvidos.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela concessão de bolsa ao primeiro autor do presente trabalho e pela concessão da bolsa de Produtividade em Pesquisa (nº 305649/2013-2) ao segundo autor. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

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

BARROS, T. S. et al. Design of a polymerase chain reaction for specific detection of corn stunt spiroplasma. **Plant Disease**, v. 85, p. 475-480, 2001.

BHIRUD, K. M.; PITRE, H. N. Bioactivity of systemic insecticides in corn: Relationship to leafhopper vector control and corn stunt disease incidence. **Journal of Economic Entomology**, v. 65, p. 1134-1140, 1972.

COLLINS, H. L.; PITRE, H. N. Corn stunt vector leafhopper attractancy to and oviposition preference for hybrid dent corn *Dalbulus maidis*. **Annals of the Entomological Society of America**, v.62, p. 770-772, 1969.

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.

COSTA, A. S.; KITAJIMA, E. W.; ARRUDA, S. C. Moléstias de vírus e de micoplasma do milho em São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, v. 4, p. 39-41, 1971.

COSTA, R. V. et al. Recomendação de cultivares de milho para a resistência a grãos ardidos. **Documentos/Embrapa Milho e Sorgo**, v.1, p. 8, 2010.

DOYLE, J. J.; DOYLE J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p. 13–15, 1990.

FEHR, W. R. **Principles of Cultivar Development**: Theory and Technique. Macmillan: New York, 1987.

GAILLARD, M. D. et al. Fine-tuning the 'plant domestication-reduced defense' hypothesis: specialist vs generalist herbivores. **New Phytologist**, v. 217, p. 355-366, 2017.

GARCÍA-GONZALEZ, J., GIRALDO-JARAMILLO, M., LOPES, J. R. S. (2018). Undetected infection by maize bushy stunt phytoplasma enhances host-plant preference to *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). **Environmental Entomology**, v. 47, p. 396-402, 2018.

GOMES, E. A., et al. Genetic variability of Brazilian phytoplasma and spiroplasma isolated from maize plants. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 61-65, 2004.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. **Annual review of entomology**, v. 43, p. 243-270, 1998.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone,1991.

LEE, I. M. Universal amplification, and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasmalike organisms**. Phytopathology**, v. 83, p. 834-842, 1993.

LOPES, J. R. S.; OLIVEIRA, C. M. Vetores de vírus e molicutes em milho em milho. In: Oliveira, E. de; Oliveira, C. M. Doenças em milho: molicutes, vírus, vetores, mancha por *Phaeosphaeria.* **Embrapa Milho e Sorgo**, p. 35-60, 2004.

MINITAB, I. **Minitab 16 Statistical Software PA Minitab, Inc, State Coll (2010) URL [Computer software]**. Disponível em: www.minitab.com. 2010.

MOYA-RAYGOZA, G.; HOGENHOUT, S. A.; NAULT, L. R. Habitat of the corn leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae) during the dry (winter) season in Mexico. **Environmental entomology**, v.36, p. 1066-1072, 2014.

MOYA-RAYGOZA, G. Comparison of Leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae) Diversity in maize and its wild ancestor teosinte, and plant diversity in the teosinte habitat. **Annals of the Entomological Society of America**, v.112, p. 99-106, 2018.

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

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

OLIVEIRA, C. M. D. Controle químico da cigarrinha-do-milho e incidência dos enfezamentos causados por molicutes. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, p. 297-303, 2007.

OLIVEIRA, C. M. D. Eficiência de inseticidas em tratamento de sementes de milho no controle da cigarrinha *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) em viveiro telado. **Ciência Rural**, v. 38, p. 231-235, 2008.

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

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

OLIVEIRA, E. Abundance of the insect vector of two different Mollicutes plant pathogens in the vegetative maize cycle. **Phytopathogenic Mollicutes**, v. 5, p. 117-118, 2015a.

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

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

RITCHIE, W. S. **How a corn plant develops. Iowa State University**. Special report n. 48, Ames. Disponível: www.maize.agron.iastate.edu/corngrows.html. Acesso em 01 jan. 2018.1993.

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

SMITH, C. M. Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches. **Springer Science & Business Media**, 2005.

TSAI, J. H., STEINBERG, B.; FALK, B. W. Effectiveness, and residual effects of seven insecticides on *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) and *Peregrinus maidis* (Homoptera: Delphacidae). **Journal of Entomological Science**, v. 25, p. 106-111, 1990.

TSAI, J. H. Bionomics of *Dalbulus Maidis* (DeLong and Wolcott), a Vector of Mollicutes and Virus (Homoptera: Cicadellidae). *In:* TSAI, J. H. **Mycoplasma Diseases of Crops**. New York, Springer, 1988, 209-221.

VAN DER MEIJDEN, E. Plant defence, an evolutionary dilemma: contrasting effects of (specialist and generalist) herbivores and natural enemies. *In*: VAN DER MEIJDEN, E. **Proceedings of the 9th International Symposium on Insect-Plant Relationships.** Springer, Dordrecht, 1996, 307-310.

VIRLA, E. G., CASUSO, M.; FRIAS, E. A. A preliminary study on the effects of a transgenic corn event on the non-target pest *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). **Crop protection**, v. 29, p. 635-638, 2010.

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

WAQUIL, J. M. **Corn leafhoppers as vectors of maize pathogens in Brazil**. Diagnosing maize diseases in Latin America. ISAAA, Ithaca/EMBRAPA, Brasilia, 34-42. Disponível em: http://www.isaaa.org/Resources/publications/briefs/09/download/isaaa-brief-09-1998.pdf#page=44. Acesso em: 16 jun. 2019. 1998.

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

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

CAPÍTULO 2

NÍVEIS VARIÁVEIS DE ANTIBIOSE E/OU ANTIXENOSE DE GENÓTIPOS DE MILHO *Bt* e não-*Bt* SOBRE *Dalbulus maidis* (HEMIPTERA: CICADELLIDAE)

Resumo

A cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) representa séria ameaça para a cultura do milho, ocasionando danos diretos e indiretos às plantas. O inseto está diretamente associado à incidência de doenças nas lavouras uma vez que é vetor dos patógenos espiroplasma *Spiroplasma kunkelli* Whitcomb (CSS) e do fitoplasma *Candidatus* Phytoplasma asteris (MBSP), molicutes causadores de enfezamentos no milho. Dentre os métodos de controle alternativos ao químico, o uso de genótipos resistentes a pragas e doenças apresenta-se como uma ferramenta valiosa para o manejo integrado de artrópodes e patógenos nas lavouras. Assim, o presente estudo teve como objetivo investigar a possível expressão de resistência por antixenose e/ou antibiose em 11 genótipos de milho previamente selecionados sobre *D. maidis* em casa de vegetação. Inicialmente foram realizados testes de preferência para oviposição sem chance de escolha, a fim de caracterizar a expressão de antixenose. Visando caracterizar a expressão de antibiose/antixenose, os insetos foram confinados à folhas dos diferentes genótipos, avaliando-se os parâmetros: duração dos estádios e do período ninfal, viabilidade por ínstar e total da fase ninfal e longevidade de adultos. Adicionalmente, análises morfológicas e físicas dos genótipos (densidade de tricomas, dureza da folha e nervura), foram feitas visando estabeler correlações com as categorias de resistência. 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 provavelmente esteja associada à resistência de alguns dos genótipos avaliados e configura-se como importante defesa morfológica contra *D. maidis*. Os resultados deste estudo são inéditos e podem auxiliar os programas de melhoramento genético de milho focando resistência a insetos sugadores, com impactos relevantes sobre o manejo integrado de pragas da cultura.

Palavras-chave: *Zea mays* L., cigarrinha-do-milho, resistência de plantas a insetos, fatores de resistência, MIP.

Abstract

The corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) poses a serious threat to the culture of corn, causing direct and indirect damage to plants. The insect is directly associated with the incidence of diseases in crops since it is a vector of the spiroplasma pathogens *Spiroplasma kunkelli* Whitcomb (CSS) and the phytoplasma *Candidatus* Phytoplasma asteris (MBSP), which cause red stunt. Among the control methods alternative to the chemical, the use of genotypes resistant to pests and diseases presents itself as a valuable tool for the integrated management of arthropods and pathogens in crops. Therefore, the present study aimed to investigate the possible expression of resistance by antixenosis and / or antibiosis in 11 corn genotypes previously selected on *D. maidis* in a greenhouse. Initially, preference tests for oviposition with no chance of choice were performed, in order to characterize the expression of antixenosis. In order to characterize an expression of antibiotic/antixenosis, the insects were confined to leaves of different genotypes, available for the parameters: duration of the periods and nymphal period, viability by star and total nymphal phase and adult longevity. Additionally, morphologicaland physical analyzes of the genotypes (trichome density, leaf hardness and rib) were carried out, aiming at establishing correlations with the resistance categories. 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 against *D. maidis*. The results of this study are unprecedented and can help maize breeding programs focusing on resistance to sucking insects, with relevant impacts on the integrated pest management of the crop.

Keywords: *Zea mays* L., leafhopper, plant and insect resistance, resistance factors, IPM.

2.1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos principais grãos cultivados em todo o mundo, com aplicações diversas que englobam desde à alimentação humana e animal, além de servir como matéria-prima para inúmeros produtos (combustível, cremes, fármacos, amido, xaropes), por se tratar de um cereal rico em carboidratos, fonte de óleo, fibras, vitaminas, ácido pantotênico e minerais (VELJKOVIĆA et al., 2018; LOY e LUNDY 2019). O Brasil ocupa o terceiro lugar entre os maiores produtores de milho no mundo ficando atrás somente dos Estados Unidos da América e China. A produção total brasileira estimada para a safra 2019/2020 é de 97.229,8 mil toneladas, com produtividade média de 5.508 kg/ha (CONAB, 2019). Apesar do grande potencial da cultura, o milho é seriamente prejudicado pelo ataque de insetos-praga que infestam as plantas desde a sua germinação até o final da fase reprodutiva.

A cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (Delong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), é uma praga específica para a cultura e é comumente encontrada na região neotropical, onde é considerada um dos principais vetores de patógenos para as plantas. Essa espécie é responsável pela transmissão de espiroplasma (*Spiroplasma kunkelli* Whitcomb) e fitoplasma (*Candidatus* Phytoplasma asteris), molicutes causadores de enfezamentos em lavouras de milho. Plantas infectadas pelos patógenos apresentam a capacidade de absorção de nutrientes comprometida e, consequentemente, redução no índice de crescimento e produtividade de grãos (Oliveira et al. 2002). Esses fitopatógenos são específicos do milho e podem ocasionar perdas de até 100 % nas lavouras (NAULT, 1980; OLIVEIRA et al., 2005).

O controle de *D. maidis* é feito principalmente por meio de tratamento de sementes e de pulverizações via foliar com inseticidas sintéticos. No entanto, além dos possíveis efeitos indesejáveis associados ao uso abusivo de inseticidas são crescentes os relatos de ineficiência de moléculas registradas para o artrópode. Nesse sentido, estudos a campo demostraram não haver diferenças significativas quanto à incidência dos enfezamentos em plantas que receberam tratamento de sementes e/ou aplicação foliar com inseticidas recomendados (OLIVEIRA et al., 2007), confirmando a baixa eficiência destas práticas. Além disso, a cigarrinha-do-milho possui alta capacidade de migração entre as lavouras adjacentes, tornando, em alguns casos, inevitável a transmissão dos patógenos (OLIVEIRA et al., 2013).

O uso de genótipos resistentes a pragas é considerado um método de controle eficiente e capaz de manter a população de pragas em níveis de equilíbrio, além de ser compatível com as principais táticas do manejo integrado de pragas (MIP) e contribuir para a redução do uso de produtos fitossanitários nas lavouras (LARA, 1991; SMITH, 2005; BALDIN et al., 2019). A resistência de uma determinada planta frente ao ataque de um inseto pode ser dividida em três categorias: antixenose, antibiose e tolerância (PAINTER, 1951; SMITH, 2005). Na antixenose, fatores morfológicos, físicos ou químicos presentes nas plantas comprometem a oviposição, alimentação, locomoção ou permanência sobre a mesma. A antibiose ocorre quando o inseto tenta colonizar normalmente a planta, porém esta exerce efeitos deletérios sobre sua biologia e o desenvolvimento do inseto (PANDA e KLUSH, 1995). Apesar de existirem alguns trabalhos que selecionaram genótipos de milho comerciais promissores contra *D. maidis* (COLLINS e PITRE, 1969; TSAI, 1988; WAQUIL, 1998; ZURITA et al., 2000), ainda não foram constatados elevados níveis de resistência nos materiais. Além disso, a maioria desses estudos avaliou um germoplasma limitado (baixa variabilidade genética), diferentemente do presesnte estudo.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a preferência para oviposição, além de parâmetros biológicos de *D. maidis* confinados a 11 genótipos convencionais ou transgênicos, visando caracterizar a expressão de antibiose e/ou antixenose.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas e casa-de-vegetação, pertencentes ao Departamento de Proteção Vegetal, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP.

Obtenção dos genótipos

Os onze genótipos de milho (Tabela 1) foram selecionados a partir dos resultados obtidos nas avaliações de infestação por ninfas e adultos nos ensaios de campo (Capítulo 1) e também considerando-se a disponibilidade de sementes.

Tabela 1. Nome, características e origens dos 11 genótipos de milho avaliados quanto à resistência a *D. maidis*.

Genótipo	Características	Empresa
60XB14	Híbrido simples (HS), convencional.	Semeali®
90XB06	Híbrido simples modificado (HSM), convencional.	
XB 9003	Híbrido simples (HS), convencional.	
XB 7116 *Bt*	Hibrido triplo (HT), possui a proteína Cry1Ab, conferindo resistência a insetos da ordem Lepidoptera.	
XB 8018	Híbrido duplo (HD), convencional.	
XB 8010	Híbrido duplo (HD), convencional.	
XB 8010 *Bt*	Híbrido duplo (HD), possui a proteína Cry1Ab, conferindo resistência a insetos da ordem Lepidoptera.	
IAC 8390	Convencional.	IAC
IAC 8046	Convencional.	
IAC AIRAN	Convencional.	
DKB 310 VTPRO3	Possui as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 conferindo resistência a insetos da ordem Lepidoptera e Cry3Bb conferindo resistência a larva alfinete e tolerância ao herbicida glifosato.	Bayer®

Antes de serem utilizados nos ensaios os genótipos foram cultivados em vasos de 5 L, contendo a mistura de terra (latossolo vermelho escuro), areia, esterco curtido, autoclavados na proporção 1:1:1 (v/v/v) e substrato comercial (Tropstrato®), na proporção de 3:1 (v/v). As plantas foram acondicionadas em casa de vegetação livre de outros insetos e fitopatógenos e receberam adubação recomendada para a cultura (Malavolta 2006). Quando as plantas atingiram o estádio fenológico V4-V5 (Ritchie et al. 1993), foram disponibilizadas para os ensaios.

Criação estoque de *D. maidis*

Para o início da criação, adultos de *D. maidis* isentos de molicutes foram cedidos pelo Laboratório de Insetos Vetores de Fitopatógenos, junto ao Departamento de Entomologia e Acarologia da Esalq/USP. Foram utilizadas gaiolas de alumínio (60 × 30 × 30 cm) revestidas com tela anti-afídeo branco, as quais foram mantidas em casa de vegetação semelhantes às descritas por Lopes e Oliveira (2004). As gaiolas foram divididas em dois grupos; um visando a obtenção de ovos e outro visando a manutenção de ninfas e adultos (crescimento). Para a obtenção de ovos, foram acondicionados vasos contendo plantas de milho sadias (var. AL-Bandeirante) em estádio V4 durante 3 a 7 dias. Após esse período, as plantas ovipositadas foram

transferidas para as gaiolas de crescimento, onde permaneceram até a eclosão das ninfas, o que ocorreu cerca de 12 dias após a oviposição. Outras plantas sadias foram periodicamente acondicionadas nessas gaiolas de crescimento para a alimentação dos insetos. As ninfas permaneciam nessas gaiolas até atingirem a fase adulta e, quando os adultos alcançavam a maturação sexual, eram transferidos para as gaiolas de oviposição, dando continuidade ao processo de criação. Todas as plantas utilizadas receberam os tratos culturais normalmente recomendados para a cultura e foram irrigadas diariamente ou conforme a necessidade.

Ensaio de oviposição sem chance de escolha

Esse ensaio teve como objetivo verificar a possível antixenose (oviposição) dos materiais sobre a cigarrinha. Para tanto, os genótipos de milho foram semeados conforme descrito para a criação e acondicionados em casa de vegetação (T= 25ºC, com máxima de 40,7ºC e mínima de 19,0 ºC; U.R.= 60 ± 10% e luz natural). Quando as plantas atingiram o estádio fenológico V4-V5, uma folha totalmente expandida de cada planta foi infestada com duas fêmeas previamente fecundadas de *D. maidis*. Para o confinamento dos insetos, foram utilizadas pequenas gaiolas (15 cm × 20 cm) confeccionadas em tecido organdi. Cada folha infestada foi considerada uma repetição, num total de 10 por genótipo, em delineamento inteiramente casualizado.

As avaliações de oviposição foram realizadas oito dias após a infestação (DAI). Para isso, as folhas foram destacadas das plantas e a contagem dos ovos realizada sobre o limbo e as nervuras com auxílio de um microscópio estereoscópico (30 x).

Ensaio de antibiose

O desempenho biológico de *D. maidis* nos 11 genótipos de milho foi avaliado em casa de vegetação (T= 25ºC, com máxima de 38,8ºC e mínima de 7,5ºC; U.R.= 60 ± 10% e luz natural), visando caracterizar a possível expressão de resistência por antibiose e/ou antixenose. Assim, ninfas de 1º ínstar foram acondicionadas sobre folhas dos genótipos, quando às plantas apresentavam no estádio fenológico V4-V5, com auxílio de um pincel fino e posteriormente isoladas dentro de gaiolas tipo “clip cage”, conforme descrito em estudos com afídeos (BALDIN et al., 2016). Foram avaliadas seis ninfas por planta e cinco plantas por genótipo (n= 30). Cada planta contendo seis ninfas confinadas foi considerada uma repetição (total de cinco), em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Diariamente, sempre no período da manhã, os insetos foram avaliados quanto às suas características biológicas. Para tanto, a parte superior das “clip cages” era cuidadosamente deslocada, permitindo a observação da parte interna das gaiolas, similar ao descrito por outros autores (WAQUIL, 1999; ZURITA et al., 2000). A constatação da mudança dos ínstares dos insetos foi pautada na presença das respectivas exúvias. Os insetos foram avaliados quanto aos seguintes parâmetros biológicos: duração dos estádios e do período ninfal, viabilidade por ínstar e total da fase ninfal e longevidade de adultos (confinados ao material de origem).

Análise de tricomas

Para a quantificação e discriminação dos tricomas existentes nos genótipos de milho, os materiais foram cultivados em vasos, conforme descrito anteriormente e sob as mesmas condições descritas para o ensaio de oviposição.

As avaliações foram realizadas quando as plantas atingiram o estádio fenológico V4-V5, retirando-se cinco folhas totalmente expandidas de três pontos diferentes da parte adaxial (terços inferior, médio e superior). A contagem dos tricomas foi realizada sobre 1 cm² da parte adaxial das folhas, com auxílio de um molde transparente (1 × 1 cm) e microscópio estereoscópico (40 x). A classificação dos tricomas foi feita com base no trabalho de Glas et al. (2012). Cada folha amostrada foi considerada uma repetição, num total de 15 por genótipo em delineamento inteiramente casualisado.

Análise de dureza

Simultaneamente ao ensaio de antibiose e/ou antixenose, outras plantas dos genótipos foram cultivadas para a determinação da dureza das folhas e nervuras. As análises foram realizadas em analisador de textura CT3 (Brookfield; Middleboro, Massachusetts, USA), calibrado para a profundidade de penetração de 3 mm a uma velocidade de 2,0 mm s^{-1}, com um ponto TA 9/1000. Os resultados são expressos em gramas-força por centímetros (gf/cm), representando a força máxima necessária para o rompimento da folha, simulando a atividade de *D. maidis* durante a alimentação e posturas endofíticas. A padronização para ambos os genótipos foi a parte mediana de cada folha. Foram realizadas duas perfurações nas nervuras e outras duas no limbo foliar (parte mediana). Ao todo foram amostradas cinco folhas de cada genótipo

totalizando 10 orifícios por região (nervuras e folhas). Cada orifício representou uma repetição por região (total de 10), em delineamento inteiramente casualizado.

Análise estatística

Os dados foram analisados por meio de estatística não-paramétrica, sendo submetidos ao teste de Kruskal-Wallis rank ($p < 0,05$), empregando-se o software Minitab 16 (MINITAB, 2010).

2.3 RESULTADOS

Os genótipos 90XB06 (9 ovos), IAC 8390 (13,5 ovos), XB 9003 (20 ovos) e DKB 310 PRO3 (21 ovos) apresentaram os menores índices de oviposição, diferindo de XB 7116 *Bt* (75,5 ovos) que foi o mais ovipositado (Figura 1). IAC 8046 (25,50 ovos), IAC AIRAN (26) e 60XB14 (36) apresentaram valores médios intermediários de ovos de *D. maidis*.

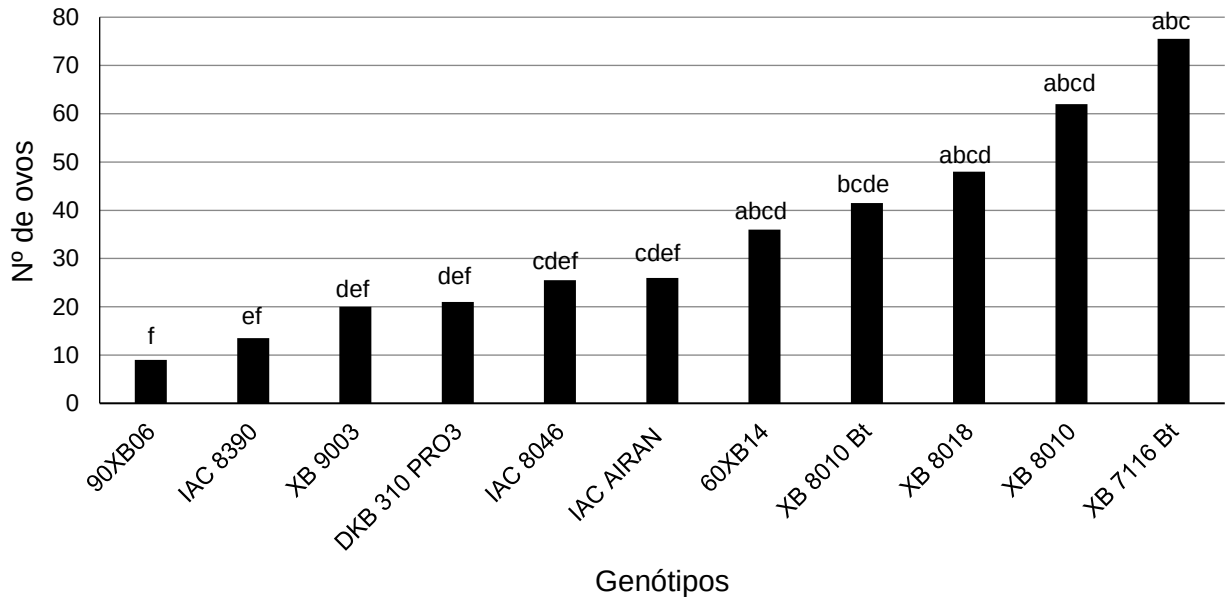

Figura 1. Medianas da oviposição de *D. maidis* em 11 genótipos de milho em teste sem chance de escolha. Barras contendo mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis rank (p >0,05).

Os genótipos com maior densidade de tricomas/cm^2 foram IAC AIRAN (71,00) e 90XB06 (65,00), os quais diferiram significativamente dos demais genótipos (52,00 a 38,00), com exceção de 60XB14 (57,00) (Tabela 2). Com base na tipificação proposta por Glas et al. (2012), todos os tricomas verificados nos genótipos de milho foram classificados como do tipo V, ou seja, não-glandulares e com base unicelular plana. Não foram verificadas diferenças entre os materiais com relação à dureza das folhas; no entanto, maiores índices de dureza nas nervuras foram constatados em 60XB14 (0,22 gf/cm), 90XB06 (0,20), IAC 8046 (0,20), IAC AIRAN (0,19), IAC 8390 (0,19), DKB 310 PRO3 (0,18), XB 8018 (0,17) e XB 8010 (0,16), os quais diferiram de XB 7116 *Bt* (0,11).

Tabela 2. Medianas de dureza (gf/cm) de folhas e nervuras e densidade (nº/cm2) de tricomas de 11 genótipos de milho.

Genótipos[1]	Nº tricomas/cm²	Dureza da folha (gf/cm)	Dureza da nervura (gf/cm)
IAC AIRAN	71,00 a (101; 40)	0,03 a (0,070; 0,020)	0,19 a (0,230; 0,140)
90XB06	65,00 a (95; 51)	0,03 a (0,120; 0,020)	0,20 a (0,310; 0,110)
60XB14	57,00 abc (77; 21)	0,03 a (0,040; 0,020)	0,22 a (0,300; 0,150)
XB 8018	52,00 bcd (85; 0)	0,02 a (0,040; 0,020)	0,17 a (0,210; 0,050)
XB 7116 *Bt*	52,00 bcd (82; 30)	0,03 a (0,050; 0,010)	0,11 b (0,200; 0,040)
IAC 8046	49,00 bcde (109; 30)	0,03 a (0,060; 0,020)	0,20 a (0,240; 0,120)
DKB 310 PRO3	49,00 cdef (77; 5)	0,03 a (0,040; 0,020)	0,18 a (0,220; 0,110)
XB 8010 *Bt*	42,00 cdef (67; 31)	0,03 a (0,070; 0,010)	0,14 ab (0,190; 0,110)
XB 8010	42,00 cdef (68; 28)	0,02 a (0,030; 0,020)	0,16 a (0,190; 0,140)
XB 9003	38,00 defg (76; 31)	0,03 a (0,100; 0,020)	0,16 ab (0,180; 0,120)
IAC 8390	38,00 fg (80; 14)	0,02 a (0,040; 0,020)	0,19 a (0,300; 0,180)
P	< 0,0001	0,8391	< 0,0001

[1]Medianas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis rank (p >0,05).

Com relação aos períodos de duração da fase imatura e longevidade de adultos, constatou-se diferença significativa entre os materiais apenas para o primeiro ínstar ninfal (Tabela 3). O genótipo 60XB14 foi o que mais prolongou essa fase (5,75 dias), seguido por XB 8010 (3,83 dias) e XB 8010 *Bt* (3,50 dias). De maneira oposta, os menores períodos de duração foram verificados em XB 9003 (1,83 dias) e DKB 310 PRO 3 (2,50 dias). O período ninfal e longevidade de adultos não diferiram entre si.

Tabela 3. Medianas de duração (dias) por ínstar, período total ninfal e longevidade de Dalbulus maidis em 11 genótipos de milho.

Genótipos[1]	1º ínstar	2º ínstar	3º ínstar	4º ínstar	5º ínstar	Período ninfal	Longevidade
60XB14	5,75 a [2](8,00; 5,50)	3,00 (4,00; 2,00)	4,00 (5,00; 3,00)	4,00 (7,00; 1,00)	5,50 (7,50; 4,00)	21,50 (24,50; 16,00)	6,00 (7,00; 4,00)
XB 8010	3,83 ab (4,33; 2,83)	3,40 (5,00; 3,00)	3,83 (4,50; 3,20)	3,80 (4,60; 3,33)	6,00 (8,00; 4,33)	20,63 (22,41; 20,60)	6,25 (13,00; 3,50)
XB 8010 *Bt*	3,50 ab (3,80; 3,00)	3,50 (3,66; 3,33)	3,83 (4,60; 3,33)	3,83 (4,40; 2,83)	6,67 (7,40; 5,66)	21,33 (23,40; 19,86)	9,75 (12,25; 8,50)
XB 7116 *Bt*	4,00 abc (5,60; 2,00)	3,50 (3,83; 2,50)	3,67 (4,33; 2,66)	4,33 (6,33; 4,16)	6,25 (7,00; 5,83)	21,00 (26,08; 19,45)	5,00 (7,25; 2,50)
IAC 8390	3,50 abcd (3,75; 2,33)	3,25 (4,00; 2,60)	3,00 (3,50; 2,50)	4,00 (5,50; 2,66)	5,00 (7,00; 1,00)	17,93 (20,50; 15,75)	8,00 (8,00; 8,00)
XB 8018	3,00 abcd (3,66; 3,00)	3,50 (4,66; 3,00)	4,00 (6,00; 2,80)	3,75 (5,66; 2,83)	6,50 (7,00; 6,00)	21,37 (23,16; 19,33)	6,00 (12,50; 1,00)
IAC AIRAN	3,00 bcd (3,33; 1,80)	4,00 (6,00; 3,50)	3,33 (4,66; 2,50)	4,50 (5,00; 3,50)	6,50 (7,50; 6,00)	20,00 (22,08; 15,75)	4,00 (6,00; 3,33)
IAC 8046	3,00 bcd (3,50; 1,00)	4,00 (4,66; 3,50)	4,08 (5,00; 3,00)	3,67 (7,00; 3,00)	5,00 (6,50; 4,50)	15,50 (23,50; 6,46)	6,00 (8,00; 3,00)
90XB06	2,17 bcd (3,00; 1,33)	4,20 (5,25; 2,50)	4,50 (5,50; 2,66)	3,00 (6,50; 1,33)	5,50 (10,00; 4,00)	16,33 (29,53; 11,00)	7,50 (12,00; 2,00)
DKB 310 PRO 3	2,50 cd (3,25; 1,75)	3,80 (3,83; 3,66)	3,00 (3,20; 2,66)	3,80 (4,80; 3,60)	6,20 (7,20; 5,00)	20,03 (20,63; 17,26)	3,00 (11,50; 2,00)
XB 9003	1,83 d (2,60; 1,16)	4,00 (5,00; 3,60)	5,50 (10,00; 3,33)	3,25 (6,00; 1,00)	3,00 (3,00; 3,00)	17,17 (23,33; 10,93)	7,00 (8,66; 2,00)
P	0,0188	0,3655 n.s.	0,0557 [3]n.s.	0,7311 n.s.	0,6422 n.s.	0,1786 n.s.	0,2742 n.s.

[1]Medianas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis rank (p >0,05). [2]Amplitude das repetições (máxima; mínima). [3] n. s. (não significativo).

Verificou-se significativo gradiente na viabilidade dos insetos durante o primeiro ínstar ninfal de *D. maidis*. Os genótipos 60XB14 (40,00%), 90XB06 e IAC 8046 (50,00%) se destacaram com os menores índices, enquanto que XB 8010, XB 8010 *Bt*, DKB 310 PRO 3 e XB 7116 *Bt* possibilitaram que 100 % das ninfas atingissem o instar subsequente (Tabela 4). Não foram verificadas diferenças significativas entre os genótipos quanto às viabilidades do segundo, terceiro, quarto e quinto ínstares. Quanto à viabilidade de toda a fase ninfal, os genótipos IAC 8046 (16,67 %), IAC 8390, 90XB06 (20,00 %) e 60XB14 (25,00 %) apresentaram as menores viabilidades, diferindo significativamente de XB 7116 *Bt*, XB 8010 e XB 8010 *Bt*, que tiveram índices de 75,00 % e 66,67 %, respectivamente (Tabela 4).

Foram constatados coeficientes de correlação significativos apenas para os parâmetros número de ovos x dureza de nervura e viabilidade ninfal x dureza de nervura (Tabela 5 e Figuras 2 e 3). Para os demais parâmetros não foram verificadas correlações significativas.

Tabela 4. Medianas de viabilidade (%) por ínstar e total ninfal de Dalbulus maidis em 11 genótipos de milho.

Genótipos[1]	1º ínstar	2º ínstar	3º ínstar	4º ínstar	5º ínstar	Viabilidade ninfal (%)
XB 8010	100,00 a [2](100; 83,33)	100,00 (100; 100)	100,00 (100; 75)	83,33 (100; 60)	80,00 (100; 33,33)	66,67 ab (75; 20)
XB 8010 *Bt*	100,00 a (100; 100)	100,00 (100; 100)	100,00 (100; 83)	100,00 (100; 60)	100,00 (100; 66,67)	66,67 a (100; 50)
DKB 310 PRO 3	100,00 a (100; 100)	100,00 (100; 83,33)	100,00 (100; 100)	100,00 (100; 80)	50,00 (60; 50)	50,00 abc (50; 40)
XB 7116 *Bt*	100,00 ab (100; 83,33)	100,00 (100; 83,33)	100,00 (100; 75)	100,00 (100; 80)	100,00 (100; 66,67)	75,00 a (100; 40)
XB 9003	80,00 abc (100; 16,67)	80,00 (100; 66,67)	100,00 (100; 100)	100,00 (100; 0)	100,00 (100; 50)	40,00 abc (100; 0)
IAC AIRAN	80,00 abc (100; 66,67)	100,00 (100; 75)	100,00 (100; 50)	100,00 (100; 0)	62,50 (100; 0)	33,33 abc (100; 0)
IAC 8390	80,00 abc (100; 33,33)	100,00 (100; 40)	100,00 (100; 50)	100,00 (100; 0)	50,00 (100; 0)	20,00 c (20; 0)
XB 8018	60,00 abc (100; 60)	100,00 (100; 66,67)	100,00 (100; 50)	100,00 (100; 50)	100,00 (100; 25)	25,00 abc (100; 20)
IAC 8046	50,00 bc (100; 25)	100,00 (100; 0)	100,00 (100; 100)	66,67 (100; 50)	100,00 (100; 50)	16,67 c (66,67; 0)
90XB06	50,00 c (83,33; 33,33)	100,00 (100; 66,67)	100,00 (100; 66.67)	100,00 (100; 100)	100,00 (100; 100)	20,00 bc (66.67; 0)
60XB14	40,00 c (83,33; 16.67)	100,00 (100; 60)	100,00 (100; 60)	50,00 (100; 0)	100,00 (100; 100)	25,00 bc (50; 0)
P	0,0054	0,3041 n. s.	0,4993 n. s.	0,6518 n. s.	0,0687 n. s.	0,0245

[1]Médianas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis (p >0,05). [2]Amplitude das repetições (máxima; mínima). [3] n. s. (não significativo).

Tabela 5. Coeficientes de correlação de Pearson (r) envolvendo oviposição de D. maidis, viabilidade ninfal e características morfológicas em 11 genótipos de milho.

Parâmetro	Coeficiente de correlação
Ovo × tricomas	-0,024
Ovo × dureza da folha	-0,429
Ovo × dureza da nervura	-0,681**
Viabilidade ninfal × dureza da folha	-0,003
Viabilidade ninfal × dureza da nervura	-0,882**

**significativo a 5% de probabilidade

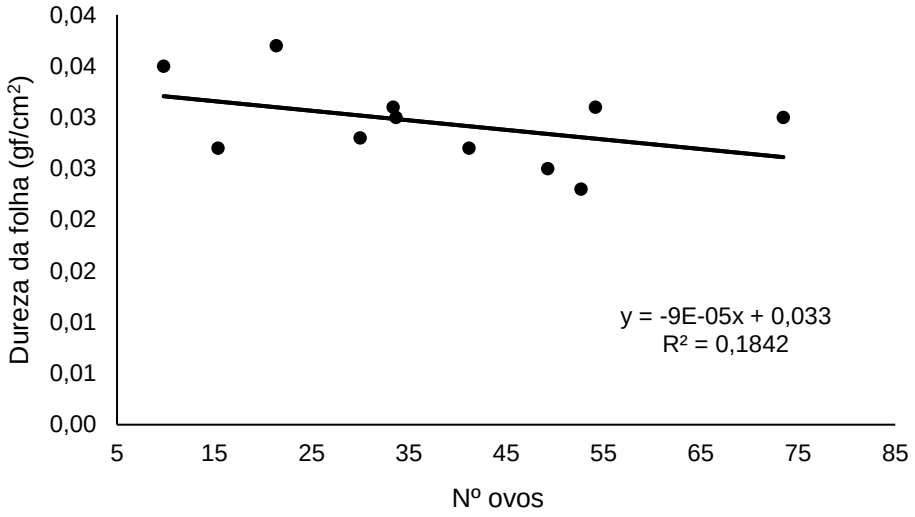

Figure 1. Correlação entre oviposição de *Dalbulus maidis* e dureza da folha em 11 genótipos de milho.

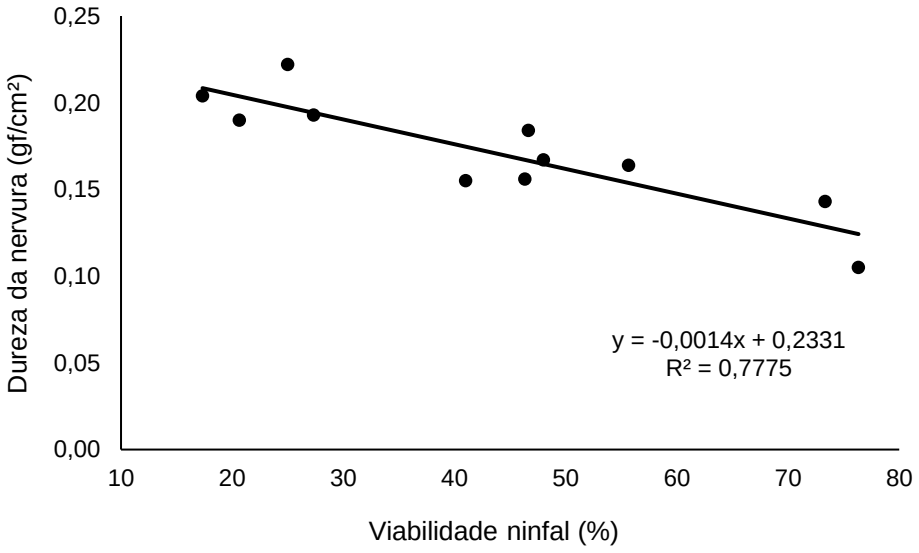

Figure 2. Correlação entre viabilidade ninfal de *Dalbulus maidis* e dureza de nervura em 11 genótipos de milho.

2.5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos ensaios de casa de vegetação são inéditos para a cigarrinha *D. maidis* e revelaram que alguns dos genótipos de milho avaliados expressam variáveis níveis de resistência sobre o inseto, reduzindo os índices de oviposição, além de comprometerem o período de desenvolvimento e a viabilidade da fase imatura. Aspectos físicos, químicos e morfológicos presentes em diferentes cultivares de uma mesma espécie podem influenciar a sobrevivência, reprodução e desenvolvimento de artrópodes-praga (LARA, 1991; PANDA e KHUSH, 1995), conforme documentado para diferentes espécies de insetos sugadores em várias culturas de interesse econômico (ZURITA et al., 2000; SILVA et al., 2014; CANASSA et al., 2017; SOUZA et al., 2017; BALDIN et al., 2018; DOMINGOS et al., 2018).

Dalbulus maidis oviposita sob a camada da epiderme do limbo foliar (posição horizontal), ou na nervura central (posições horizontal ou vertical) em linhas paralelas isoladamente e/ou em grupos de cinco ou seis ovos (HEADY et al., 1985; NAULT, 1985). Neste estudo, os genótipos 90XB06, IAC 8390, XB 9003 e DKB 310 PRO3 foram os menos ovipositados, indicando a expressão de antixenose. Trabalhos com diferentes espécies de plantas do gênero *Zea* (híbrido de milho comercial, balsa teosinto, teosinto perene selvagem) demonstraram que materiais com maior tenacidade e presença de tricomas curtos eram menos ovipositados por *D. maidis* (BELLOTA et al., 2013). No entanto, isso não ocorre via de regra, uma vez que ensaios realizados com teosinto perene (*Zea diploperennis* Iltis, Doebley, Guzmán), balsas teosinte (*Zea mays parviglumis* Iltis, Doebley) e um hibrido comercial demonstraram não haver diferenças significativas para oviposição, alimentação e desenvolvimento de *D. maidis* (BELLOTA et al., 2018). No presente estudo foi verificada correlação negativa e significativa entre oviposição e dureza das folhas, sugerindo a ação deste fator morfológico na redução de ovos de *D. maidis.* Isso pode justificar a baixa oviposição nos genótipos 60XB14, IAC 8046, DKB 310 PRO3 e IAC 8390, uma vez que estes materiais se destacaram com elevadas medianas de dureza.

A barreira física constituinte de uma planta e que dificulta a alimentação, oviposição e o desenvolvimento normal de um artrópode-praga é considerada uma defesa norfológica (LARA, 1991; SMITH, 2005; BALDIN et al., 2019). Paredes celulares das plantas que são reforçadas com macromoléculas como a celulose, lignina, suberina e calose associadas às fibras do esclerênquima, tornam a planta

resistente à penetração por insetos sugadores e dilaceração por mastigadores, bem como dificulta a penetração de ovipositores (ARORA E SANDHU, 2017). Com o pulgão *Aphis glycines* (Matsumura) (Hemiptera: Aphididae) foi verificado que altas concentrações de lignina nas folhas de soja representam importantes mecanismos de defesa das plantas contra o inseto (Hu et al. 1993). Em soja, constatou-se que a dureza das vagens afeta diretamente a alimentação do percevejo *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) (SILVA et al., 2014).

Embora tenha sido verificada diferença entre o número de tricomas presentes nas folhas dos genótipos, não houve correlação significativa entre este fator e a oviposição de *D. maidis.* A densidade de tricomas pode dificultar a oviposição, caminhamento e alimentação dos insetos fazendo com que eles abandonem uma determinada planta (VENDRAMIM e NISHIKAWA, 2001), mas também podem estimular este comportamento em outras (BALDIN et al., 2019).

Até o presente momento, um pequeno número de estudos avaliou a influência de diferentes genótipos de milho sobre *D. maidis* (TSAI, 1988; WAQUIL et al., 1999; ZURITA et al., 2000); no entanto esses trabalhos tiveram como foco principal a caracterização de aspectos biológicos e/ou preferência entre hospedeiros, mas não a seleção de materiais portadores de resistência. Em trabalho que comparou a performance do inseto confinado a plantas de milho ou sorgo, constatou-se que *D. maidis* se desenvolve favoravelmente em milho e que o sorgo não é um hospedeiro adequado à sua biologia (WAQUIL et al., 1999). Em outro estudo, foi investigada a duração da fase ninfal da cigarrinha confinada a seis híbridos de milho, constatando-se ligeiro prolongamento em Pioneer 3027 (27,1 dias), material considerado mais promissor na comparação com os demais (ZURITA et al., 2000).

O presente estudo revelou que o genótipo 60XB14 ocasiona o prolongamento do primeiro ínstar de *D. maidis* (5,7 dias), sugerindo a expressão de resistência. Esse valor é semelhante ao reportado por Zurita et al. (2000) para ninfas de quarto ínstar que se alimentaram em Pioneer 3027. O prolongamento das fases ninfais pode ser atribuído à presença de compostos químicos que podem ocasionar efeitos deletérios sobre a biologia do inseto (antibiose) ou inibir a alimentação do mesmo, exigindo assim mais tempo para que o inseto adquira fontes de energia necessárias para passar para o ínstar seguinte (antixenose) (SMITH, 2005; BALDIN et al., 2019). De maneira oposta, o genótipo XB 9003 apresentou a menor duração no primeiro ínstar ninfal. As medianas (1,83-2,50 dias) verificadas nos genótipos XB 9003, DKB 310

PRO 3 e 90XB06 são semelhantes às médias relatadas por outros autores para o primeiro ínstar de *D. madis* (MARÍN et al.,1987; WAQUIL et al., 1999).

Embora as medianas de duração dos demais ínstares, período ninfal e longevidade não tenham indicado diferenças significativas entre os genótipos, a viabilidade do primeiro ínstar de *D. maidis* foi comprometida quando os insetos foram confinados em 60XB14 (40,00 %), 90XB06 (50,00 %) e IAC 8046 (50,00 %), indicando a presença de fatores de resistência, responsáveis por efeitos adversos à biologia e consequente mortalidade. Com relação à viabilidade total da fase imatura, esses três materiais, além de XB8018 e IAC 8390 ocasionaram elevados índices de mortalidade do inseto, com viabilidades entre 16,67 e 25,00 %, confirmando a expressão de antibiose e/ou antixenose sobre *D. maidis*. Similar ao já discutido para a duração do primeiro ínstar ninfal, elevados índices de mortalidade na fase jovem sugerem inicialmente a expressão de antibiose; contudo, essa categoria frequentemente se sobrepõe à antixenose e sua correta distinção requer ensaios específicos que permitam quantificar o alimento ingerido pelo inseto (BALDIN et al., 2019).

Embora não tenha sido feita a caracterização química dos genótipos, uma variedade de compostos pode estar envolvida na expressão de resistência de milho a artrópodes, incluindo maizina, quercetina, DIMBOA, MBOA e ácidos fenólicos (SHAVER e LUKEFAHR, 1969; WAISS et al., 1979; SERRATOS et al., 1987; MEYER 1988). Em adição, produtos de oxidação enzimática, a partir da ação de peroxidases e tirosinase podem ser altamente tóxicos a *D. maidis* (DOWD e VEJA, 1996). A inclusão dessas análises químicas em futuros trabalhos deverá auxiliar na distinção das categorias de resistência existentes. Por outro lado, a correlação negativa e significativa entre viabilidade ninfal e dureza da nervura sugere que esse fator morfológico pode ser o principal responsável pelos baixos índices de viabilidade ninfal em 90XB06, 60XB14, XB8018, IAC 8046 e IAC 8390.

Ainda com relação ao genótipo 60XB14, ensaios prévios de campo (Capítulo 1) indicaram que o material apresenta menos sintomas de enfezamentos em comparação com os demais genótipos estudados. Esse mesmo material, juntamente com IAC 8046, já havia demonstrado resistência à ferrugem polissora (*Puccinia polysora* Underw) (DUDIENAS et al. 2017), sugerindo a presença de fatores de resistência. O genótipo IAC 8046 também já foi anteriormente citado como portador de antixenose sobre *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) (BUENO, 2019).

Nos ensaios a semi-campo, conclui-se que os genótipos 90XB06, IAC 8390, XB 9003 e DKB 310 PRO3 expressam antixenose sobre *D. maidis*, reduzindo a oviposição do inseto. A maior dureza das folhas está provavelmente associada à resistência verificada em DKB 310 PRO3 e IAC 8390. Os genótipos 60XB14, 90XB06, IAC 8046, XB8018 e IAC 8390 expressam antibiose e/ou antixenose contra o inseto, reduzindo a viabilidade da fase imatura. A dureza das nervuras está possivelmente relacionada aos baixos índices de viabilidade em 90XB06, 60XB14, IAC 8046 e IAC 8390. Os resultados deste estudo são pioneiros e podem servir como base para a escolha de materiais a serem cultivados a campo, bem como direcionar programas de melhoramento genético de milho focando resistência a insetos sugadores.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela concessão de bolsa ao primeiro autor do presente trabalho e pela concessão da bolsa de Produtividade em Pesquisa (nº 305649/2013-2) ao segundo autor. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

ARORA, R.; SANDHU, S. Insect-Plant interrelationships. In: **Breeding insect resistant crops for sustainable agriculture**. Springer, Singapore. p. 1-44, 2017.

BALDIN, E. L. L. et al. Evaluating categories of resistance in soybean genotypes from the United States and Brazil to *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae). **Florida Entomologist**, v. 99, p. 487-495, 2016.

BALDIN, E. L. L. et al. Feeding behavior of *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae) on soybeans exhibiting antibiosis, antixenosis, and tolerance resistance. **Florida Entomologist**, v. 101, p. 223–228, 2018.

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

BELLOTA, E.; DÁVILA-FLORES A.; BERNAL J. S. A bird in the hand versus two in the bush? The specialist leafhopper *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) Does not discriminate against sub-optimal host plants (*Zea* spp.). **Neotropical Entomology**, v. 47, p. 171–180, 2018.

BELLOTA, E.; MEDINA R. F.; BERNAL J. S. Physical leaf defenses - altered by *Zea* life-history evolution, domestication, and breeding - mediate oviposition preference of

a specialist leafhopper. **Entomologia Experimentalis et Applicata**,v. 149, p. 185-195, 2013.

BUENO, N. M. **Resistência de genótipos de milho a *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) e caracterização de injúrias de percevejos em plântulas de milho**. 2019. Tese (Doutorado em Agronomia/ Proteção de Plantas) – Faculdade Ciências Agronômicas, Universidade Paulista, Botucatu, 2019. Disponível em: http://hdl.handle.net/11449/182562. Acesso em: 8 dez. 2019.

CANASSA, V. F. et al. Characterization of antixenosis to *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) in soybean genotypes. **International Journal of Pest Management**, v. 63, p. 112–118, 2016.

COLLINS, H. L.; PITRE H. N. Corn stunt vector leafhopper attractancy to and oviposition preference for hybrid dent corn. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 62, p. 773–775, 1969.

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.

DOMINGOS, G. M. et al. Resistance of collard green genotypes to *Bemisia tabaci* biotype B: Characterization of antixenosis. **Neotropical Entomology**, v. 47, p. 560–568, 2018.

DOWD, P. F.; VEGA, F. E. Enzymatic oxidation products of allelochemicals as a basis for resistance against insects: Effects on the corn leafhopper *Dalbulus maidis*. **Natural Toxins**, v. 4, p. 85–91, 1996.

DUDIENAS, C. et al. **Severity of *Puccinia polysora* Underw**. In: Corn in São Paulo state, in 2015/2016 harvest. XL Congresso Paulista de Fitopatologia, pp 1-6 2017.

GLAS, J. J. et al. Plant glandular trichomes as targets for breeding or engineering of resistance to herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 17077–17103, 2012.

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, p. 723–727, 1985.

HU, Q.; ZHAO, J.; CUI, D. Relationship between content of secondary catabolite-lignin-in soybean and soybean resistance to the soybean aphid. **Plant Prot**, v. 19 p. 8–9, 1993.

LARA, F. M. Princípios de resistência de plantas a insetos. **Ícone**, São Paulo, 1991

LOPES, J. R. S.; OLIVEIRA, C. M. Vetores de vírus e molicutes em milho em milho. In: OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M. Doenças em milho: molicutes, vírus, vetores, mancha por *Phaeosphaeria.* **Embrapa Milho e Sorgo**, p. 35-60, 2004.

LOY, D. D.; LUNDY, E. L. (2019) Nutritional properties and feeding value of corn and its coproducts. 3º ed. **AACC International** p. 633-659, 2019.

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. **Agronômica Ceres**, Ouro Fino, Minas Gerais, 2006.

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

MEYER, L. Role of cyclic hydroxamic acids in resistance of maize to microbial diseases and insects. **Microbiological Research**, v. 143 p. 39-46, 1988.

MINITAB, I. **Minitab Minitab 16 Statistical Software PA Minitab, Inc, State Coll (2010) URL[Computer software]**. Disponível em: www.minitab.com.

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

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

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

OLIVEIRA, E. et al. Growth and Nutrition of Mollicute-Infected Maize. **Plant Disease** v. 86, p. 945–949, 2002.

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

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. Disponível em: http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IT2006601811. Acesso em: 16 ago. 2019.

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, p. 141–153, 2013.

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

PANDA, N., KHUSH G.S. Host plant resistance to insects. **CAB international**. Oxon, p. 448, 1995.

RITCHIE, W. S. et al. How a corn plant develops. Iowa State University. Special report n. 48, **Ames**. 1993. Disponível em: www.maize.agron.iastate.edu/corngrows.html. Acesso em: 09 ago. 2019.

SERRATOS, A. et al. Factors contributing to resistance of exotic maize populations to maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 13, p. 751-762, 1987.

SHAVER, T. N., LUKEFAHR, M. J. Effect of flavonoid pigments and gossypol on growth and development of the bollworm, tobacco budworm, and pink bollworm. **Journal of Economic Entomology**, v. 62, p. 643-646, 1969.

SILVA, J. P. et al. Assessing antixenosis of soybean entries against *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae). **Arthropod-Plant Interactions**, v. 8, p. 349-359, 2014.

SMITH, C. M. Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches. **Springer Science & Business Media**, 2005.

SOUZA, E. S. Variable levels of resistance of soybean genotypes on the performance of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 110, p. 2672-2678, 2017.

TSAI, J. H. Bionomics of *Dalbulus Maidis* (DeLong and Wolcott), a vector of mollicutes and virus (Homoptera: Cicadellidae). In: Maramorosch K., Raychaudhuri S.P. Mycoplasma Diseases of Crops: Basic and Applied Aspects. **Springer New York**, New York, p. 209–221, 1988.

VELJKOVIĆ, V. B., et al. Biodiesel production from corn oil: A review. Renew Sustain Energy Rev, v. 91, p. 531–548, 2018.

VENDRAMIM, J. D.; NISHIKAWA M. A. N. Melhoramento para resistência a insetos. In: Recursos genéticos e melhoramento - plantas. **Fundação MT**, Rondonópolis 2001.

WAISS, Jr. A. C. Maysin, a flavone glycoside from corn silks with antibiotic activity toward corn earworm. **Journal of Economic Entomology**, v. 72, p. 256-258, 1979.

WAQUIL, J. M. Corn leafhoppers as vectors of maize pathogens in Brazil. Diagnosing maize diseases in Latin America. **ISAAA, Ithaca/EMBRAPA**, Brasilia, p. 34-42, 1998. Disponível em: http://www.isaaa.org/Resources/publications/briefs/09/download/isaaa-brief-09-1998.pdf#page=44. Acesso em: 17 mai. 2019.

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

ZURITA, V. 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.

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 analises de PCR realizadas na “safra de verão” reveleram 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 nã o 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 molicutes em milho em milho. In: Oliveira, E. de; Oliveira, C.M. de (Ed.). **Doenças em milho:** molicutes, 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. Biologia y comportamiento de *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae). **Revista Peruana de Entomologia**, 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 molicutes 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. Molicutes e vírus na cultura do milho no Brasil: caracterização e fatores que afetam sua incidência. **Doenças em milho: molicutes, 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, molicutes 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, molicutes 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) (Hemíptera: 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 hibridos de milho (*Zea mays* L.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 347-352, 2000.