



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MATEUS HENRIQUE GARCIA

**ESTUDOS SOBRE A FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE
CIGARRINHAS NO MILHO (*Dalbulus maidis* e *Leptodelphax
maculigera*) E DETECÇÃO DA VIROSE DA RISCA (MRFV)**

Londrina
2025

MATEUS HENRIQUE GARCIA

**ESTUDOS SOBRE A FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE
CIGARRINHAS NO MILHO (*Dalbulus maidis* e *Leptodelphax
maculigera*) E DETECÇÃO DA VIROSE DA RISCA (MRFV)**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina – UEL, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Dr. Rui Pereira Leite Junior.
Coorientador: Dra. Rúbia de Oliveira Molina.

Londrina
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

G216e Garcia, Mateus Henrique.
Estudos sobre a flutuação populacional de Cigarrinhas no Milho (*Dalbulus maidis* E *Leptodelphax maculigera*) e detecção da Virose da Risca (MRFV). / Mateus Henrique Garcia. - Londrina, 2025.
59 f. : il.

Orientador: Rui Pereira Leite Junior.
Coorientador: Rúbia de Oliveira Molina.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2025.
Inclui bibliografia.

1. vírus - Tese. 2. complexo de enfezamentos do milho - Tese. 3. vetores - Tese. 4. maize rayado fino virus - Tese. I. Leite Junior, Rui Pereira . II. Molina, Rúbia de Oliveira . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

MATEUS HENRIQUE GARCIA

**ESTUDOS SOBRE A FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE
CIGARRINHAS NO MILHO (*Dalbulus maidis* e *Leptodelphax
maculigera*) E DETECÇÃO DA VIROSE DA RISCA (MRFV)**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina – UEL, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Rui Pereira Leite Junior
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Coorientador: Dra. Rúbia de Oliveira Molina
Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná -
IAPAR-EMATER

Dr. Fernando Teruhiko Hata
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Londrina, 20 de março de 2025.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar presente durante toda minha caminhada.

À minha família, pelo apoio incondicional.

Ao meu orientador e minha coorientadora, Dr. Rui Pereira Leite Junior e Dra. Rúbia de Oliveira Molina, por todos os esforços dedicados a mim durante o mestrado e escrita da dissertação.

Ao Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IAPAR-EMATER (IDR-Paraná), pela oportunidade concedida para a realização do Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os professores do Mestrado da UEL/IDR-Paraná pela mediação de conhecimento, auxílio e contribuição ao trabalho.

Aos pesquisadores e funcionários do IDR-Paraná, pela contribuição na execução deste trabalho.

Aos membros da Banca examinadora, pela disponibilidade de integrar a referida banca.

Aos bolsistas e estagiários do Laboratório de Virologia do IDR-Paraná, pela ajuda em tudo que precisei.

A todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste mestrado.

RESUMO

GARCIA, Mateus Henrique. **Estudos sobre a flutuação populacional de Cigarrinhas no Milho (*Dalbulus maidis* E *Leptodelphax maculigera*) e detecção da Virose da Risca (MRFV)**. 2025. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

O milho está inserido na estrutura da cadeia produtiva do agronegócio brasileiro, tanto em relação à produção de farelos e rações para alimentação animal quanto para a alimentação humana. Atualmente, o milho é uma cultura cultivada em diversos estados brasileiros, sendo o Brasil o terceiro maior produtor mundial do cereal. O aumento das safras de milho resultou em maior incidência de pragas e doenças, fatores que interferem na produtividade do cereal e estão entre as principais causas que afetam a cultura. O aumento do sistema safrinha potencializou a ocorrência de *Dalbulus maidis*, conhecida como cigarrinha do milho (Hemiptera: Cicadellidae), inseto vetor do *Maize rayado fino virus* (MRFV), agente causador da risca do milho. O objetivo deste estudo foi analisar a flutuação populacional da cigarrinha do milho e o desenvolvimento epidêmico da risca do milho em diferentes safras do cereal em Londrina, PR, contribuindo tanto para um melhor entendimento do inseto como o aperfeiçoamento das estratégias de manejo dessa praga. O levantamento da incidência e o monitoramento da flutuação populacional de *D. maidis* foram realizados sob condições de campo, na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR – Paraná, no município de Londrina, PR. Foram utilizadas armadilhas adesivas amarelas Biocontrole®, de tamanho padronizado (12 x 10 cm), dispostas no campo, e monitoradas semanalmente. As armadilhas coletadas foram levadas ao laboratório de Virologia do IDR - Paraná para identificação, separação e quantificação da cigarrinha do milho. O monitoramento da incidência do MRFV em plantas de milho foi realizado pela avaliação semanal, utilizando o método de caminhamento do avaliador nas linhas de plantio. A safra de inverno foi a de maior captura das cigarrinhas vetoras, quando comparado à safra verão. A temperatura e a precipitação tiveram uma influência significativa nos diferentes estágios de desenvolvimento da cigarrinha do milho. Na safra inverno houve a ocorrência da cigarrinha africana *Leptodelphax maculigera* na área avaliada. Os resultados para a presença do vírus do rayado fino (MRFV) em plantas de milho (*Z. mays*) foram positivos para as duas safras avaliadas.

Palavras-chave: vírus; complexo de enfezamentos do milho; vetores; *maize rayado fino virus*.

ABSTRACT

GARCIA, Mateus Henrique. **Studies on the population fluctuation of Leafhoppers in Maize (*Dalbulus maidis* and *Leptodelphax maculigera*) and detection of maize rayado Fino Virus (MRFV)**. 2025. 59 p. Master's (Dissertation in Agronomy) – Center for Agricultural Sciences, State University of Londrina, 2025.

Corn is part of the Brazilian agribusiness production chain, both in terms of the production of bran and feed for animal nutrition and for human consumption. Corn is currently cultivated in several Brazilian states, with Brazil being the third largest producer of the cereal in the world. The increase in corn harvests has resulted in a higher incidence of pests and diseases, factors that interfere with cereal productivity and are among the main causes affecting the crop. The increase in the off-season corn system has increased the occurrence of *Dalbulus maidis*, known as the corn leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae), an insect vector of *Maize rayado fino virus* (MRFV), the agent of the maize rayado fino disease. The objectives of this study were to analyze the population fluctuation of the corn leafhopper and the epidemic development of MRFV in corn harvests in Londrina, PR, to contribute both for a better understanding of the insect and for the improvement of the management strategies for this pest. The survey of the incidence and monitoring of the population fluctuation of *D. maidis* were carried out under field conditions, at the IDR - Parana Research Station of Londrina, in the municipality of Londrina, PR. Yellow Biocontrole® sticky traps of standard size (12 x 10 cm) were used in the field and monitored weekly. The collected traps were taken to the Virology Laboratory of IDR - Paraná for identification, separation and quantification of the corn leafhopper. Monitoring of the incidence of MRFV in corn plants was performed by weekly evaluation, using the method of evaluator walking in the planting rows. The winter harvest was the one with the highest capture of vector leafhoppers, when compared to the summer harvest. Higher temperature and precipitation had a significant influence on the different stages of the corn leafhopper. In the winter harvest, the African leafhopper *Leptodelphax maculigera* occurred in the evaluated area. The results for the presence of the *Maize rayado fino virus* (MRFV) in corn plants (*Z. mays*) were positive for both harvests seasons.

Key-words: virus; corn stunting complex; vectors; *maize rayado fino vírus*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Adulto de *Dalbulus maidis* (A) e detalhe das máculas localizadas na parte frontal da cabeça (B) 17
- Figura 2** – Ovos (A) e ninfa (B) de *Dalbulus maidis* 19
- Figura 3** – Temperaturas máximas e mínimas registradas no período de outubro de 2023 a junho de 2024, durante as safras de verão 2023/2024 e de inverno 2024 em Londrina, PR..... 26
- Figura 4** – Precipitação no período de outubro de 2023 a junho de 2024, durante as safras de verão 2023/2024 e de inverno 2024 em Londrina, PR 26
- Figura 5** – Representação da área experimental na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR – Paraná, Londrina, PR..... 27
- Figura 6** – Armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®), medindo 10 x 12 cm fixadas em estacas na altura de 1.20 metros do solo, e ajustáveis conforme o desenvolvimento das plantas. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR..... 28
- Figura 7** – Representação indicando a fixação das armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®), em alturas de 0.3 e 1.20 metros do solo, fixadas em estacas de bambu, para captura de cigarrinhas vetores do MRFV durante diferentes estádios de desenvolvimento das plantas de milho..... 29
- Figura 8** – Comparação entre indivíduos adultos de *Dalbulus maidis* e de *Leptodelphax maculigera* 30
- Figura 9** – Flutuação populacional da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) capturada em armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®) dispostas em área experimental de híbridos de milho (*Zea mays*) na safra verão 2023/2024. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR 33
- Figura 10** – Flutuação populacional da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) coletada em armadilha adesiva amarela (Biocontrole®) em experimentos de milho (*Zea mays*), posicionadas em alturas de 30 e 120 cm do solo durante a safra verão 2023/2024. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná,

	Londrina, PR	34
Figura 11	– Curvas de regressão entre as variáveis armadilha superior e precipitação (A), armadilha superior e temperatura mínima (B), armadilha superior e temperatura máxima (C) e armadilha superior e armadilha inferior (D).....	36
Figura 12	– Flutuação populacional de <i>Dalbulus maidis</i> coletadas em armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®) em campo experimental de milho (<i>Zea mays</i>) na safra de inverno 2024 na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR - Paraná, Londrina, PR	37
Figura 13	– Total de cigarrinhas do milho (<i>Dalbulus maidis</i>) capturadas em armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®) dispostas em diferentes pontos de áreas experimentais de milho (<i>Zea mays</i>) nas safras de verão 2023/2024 e inverno 2024, na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR	38
Figura 14	– Curva de regressão entre as variáveis safra inverno 2024 e temperatura máxima (A), safra inverno 2024 e temperatura mínima (B), safra inverno 2024 e precipitação (C).....	39
Figura 15	– Mapa de calor gerado pelo software Past, com base em dados totais de espécimes de cigarrinhas do milho (<i>Dalbulus maidis</i>) capturados em armadilhas adesivas amarela (Biocontrole®), dispostas a 30 e 120 cm do solo na safra verão 2023/2024. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR	40
Figura 16	– Mapa de calor gerado pelo software Past, com base em dados de coleta de espécimes da cigarrinha do milho (<i>Dalbulus maidis</i>) em armadilhas adesivas amarela (Biocontrole®) dispostas a 120 cm do solo na safra inverno 2024. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR.....	41
Figura 17	– Flutuação populacional da cigarrinha africana (<i>Leptodelphax maculigera</i>) (Stål, 1859) em área experimental de milho (<i>Zea mays</i>), capturadas em armadilhas amarelas (Biocontrole®) na safra inverno 2024, na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR	42
Figura 18	– RNA total extraído de amostras de plantas de milho (<i>Zea mays</i>)	

sintomáticas para o *Maize Rayado Fino Virus* (MRFV) coletadas na safra verão 2023/2024 no período de 10/2023 a 01/2024, em área experimental na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR. Kb, marcador molecular Kb plus; e 1 a 7, amostras de milho sintomáticas para infecção por MRF..... 44

Figura 19 – Análise molecular de amostras de plantas de milho (*Zea mays*) sintomáticas para o *Maize Rayado Fino Virus* (MRFV), coletadas na safra verão 2023/2024, no período de 10/2023 a 01/2024, em área experimental na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR..... 44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>D. maidis</i>	<i>Dalbulus maidis</i>
MRFV	<i>Maize rayado fino vírus</i>
CEM	Complexo do enfezamento do milho
IDR - Paraná	Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná
<i>L. maculigera</i>	<i>Leptodelphax maculigera</i>
EUA	Estados Unidos da América
ICTV	Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
UEL	Universidade Estadual de Londrina
PCA	Análise multivariada
RT- PCR	Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo geral	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1	A Cultura do milho (<i>Zea mays</i> L.)	15
3.2	Cigarrinha do milho (<i>Dalbulus maidis</i> (DeLong; Wolcott, 1923)	17
3.3	O Complexo de enfezamentos do milho (CEM)	20
3.4	Manejo do complexo de enfezamentos do milho (CEM)	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1	Área experimental	25
4.2	Captura de cigarrinhas do milho	28
4.3	Identificação de cigarrinhas vetores dos agentes do CEM	29
4.4	Avaliação a campo da incidência de MRFV	30
4.5	Deteccção do agente da virose da risca do milho	30
4.6	Dados climáticos da estação de pesquisa de Londrina do IDR-Paraná	32
4.7	Análise de dados	32
5	RESULTADOS	33
5.1	Levantamento da cigarrinha do milho (<i>Dalbulus maidis</i>)	33
5.1.1	Safra verão 2023/2024	33
5.1.2	Safra inverno 2024	37
5.1.3	Estudo comparativo da captura de cigarrinha do milho (<i>D. maidis</i>) entre a safra verão 2023/2024 e a safra inverno 2024	37
5.2	Levantamento da cigarrinha africana (<i>Leptodelphax maculigera</i>)	42
5.3	Deteccção do vírus maize rayado fino virus (MRFV)	43

6	DISCUSSÃO	45
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
	REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae e foi doméstica há mais de 8 mil anos, sendo cultivada em muitos países do mundo como Estados Unidos, China, Índia, Brasil, França, Indonésia e África do Sul, dentre outros. A grande adaptação, representada por diversos genótipos, tem permitido o seu cultivo desde o equador até regiões temperadas, e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3.600 metros, encontrando-se, portanto, em áreas de climas tropicais, subtropicais e temperados (Barros; Calado, 2014, p. 4).

O milho é considerado um dos principais e mais tradicionais cereais cultivados em todo o Brasil. Desempenha um papel significativo no valor da produção agropecuária, caracterizado pelas diversas formas de sua utilização, desde a alimentação animal e humana até a indústria de alta tecnologia (Fornasieri Filho, 2007).

O milho está sujeito a uma série de fatores bióticos e abióticos, que alteram a fisiologia e a morfologia da planta e, conseqüentemente, reduzem o rendimento e qualidade do grão. Os fatores abióticos são causados, entre outros, por agentes como temperatura, deficiências nutricionais, fitotoxidez associada ao uso de herbicidas, e estresse hídrico. Os fatores bióticos são causados por fungos, bactérias, vírus, e nematóides, e exigem à adoção de medidas de controle visando mitigar as condições favoráveis ao desenvolvimento do processo (Silva *et al.*, 2001).

As pragas causam danos à produção, e por isso representa um grave problema fitossanitário à cultura, pois causa danos de ordem direta e indireta às plantas (Marques; Souza, 2023). Várias são as espécies de insetos-praga que atacam a cultura do milho, entre as mais comuns estão a lagarta do cartucho, cigarrinha do milho, pulgão do milho, percevejo castanho e a larva alfinete. Essas pragas ocorrem em diferentes formas de infestação, e causam diferentes danos, demandando diferentes métodos de controle utilizados para a eliminação desses insetos, que podem variar de espécie para espécie (Miranda; Sousa; Santana, 2023).

A cigarrinha do milho tornou-se uma praga-chave, especialmente a partir da safra 2014/2015, nas regiões sudeste e centro-oeste do Brasil. Entretanto, o seu grande potencial de migração tem dificultado cada vez mais o controle populacional nas regiões produtoras em diversos estados brasileiros (Galvão, 2019). Além disso,

insetos como a cigarrinha do milho podem ocasionar danos diretos às plantas, pela injeção de salivas tóxicas decorrente do processo de alimentação, e podem atuar como vetores de patógenos do complexo do enfezamentos do milho (CEM), (Cota *et al.*, 2021).

As doenças do CEM são um grande problema para a cultura. Os enfezamentos são doenças vasculares e sistêmicas, envolvendo dois Mollicutes que colonizam os vasos do floema da planta, e um vírus. O enfezamento vermelho se distingue pelo aspecto avermelhado das folhas, originado pelo acúmulo de fotoassimilados na área foliar. O enfezamento pálido apresenta estrias cloróticas delimitadas, devido à ausência de clorofila. Também são observados sintomas prejudiciais na morfologia da planta, como o encurtamento de entrenós e a coloração amarelada seguida de clorose nas folhas. Em relação às espigas, verifica-se má formação, tamanho reduzido e menor produção de grãos, ou espigas improdutivas (Contini *et al.*, 2019).

O "Enfezamento Pálido" (*Corn Stunt Spiroplasma*), foi observada pela primeira vez no Texas (EUA) em 1945, e apenas na década de 1970 a causa foi identificada como uma bactéria que se restringe ao floema das plantas, pertencente ao gênero *Spiroplasma* (Chen; Liao, 1975; Davis; Worley, 1973; Gordon *et al.*, 1981). A doença denominada "Enfezamento Vermelho" (*Maize Bushy Stunt Phytoplasma*), foi encontrada pela primeira vez no México em 1950, sendo que em 1980 foi associada à presença de fitoplasma no floema das plantas de milho (Bascopé; Galindo, 1981; Gordon *et al.*, 1981).

Associado ao CEM, é possível detectar a virose da risca do milho ou *Maize Rayado Fino*, sendo o agente causal a espécie *Marafivirus maidis* (MRFV) (ICTV, 2023), gênero *Marafivirus*, família *Tymoviridae* (Gibbs *et al.*, 2011) O agente etiológico é amplamente distribuído no continente americano, desde a Argentina e Uruguai até o Texas (EUA), e no Brasil é conhecido desde a década de 1970 (Gámez; Kitajima; Lin, 1979; Gimenez-Pecchi *et al.*, 2000). Os sintomas iniciais da risca do milho são caracterizados pela ocorrência de pontos cloróticos, distribuídas de forma uniforme na parte superior de folhas jovens e, geralmente, nas nervuras secundárias e terciárias. Posteriormente, os pontos tornam-se mais numerosos e coalescem, ao longo das nervuras, formando riscas com mais de 10 cm de comprimento. Essas riscas são facilmente observadas quando as folhas são colocadas contra a luz. As plantas infectadas podem apresentar redução no

crescimento, abortamento das gemas florais bem como espigas e grãos menores que o tamanho normal (Ávila *et al.*, 2021).

O vírus é transmitido naturalmente de forma persistente, por um inseto vetor conhecido como cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) (Hemiptera: Cicadellidae). Partículas do vírus podem ser encontradas nas glândulas salivares, no tubo digestivo e nos corpos gordurosos do inseto (Waquil, 2004).

A cigarrinha do milho apresenta alta capacidade de migração e dispersão. Ela abandona cultivos em senescência ou em fase final para colonizar novos plantios, dada sua preferência por plantas em estádios iniciais de desenvolvimento (Taylor; Nault; Styer, 1993; Waquil *et al.*, 1999). Por isso, o controle químico adotado tanto no tratamento de sementes quanto na pós-emergência da cultura, deve ser feito principalmente no período crítico para a infecção das plantas, entre a emergência (VE) e estágio V8-V10, com atenção especial ao período entre VE-V5 (período supercrítico). É imprescindível a adoção coletiva de medidas como a eliminação de milho voluntário (“tiguera” ou “guaxo”), em período no qual o milho está ausente no campo, e a sincronização de plantios na região (Cota *et al.*, 2021).

Em 2019, surgiram os primeiros relatos da presença da cigarrinha e a alta incidência de enfezamentos no estado do Paraná. Atualmente, a preocupação com o problema já chegou em outras regiões do Sul do Brasil e ao Centro-Oeste, onde ainda não era severo (Silva *et al.*, 2021). Neste contexto, é importante identificar a migração populacional das cigarrinhas do milho, entender e analisar a flutuação populacional desses insetos e o momento em que ocorre em relação ao estágio fenológico do milho. Essas estratégias visam adequar às práticas culturais para o manejo da doença, como controlar as pragas e as épocas de plantio. Sendo assim, estudar esses aspectos pode trazer grandes contribuições para o entendimento da população do inseto-vetor, e a incidência e a severidade das doenças do CEM, contribuindo para novas estratégias de manejo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a flutuação populacional da cigarrinha do milho durante as safras em áreas experimentais de milho localizadas na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR – Paraná, Londrina, PR.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a flutuação populacional das cigarrinhas do milho *Dalbulus maidis* e *Leptodelphax maculigera*, vetoras de agentes do complexo de enfezamentos do milho (CEM), em diferentes safras da cultura;
- Monitorar a população de cigarrinhas presentes nas safras de milho utilizando armadilhas amarelas adesivas, identificando e quantificando as espécies vetoras de agentes do Complexo de Enfezamentos do Milho (CEM);
- Avaliar molecularmente a incidência do agente da virose da risca do milho *Maize Rayado Fino virus* (MRFV) em plantas de milho sintomáticas a campo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A CULTURA DO MILHO (*ZEAMAYS L.*)

Há mais ou menos 8 mil anos atrás, diversas espécies de plantas passaram a serem domesticadas e muitas delas se tornaram as principais culturas para a alimentação humana. Entre as espécies domesticadas estão o milho (*Zea mays L.*), tomate (*Solanum lycopersicum L.*), feijão (*Phaseolus vulgaris L.*), amendoim (*Arachis hypogaea L.*) e mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) (Gepts; Debouck, 1991; Harlan, 1973).

Atualmente, encontramos plantações de milho distribuídas em grandes latitudes, nos dois hemisférios, e sendo encontradas desde o nível do mar até altitudes elevadas. Isto demonstra que o milho possui alta diversidade genética possibilitando ocupar grande diversidade de ambientes (Freitas, 2001).

O gênero *Zea* é composto por um grupo da família Poaceae, algumas perenes e outras anuais, nativas do México e América Central, conforme relatado por Doebley (2004). Inclui tanto a planta cultivada, como os parentes selvagens, conhecidos comumente pelo nome de teosinto (*Zea mays L. subsp. mexicana* (Schrad.)) (Câmara, 2005). O teosinto é o ancestral direto do milho, sendo que eles se cruzam naturalmente e facilmente formam híbridos férteis. Isto é um indicativo de que ambas as plantas pertenceriam à uma mesma espécie, a qual estaria em recente divergência genética-evolutiva (Beadle, 1939).

O milho é utilizado de inúmeras formas na alimentação, seja em grãos, farinha ou outros produtos, possuindo alto valor energético e protéico. O grão também fornece composição de fibra adequada e alto potencial de produção de matéria seca, viabilizando também a sua utilização como planta forrageira para alimentação animal (Calonego *et al.*, 2011). Outras formas de utilização são os produtos industriais derivados do milho, que incluem óleo, bebidas, adoçantes e a produção de biocombustível, como o etanol. A União Nacional do Etanol de Milho (UNEM), em 2022, relatou que a produção nacional do combustível alcançou 4,5 bilhões de litros, e teve um avanço de 31% em comparação com 2021 (UNEM, 2022).

O milho é o cereal mais cultivado no mundo, movimentando importantes volumes financeiros. Na safra de 2022/23, a produção global de milho foi de 1,15

bilhões de toneladas (FAO, 2023). Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (United States, 2022), o Brasil foi em 2020/21 o terceiro maior produtor mundial do grão, atrás dos EUA e da China, estando entre os quatro maiores exportadores, com aproximadamente 18% do comércio internacional nesse período. Assim, além de posicionar a cadeia agroindustrial do milho como uma das mais importantes na agricultura brasileira, esse desempenho deixou o País entre os maiores na produção e na exportação da *commodity* no mercado mundial (Pinazza, 2007; Sanches; Alves; Barros 2019).

Esta importante cultura é essencial para o avanço quantitativo e qualitativo do consumo de alimentos no Brasil e no mundo, que ocorre através da interação entre os diversos elos da cadeia produtiva. Encontram-se os produtores rurais, empreendedores e uma competitiva e moderna agroindústria. Sendo a cultura do milho de fundamental importância para o setor agropecuário, e um dos principais insumos do complexo agroindustrial devido às suas diferentes aplicações, com importante papel socioeconômico (Barros; Calado, 2014).

Devido ao crescimento significativo da produção de milho no Brasil nas últimas décadas, objetivando atender a alta demanda por alimentos, fez-se necessário a introdução de uma segunda safra, para complementar o abastecimento de milho no Brasil (Caldeira, 2018). A cultura do milho safrinha tem papel fundamental na agricultura, contribuindo significativamente na economia nacional. O Brasil tem hoje área plantada de mais de 20 milhões de hectares com milho, sendo que mais de 15 milhões é destinado à safrinha, com estimativa de produção em cerca de 110 milhões de toneladas para a safra 2023/2024. Deste montante, 85 milhões é referente ao milho safrinha (CONAB, 2024).

Nesse cenário, o Paraná atingiu uma produção de milho na segunda safra, que foi registrado no ciclo 2022/23, com 14,6 milhões de toneladas (Paraná, 2023). No ano de 2023, o clima favoreceu as produções durante a segunda safra, havendo bons volumes de chuvas e prolongamento do período úmido nas principais unidades produtoras da Federação (IBGE, 2023).

A implementação de novas tecnologias vem contribuindo para significativos patamares de produtividade no Brasil. Isto comprova que o setor está profissionalizado, já que apesar de não ter tido quase incremento na área plantada ao longo dos anos, a produção tem aumentado consideravelmente (Souza *et al.*, 2018). Constantemente, programas de melhoramento estão buscando novas

tecnologias, procedimentos para a obtenção de variedades mais produtivas e economicamente rentáveis (Guimarães, 2007). Dentre as tecnologias adotadas, destaca-se o uso de cultivares geneticamente modificados (Pellegrino *et al.*, 2018). No entanto, essa tecnologia, em virtude das mudanças no uso de inseticidas, promoveu a possibilidade de desenvolvimento de pragas secundárias que passaram a trazer danos econômicos significativos à produção (Catarino *et al.*, 2015). Por ser um dos cereais de maior importância econômica no mundo, o milho é uma das espécies vegetais mais estudadas.

3.2 CIGARRINHA DO MILHO (*Dalbulus maidis* (Wolcott, 1923))

As infestações por pragas também podem interferir no desenvolvimento das plantas de milho, reduzindo significativamente a área de plantio e o potencial produtivo da lavoura (Viana; Cruz; Waquil, 2002). Dentre as principais pragas que atacam a cultura do milho, podemos citar: lagartas, larvas, percevejos, cigarrinhas, brocas e corós. Estes insetos causam perdas desde a fase inicial da cultura, contribuindo para queda do rendimento e produção de grãos (Cruz, 2001, Valicente, 2015).

A cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae), (Figura 1) tornou-se uma praga chave na cultura do milho no Brasil, especialmente a partir da safra 2014/15 nas regiões Sudeste e Centro-Oeste (Galvão; Sabato; Bebendo, 2020).

Figura 1 – Adulto de *Dalbulus maidis* (A) e detalhe das máculas localizadas na parte frontal da cabeça (B)



Fonte: Gonzatto *et al.* (2023).

O milho é a única planta hospedeira para a cigarrinha do milho no Brasil, onde o inseto se abriga, se alimenta e se reproduz, completando seu ciclo biológico. Entretanto, durante os períodos de entressafra, a cigarrinha pode utilizar outras espécies de gramíneas para alimentação ou abrigo, porém sem se reproduzir, tais como sorgo, braquiárias, capim colonião, marmelada, aveia, trigo, triticale e cana-de-açúcar, especialmente, quando estes hospedeiros são cultivados próximos ao milho. (Cota *et al.*, 2021, Sabato, 2018).

São insetos diminutos com cerca de 3,0 a 4,3 mm de comprimento, de coloração amarelo palha, sendo as fêmeas maiores que os machos. Os adultos apresentam duas manchas circulares negras marcadas na cabeça, o que permite diferenciá-los das outras cigarrinhas comumente encontradas na cultura do milho (Marín, 1987; Oliveira, 1996). Os adultos de *D. maidis* que são normalmente de coloração palha podem apresentar coloração mais escura nas regiões geográficas altas e em tons claros com manchas em baixas altitudes (Oliveira, 1996; Triplehorn; Nault, 1985).

Os ovos de *D. maidis* são de coloração esbranquiçada, de córion transparente, medindo 1,3 mm de comprimento e apresentando a região do opérculo mais fina que o extremo posterior (Marín, 1987) (Figura 2). O período embrionário é de oito dias e a temperatura ótima para incubação é de 26,5°C (Waquil, 1998). Eles podem ser depositados de forma isolada, em pares ou em grupos de cinco ou seis na superfície superior das folhas (Marín, 1987), sendo inseridos nos tecidos da planta, de preferência na metade basal das primeiras folhas das plantas jovens (Heady; Madden; Nault, 1985). Em geral, as estruturas morfológicas, características físicas e químicas do tecido foliar afetam o comportamento de oviposição dos insetos (Lara, 1991). Em temperaturas de 10 a 32°C, Tsai (1988), observou cinco instares com duração média variando de 23,0 (10°C) a 3,2 dias (32°C). Somente em 3,1% dos indivíduos este autor verificou a ocorrência de seis instares. Os indivíduos dessa espécie apresentam longevidade de cerca de dois meses, período no qual cada fêmea pode ovipositar até 600 ovos (Waquil, 2004).

Figura 2 - Ovos (A) e ninfa (B) de *Dalbulus maidis*



Fonte: Oliveira *et al.* (2018).

D. maidis é a principal espécie transmissora dos agentes etiológicos das doenças conhecidas como o complexo dos enfezamentos do milho (CEM) (Hruska; Peralta, 1997). Em genótipos suscetíveis, a incidência das doenças do complexo de enfezamentos pode reduzir a produtividade do milho em mais de 90% (Toffanelli, Bedendo, 2002).

A cigarrinha se estabelece nas plântulas de milho principalmente durante o estágio V3, onde a planta possui três folhas completamente desenvolvidas. Este estágio ocorre aproximadamente duas semanas após o plantio, porém o ponto de crescimento ainda se encontra abaixo da superfície do solo e a planta possui pouco caule formado (Magalhaes; Durães, 2006).

A migração do inseto ocorre em longa ou curta distância, especialmente de lavouras em fase de produção ou em processo de colheita. A colheita do milho força a migração desse inseto em densidades populacionais mais altas que em sua

migração natural, e sempre direcionada para plântulas nos estádios iniciais de desenvolvimento (Sabato, 2018). Esse comportamento populacional causa danos e injúrias às lavouras: danos diretos ao se alimentar da seiva de plantas e danos indiretos com a transmissão de patógenos (Pinto, 2021).

Os danos diretos causados pela cigarrinha incluem a sucção de seiva, o que pode levar à paralisação do crescimento, seca e morte precoce das plantas, além da excreção de *honeydew*, que facilita o desenvolvimento de fungos como a fumagina, prejudicando a fotossíntese. O dano indireto mais significativo está relacionado à transmissão de fitopatógenos, como o *Maize rayado fino virus*, o *Spiroplasma kunkelii* e o fitoplasma '*Candidatus Phytoplasma asteris*', que são transmitidos de forma persistente e propagativa pela cigarrinha (Oliveira; Sabato, 2017).

Recentemente, estudos comprovaram a transmissão dos agentes causais dos enfezamentos do milho no Brasil por outra espécie de cigarrinha, denominada *Leptodelphax maculigera* (Stål, 1859), (Hemiptera: Delphacidae). O primeiro relato foi no estado de Goiás, ocorrendo em braquearia (*Brachiaria brizantha*), capim elefante (*Pennisetum purpureum*) e feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) (Ferreira *et al.*, 2023). Posteriormente, foi relatado no Paraná em lavouras experimentais de milho (Bortolotto *et al.*, 2023), e em Santa Catarina (Canale; Andrade; Castilhos, 2023), sendo relatado resultados positivos para infecção dos patógenos do milho. No Rio Grande do Sul, foi relatada a infecção simultânea em *L. maculigera* para MRFV (Sturmer *et al.*, 2024).

3.3 O COMPLEXO DE ENFEZAMENTOS DO MILHO (CEM)

O crescimento do sistema safrinha potencializou a ocorrência dos enfezamentos, devido entre outros fatores à ampliação da janela de plantio e plantios seqüenciais, que proporcionam uma ponte verde para a sobrevivência dos patógenos (Massola *et al.*, 1999). O complexo de enfezamentos do milho é um conjunto de doenças identificadas em plantas de milho, que está presente no sul dos EUA, e nas Américas Central e do Sul. A ocorrência do complexo de enfezamentos do milho tem sido relatada nas regiões produtoras de milho do estado do Paraná desde a safra 2018/19, com prejuízos intensos na produção do grão, principalmente na região Oeste do Estado (IDR-Paraná, [2021]; IDR-Paraná, 2022). Os enfezamentos são causados por infecções múltiplas, de mollicutes e vírus

fitopatogênicos, que podem ser transmitidos simultaneamente por insetos vetores, principalmente *D. maidis* (Nault; Bradfute, 1979).

O enfezamento vermelho é causado pelo fitoplasma '*Candidatus Phytoplasma asteris*' (*Maize bushy stunt phytoplasma*), também pertencente à classe dos Mollicutes, da ordem Acholeplasmatales, família Acholeplasmataceae e gênero '*Candidatus Phytoplasma*'. (Davis; Worley, 1973; Gordon *et al.*, 1981). Os sintomas do enfezamento vermelho são avermelhamento das folhas, geralmente iniciando pelas bordas, perfilhamento e proliferação de espigas na planta (Cota *et al.*, 2021).

O enfezamento pálido é causado por Archeobactéria, denominada *Spiroplasma kunkelii* (*Corn Stunt Spiroplasma*). Baseado em sua ultraestrutura e sua morfologia, este espiroplasma é pertencente ao domínio Bactéria, classe Mollicutes, ordem Entomoplasmatales e família *Spiroplasmataceae* (Davis; Worley, 1973; Gordon *et al.*, 1981). Os sintomas do enfezamento pálido são estrias cloróticas delimitadas que se iniciam na base das folhas. As plantas apresentam altura reduzida, encurtamento de entrenós, brotos nas axilas foliares e cor amarelada das folhas, podendo ocorrer enfraquecimento dos colmos e proliferação de espigas (Cota *et al.*, 2021).

A infecção por mollicutes ocorre nos estágios iniciais do desenvolvimento da cultura, porém os sintomas de enfezamento são observados no período de enchimento de grãos. Esses patógenos se instalam nos feixes vasculares da planta, o floema, afetando todo o processo de translocação de fotoassimilados, reduzindo o metabolismo e assimilação dos nutrientes, com redução no tamanho das espigas e diminuição na produção de grãos (Maneira, 2021).

O *Maize rayado fino virus* (MRFV) é conhecido como vírus da risca do milho, e a virose tem como agente etiológico o *Marafivirus maydis* (ICTV, 2023), família *Tymoviridae* (Gibbis *et al.*, 2011). O vírus possui partículas em forma isométrica ou poliédrica, com cerca de 31 nm de diâmetro, e genoma composto por RNA, sendo descrito sua seqüência genômica por Hammond e Ramirez (2001).

Os sintomas iniciais de infecção em milho consistem em pontos cloróticos com disposição linear no meio, ou mais comumente, na base das folhas. Essas pontuações evoluem para áreas alongadas, formando um mosaico típico, o qual pode aumentar de severidade ao decorrer da infecção. O crescimento das plantas será acentuadamente reduzido, conforme a estirpe do vírus e a cultivar de milho, principalmente quando a infecção ocorre nos estágios iniciais de desenvolvimento.

Ocasionalmente, em cultivares mais suscetíveis, pode ocorrer o encurtamento dos entrenós (Gonçalves *et al.*, 2007).

O MRFV e outros *Marafivirus* que infectam plantas da família Poaceae são transmitidos de maneira propagativa persistente por seus vetores, as cigarrinhas (Kitajima; Gámez, 1983), com os quais eles têm associações vírus-vetor espécie-específicas (Gibbs *et al.*, 2011).

3.4 MANEJO DO COMPLEXO DE ENFEZAMENTOS DO MILHO (CEM)

Até o início da década de 1990, a única medida recomendada para controle das doenças do milho era o uso de cultivares mais resistentes. Hoje, com a intensificação das doenças, apenas a exploração de fontes de resistência não tem sido suficiente para controlar ou mantê-las em nível aceitável, implicando na necessidade de medidas de manejo complementares para manter a produtividade da cultura (Silva *et al.*, 2001).

Os enfezamentos proporcionados pela cigarrinha *D. maidis* tem causado perdas significativas em lavouras de milho, sendo classificadas atualmente como doenças de primeiro grau, sendo fator de preocupação para os produtores de milho. Porém, não se tem uma alternativa altamente eficiente para o controle das doenças do CEM e da virose da risca. Assim, é essencial conhecer o ciclo das doenças e gerar alternativas práticas para controlar, minimizar e escapar dos danos causados pelo inseto-praga (Oliveira; Sabato, 2017; Sabato, 2018).

Uma das bases do MIP é o monitoramento dos insetos que ocorrem na cultura. A partir deste, é possível definir pragas primárias e secundárias, frequência em que ocorrem e época do ano, além de identificar possíveis inimigos naturais (Valicente, 2015).

Para fazer o controle da cigarrinha do milho é necessário um conjunto de ações preventivas a serem realizadas por todos os produtores da região. O monitoramento integra várias táticas de controle antes e durante o plantio da cultura para manter a população da praga em um nível baixo, de maneira a não causar dano econômico (Flausino, 2021). Entretanto, o controle das pragas iniciais da cultura do milho não é simples em função da severidade e rapidez com que o ataque pode ocorrer. Há necessidade de monitoramento constante para se detectar a presença das pragas ou o início de seus danos (Cruz, 2001). Apenas o controle

químico do inseto-vetor na pós-emergência da cultura não tem sido suficiente para redução dos danos ocasionados pelas doenças transmitidas pela cigarrinha do milho. Dessa maneira, é necessário adotar outras estratégias de manejo de forma integrada e regionalizada (Cota *et al.*, 2021).

O controle de insetos vetores pela pulverização de inseticidas químicos ou biológicos é adequado no período crítico ao enfezamento (estádios VE a V5), utilizando produtos químicos à base de neonicotinoide + piretroide, carbamato + piretroide, piretroide + organofosforado, organofosforado, fenilpirazol, e isoxazolina, e biológicos à base de *Isaria* sp. e *Beauveria* sp. (Santos, 2024). O controle químico da cigarrinha do milho com esses produtos envolve a aplicação de inseticidas nas sementes ou diretamente nas plantas, sendo considerado uma alternativa necessária e eficaz, especialmente nas fases iniciais do desenvolvimento da cultura. Segundo Borges (2020), o uso de inseticidas nesta fase é crucial para o manejo da praga. O tratamento de sementes é essencial para garantir a qualidade inicial das plantas, ao controlar pragas e patógenos, especialmente nas fases iniciais de desenvolvimento. Além disso, a pulverização nas plantas com produtos químicos também é recomendada para combater a cigarrinha (Alves *et al.*, 2020).

Por outro lado, o controle biológico tem se mostrado uma alternativa eficaz e sustentável. Este método consiste na introdução de inimigos naturais da cigarrinha, como predadores, parasitas e patógenos, para controlar a população da praga de maneira ecológica (Santos *et al.*, 2024).

No controle biológico procura-se manter a população de pragas abaixo de níveis que causam danos econômicos às culturas. Assim, os inimigos naturais, nativos ou exóticos são multiplicados em laboratórios e posteriormente liberados nas lavouras para controlar as pragas. Além disso, é um componente fundamental no manejo integrado de pragas (MIP), que visa a regulação das populações de insetos-praga. Dentre os microrganismos entomopatogênicos, destacam-se vírus, fungos e bactérias, sendo os fungos particularmente eficazes devido ao seu amplo espectro de ação e capacidade de infectar diferentes fases de desenvolvimento dos insetos (KIST *et al.*, 2020).

No caso da cigarrinha-do-milho (*D. maidis*), o controle biológico apresenta diversas vantagens em relação ao controle químico, entre elas estão a redução da exposição de produtores e técnicos aos inseticidas químicos, a ausência de resíduos nos alimentos, o baixo risco de poluição ambiental, e a seletividade aos inimigos

naturais. Assim, ao integrar essas abordagens, é possível reduzir a população da cigarrinha e, conseqüentemente, os danos causados pelos enfezamentos nas lavouras de milho. A adoção dessas práticas favorece uma produção agrícola mais sustentável e alinhada com as demandas por produtos com menor impacto ambiental (Santos, 2024)

Para um manejo de pragas adequado na cultura do milho é necessário o conhecimento dos fatores que o influenciam, como a distribuição espacial e temporal das pragas da cultura, que freqüentemente é feita de maneira desuniforme, agregada ou em reboleiras, mas para isso é importante uma boa amostragem (Fernandes, Busolini; Barbosa, 2002). Além disso, técnicas de modelagem como a distribuição espacial de insetos provou ser uma ferramenta eficiente para determinar a distribuição espacial de vários insetos pragas em culturas economicamente importantes (Dávila *et al.*, 2018).

O fato de a doença estar presente endemicamente na área exige, contudo, que continuem a ser observadas todas as medidas recomendadas para o manejo da doença, como o uso da rotação de culturas, rotação de cultivares de milho, cultivares geneticamente resistentes etc. (Casela, 2003). O manejo integrado de pragas (MIP) recomenda que as pragas estejam presentes na lavoura em níveis populacionais que não causem dano econômico, o que é chamado de nível de equilíbrio, estratégia essa que favorece a sobrevivência e proliferação dos inimigos naturais das pragas (Wordell Filho *et al.*, 2016).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÁREA EXPERIMENTAL

O estudo foi conduzido na Estação de Pesquisa de Londrina do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná IAPAR - EMATER (IDR - Paraná), localizada no município de Londrina, PR, na latitude de 23°21'51.0"S, longitude de 51°09'57.4"O e altitude de 573 m. O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (Santos *et al.*, 2006). O clima segundo a classificação climática de Koppen é caracterizado como subtropical úmido mesotérmico (Cfa), apresentando verões quentes e geadas pouco frequentes. A temperatura média anual é de 23°C, a precipitação média anual é de 1.527 mm e a umidade relativa média é de 69% (IDR-Paraná, [2021]). Durante os meses da safra verão 2023/2024, a temperatura máxima foi acima de 32°C, sendo a temperatura máxima registrada foi de 38°C em novembro de 2023, e mínima em torno de 15°C, com exceção do mês de novembro, no qual a temperatura mínima se manteve em 12°C. Em relação à precipitação, no mês de outubro de 2023 foi registrado total acumulado de 257,6 mm, com pico de 160 mm, e em dezembro de 2023 o total acumulado foi de 233,7 mm, com pico de 120 mm, ocorrendo esses dois picos de precipitação elevada. O mês de menor precipitação foi novembro de 2023, com 152 mm no total mensal acumulado. A distribuição das chuvas foi regular (Figuras 3 e 4).

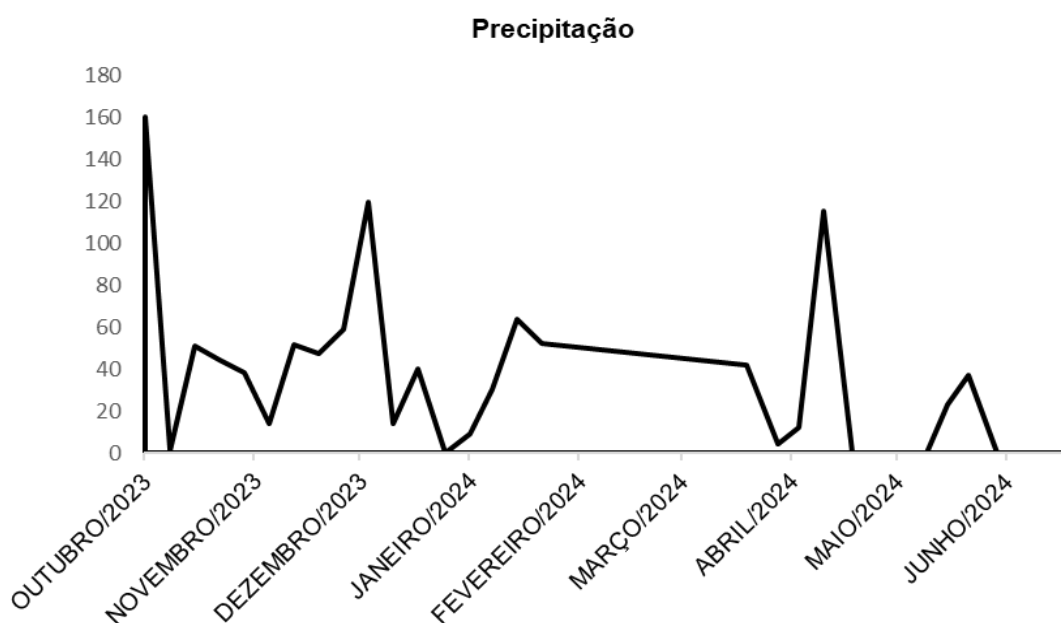
Na safra inverno 2024, a menor temperatura registrada foi de 5°C, no mês de maio de 2024. A precipitação atingiu maior índice no mês de abril de 2024 com total acumulado de 132 mm. Entretanto, essa safra foi caracterizada com um longo período de veranico e temperaturas acima da média anual para a época (Figuras 3 e 4).

Figura 3 – Temperaturas máximas e mínimas registradas no período de outubro de 2023 a junho de 2024, durante as safras de verão 2023/2024 e de inverno 2024 em Londrina, PR.



Fonte: IDR-Paraná (2024).

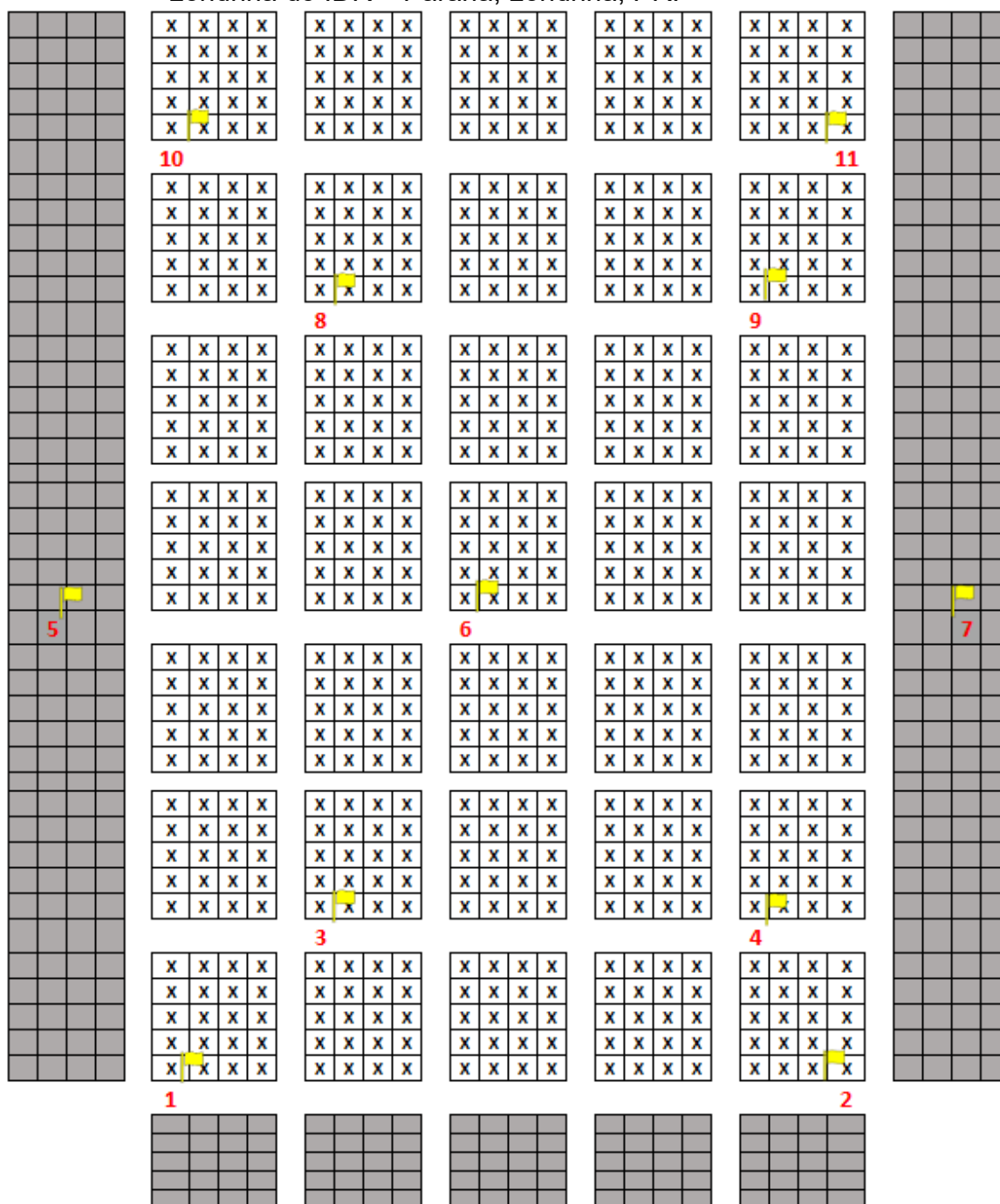
Figura 4 – Precipitação no período de outubro de 2023 a junho de 2024, durante as safras de verão 2023/2024 e de inverno 2024 em Londrina, PR.



Fonte: IDR-Paraná (2024).

Foram avaliadas 3.500 plantas de milho em área experimental de milho (*Z. mays*). A disposição da área experimental foi em blocos constituídos por uma matriz de 4×5 unidades (x), sendo que cada unidade (x) continha 5 plantas de milho, totalizando 100 plantas por bloco (Figura 5). As avaliações foram realizadas durante as safras de verão 2023/24 e inverno 2024.

Figura 5 – Representação da área experimental na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR – Paraná, Londrina, PR.



Nota: Cada bloco foi constituído por uma matriz de 4x5 unidades (x), sendo que cada unidade (X) continha 5 plantas de milho, totalizando 100 plantas por bloco. A bordadura é representada por unidade sem a letra (X), e a área total continha 3.500 plantas de milho (*Zea mays*). Bandeiras cor amarela, numeradas de 1 a 11 representam a localização das estacas de madeira onde foram distribuídas as armadilhas amarelas (Biocontrole®), utilizadas no monitoramento e captura de insetos.
Fonte: O próprio autor (2024).

4.2 CAPTURA DE CIGARRINHAS DO MILHO

Para o monitoramento do inseto vetor a campo, foram utilizadas armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®) com dimensões de 10 × 12 cm, distribuídas aleatoriamente entre a bordadura e a área central, em 11 pontos dentro da área amostral de milho (Figura 6). O monitoramento das armadilhas para captura dos insetos ocorreu entre outubro de 2023 e fevereiro de 2024 para a safra 2023/24 (safra verão), com armadilhas dispostas a campo após a emergência das plântulas. O monitoramento da safra 2024 (safra inverno) teve início após a emergência das plântulas, a partir de março até junho de 2024. As armadilhas foram substituídas semanalmente a campo. Após a coleta, as armadilhas foram identificadas e levadas ao laboratório de Virologia do IDR-Paraná, Londrina, PR.

Figura 6 – Armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®), medindo 10 x 12 cm fixadas em estacas na altura de 1.20 metros do solo, e ajustáveis conforme o desenvolvimento das plantas. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR.



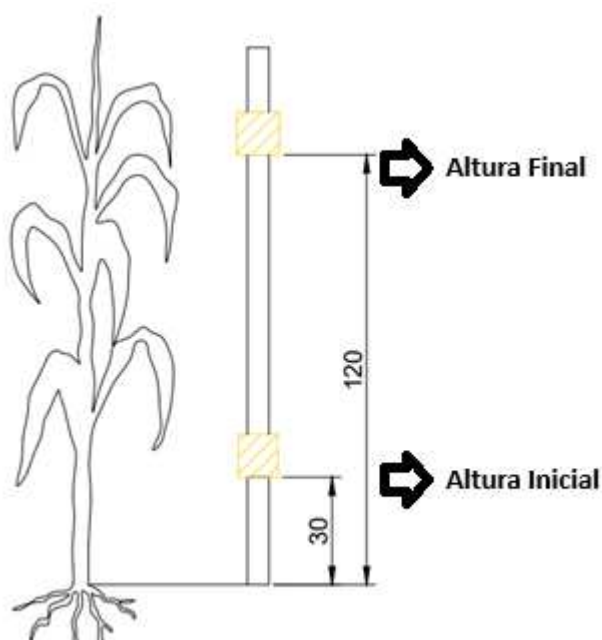
Fonte: O próprio autor (2024).

Com o objetivo de diferenciar a influência da altura da armadilha na captura dos vetores do CEM, foram utilizadas duas alturas diferentes na fixação das armadilhas durante a safra verão. Uma armadilha foi ajustada para acompanhar o crescimento das plantas, iniciando a 30 cm do solo e sendo progressivamente elevada até 120 cm, à medida que as plantas se desenvolviam. A segunda armadilha foi fixada e mantida a 30 cm do solo. Ambas as armadilhas foram substituídas semanalmente, sempre no mesmo dia, em cada um dos 11 pontos

amostrais, totalizando 22 armadilhas até o final do ciclo da cultura.

As primeiras armadilhas foram inseridas no início da cultura, após a emergência das plântulas, sendo 11 armadilhas em pontos amostrais distintos (Figura 5), na altura de 30 cm do solo. Acompanhando o crescimento das plantas, as armadilhas foram gradualmente elevadas até 120 cm do solo. Esse teste foi realizado somente na safra de verão, sendo as estacas ajustadas conforme o estágio de desenvolvimento fisiológico das plantas (altura), permitindo a fixação das armadilhas em duas alturas distintas (Figura 7). Após 45 dias da semeadura, foram inseridas outras 11 armadilhas nos mesmos pontos amostrais que permaneceram fixas a 30 cm do solo (Ávila; Arce, 2008).

Figura 7 – Representação indicando a fixação das armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®), em alturas de 0.3 e 1.20 metros do solo, fixadas em estacas de bambu, para captura de cigarrinhas vetores do MRFV durante diferentes estágios de desenvolvimento das plantas de milho.



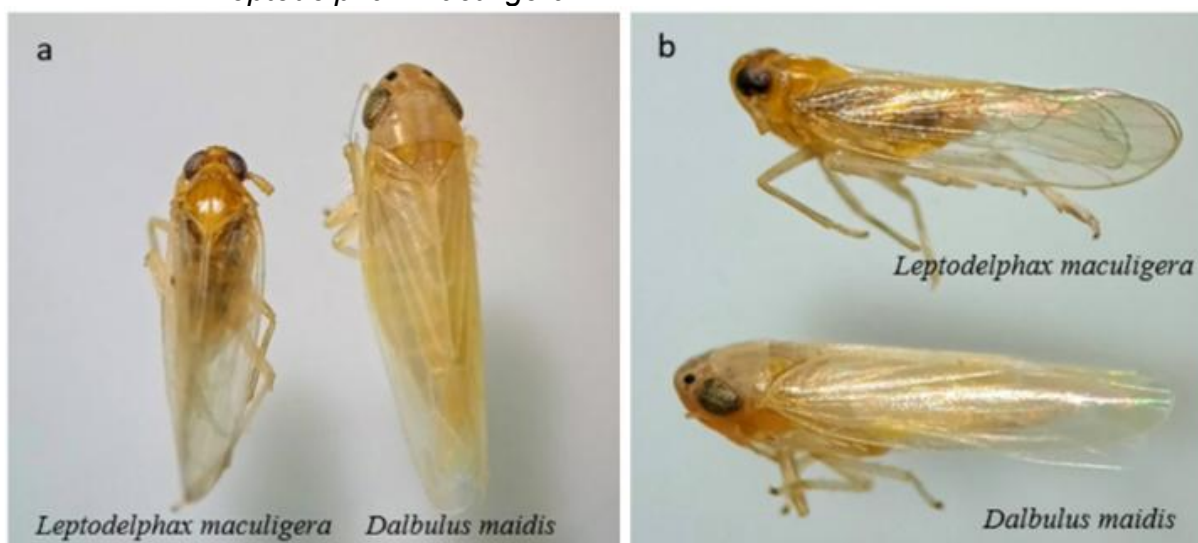
Fonte: Adaptado de Ávila e Arce (2008).

4.3 IDENTIFICAÇÃO DE CIGARRINHAS VETORES DOS AGENTES DO CEM

Para identificação dos insetos capturados nas safras 2023/24 e 2024, verão e inverno respectivamente, foram realizadas identificações visuais (Figura 8) e contagens do número de indivíduos com auxílio de microscópio estereoscópico Nikon® e chave visual de identificação (Triplehorn; Nault, 1985). Devido à

dificuldade de identificação, alguns exemplares capturados foram encaminhados ao laboratório de Entomologia localizado na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em Ponta Grossa, PR, aos cuidados do professor Dr. Orcial Bortolotto. Os insetos identificados foram armazenados em microtubos e mantidos em freezer (-20°).

Figura 8 - Comparação entre indivíduos adultos de *Dalbulus maidis* e de *Leptodelphax maculigera*



Fonte: Ferreira et al. (2023).

4.4 AVALIAÇÃO A CAMPO DA INCIDÊNCIA DE MRFV

A avaliação da incidência de MRFV foi realizada utilizando o método de caminhamento nas linhas de plantio semanalmente. Foram avaliadas as safras de verão 2023/24 e inverno 2024. A identificação dos sintomas da virose da risca do milho foi baseada em avaliações visuais (Gámez, 1980). Amostras de plantas sintomáticas foram coletadas e acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificadas e transportadas em caixas térmicas para o laboratório de Virologia do IDR – Paraná, em Londrina, PR.

4.5 DETECÇÃO DO AGENTE DA VIROSE DA RISCA DO MILHO

Para determinar a presença de MRFV nas amostras, foi realizada inicialmente a extração de RNA total para ser utilizado em reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR), de acordo com protocolo descrito por Sambrook e

Russel (2001).

As amostras de folhas de milho foram lavadas, secas, e maceradas em nitrogênio líquido utilizando cadinho e pistilo autoclavados e mantidos sob refrigeração. Posteriormente, 200 mg de tecido macerado foram transferidos para microtubo de 2 mL, aos quais foram adicionados 1 mL de Trizol®, seguindo recomendação do fabricante (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, EUA). Os microtubos foram homogeneizados em vórtex e mantidos à temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados 200 µL de clorofórmio, misturando por inversão, e mantidos à temperatura ambiente por 3 minutos. Posteriormente, foram centrifugados a 13000 rpm, por 15 minutos à 4°C. Logo após a centrifugação, foram transferidos 500 µL da fase aquosa para novo microtubo. O RNA foi precipitado pela adição de 500 µL de álcool isopropílico gelado, e foram centrifugados a 12000 rpm por 10 minutos à 4°C. O sobrenadante foi descartado e o pellet de RNA foi lavado em 1 mL de etanol 75%, seguido de centrifugação a 13000 rpm por 5 minutos à 4°C. O RNA total foi ressuscitado em 20 µL de água ultrapura tratada com dicarbonato de dietila (DEPC), e armazenado em ultra-freezer a -80°C.

Na síntese da fita de cDNA pela reação da transcritase reversa (RT) foi utilizado para cada amostra microtubo de 0,2 mL contendo 2 µL de DNTPs 5 mM (dATP, dGTP, dCTP e dTTP), 1 µL de iniciador sentido reverso MRFV 10 (*reverse*) referente à região da capa proteica do MRFV (Hammond; Kogel; Ramirez, 1997), 5 µL de RNA e 5 µL de água DEPC. Em seguida, os microtubos foram colocados em termociclador (Swift™ Max Pro Thermal Cycler) a 65°C por 10 minutos. Ao final do ciclo, foram acrescentados 4 µL de tampão 5x e 2 µL de DTT (Dithiothreitol) em cada microtubo. Os microtubos foram mantidos em termociclador a 37°C durante 5 minutos. Em seguida, foi acrescentado 1 µL da enzima “M-MLV reverse transcriptase” (Invitrogen®) em cada amostra, as quais foram reconduzidas ao termociclador por 1 hora e 5 minutos, sendo 50 minutos a 37°C e os 15 minutos finais a 70°C.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada em volume total de 25 µL, utilizando 3 µL de cDNA, 15,55 µL de água estéril tratada com DEPC, 2,5 µL de Tampão Taq 10x, 1,5 µL de MgCl₂ 50 mM, 1 µL de dNTP 5 mM (dATP, dGTP, dCTP e dTTP), 0,6 µL dos iniciadores de ambas as direções (20 pmol) e 0,25 µL de Taq DNA polimerase (1U/µL). Os iniciadores utilizados foram o MRFV 09 CCTCTTCCTGATCCTCCTCGTGTGCTCGAGACG (*forward*) e o MRFV 10

GCCCACAGGTCTTATGGCCGACCTGCTACC (*reverse*) que amplificam fragmento de 633 pb (Hammond; Kogel; Ramirez, 1997). A programação utilizada foi de 5 minutos a 94°C, seguidos de 35 ciclos de 1 minuto a 94°C, 45 segundos a 58°C e 2 minutos a 72°C, com extensão final de 1 minuto a 72°C.

O produto da PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TBE [Tris base 0,09 M, ácido bórico 0,09 M, EDTA 0,002 M (pH 8,0)], e corado com SYBR® Gold (ThermoFisher). Como padrão foi utilizado o marcador com peso molecular 1 kb DNA Ladder Plus. A análise do gel foi realizada em fotodocumentador L-PIX Molecular Imaging (Loccus®).

4.7 DADOS CLIMÁTICOS DA ESTAÇÃO DE PESQUISA DE LONDRINA DO IDR-PARANÁ

Os dados referentes aos índices de precipitação, e temperaturas máxima, mínima e média durante os meses de monitoramento das safras verão e inverno, foram obtidos a partir dos registros da estação meteorológica, instalada no IDR-Paraná, em Londrina, PR. A estação está localizada em distância de aproximadamente 3 km do experimento, onde foram instaladas as armadilhas¹.

4.8 ANÁLISE DE DADOS

As análises dos dados de insetos vetores visaram obter um melhor entendimento sobre a distribuição espacial, comportamentos e relação com o desenvolvimento da doença. Na análise foram utilizados softwares para o processamento e interpretação dos dados: Sisvar e PAST (Ferreira, 2000; Hammer; Harper; Ryan, 2001).

¹ Dados disponíveis em <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=2612>.

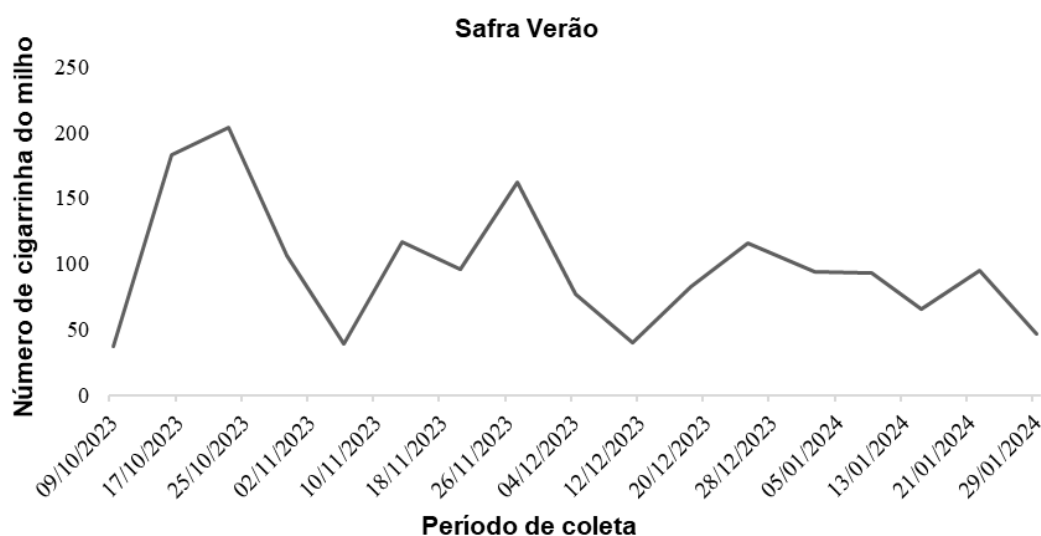
5 RESULTADOS

5.1 LEVANTAMENTO DA CIGARRINHA DO MILHO (*Dalbulus maidis*)

5.1.1 Safra Verão 2023/2024

No levantamento da cigarrinha do milho (*D. maidis*) na safra verão 2023/024, durante o período de outubro de 2023 a janeiro de 2024, foram coletados 2.414 indivíduos. As capturas apresentaram aumento gradual durante o período, sendo que o mês com maior número de insetos capturados foi novembro de 2023, com 204 espécimes do inseto vetor. Por outro lado, as menores capturas ocorreram nas semanas iniciais de novembro e dezembro de 2023, com 39 e 40 espécimes capturados, respectivamente (Figura 9). Nessa safra verão 2023/2024, a maior presença de *D. maidis* ocorreu na parcela cinco da área experimental, localizada na parte central da área. Já a parcela com menor número acumulado de cigarrinhas capturadas foi a de número três, localizada no perímetro da área experimental de milho (Figura 5).

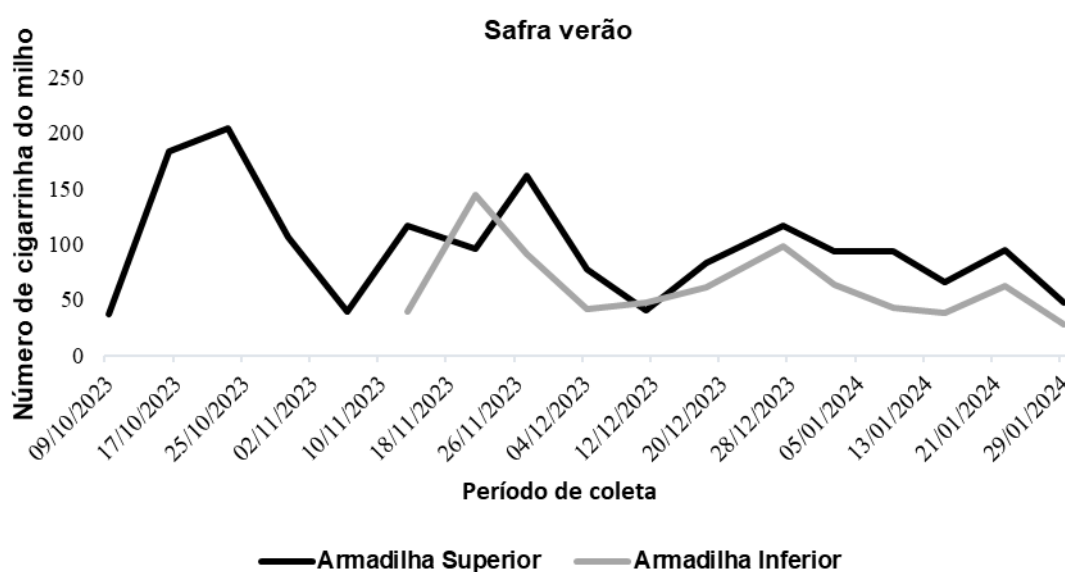
Figura 9 – Flutuação populacional da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) capturada em armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®) dispostas em área experimental de híbridos de milho (*Zea mays*) na safra verão 2023/2024. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR.



Fonte: O próprio autor (2024).

Em relação à influência do posicionamento da altura das armadilhas adesivas amarelas a campo para captura das cigarrinhas do milho (*Z. mays*), o número total de insetos capturados durante o período de amostragem no campo foi de 1.655 espécimes para as armadilhas que acompanharam o desenvolvimento da planta, dispostas nas alturas de 30 cm até 1,20 m, e de 759 indivíduos para as armadilhas, mantidas fixas a 30 cm. É importante considerar que a amostragem utilizando as armadilhas fixas foi iniciada em novembro de 2023, cinco semanas após o início do experimento. Isto certamente influenciou os números totais de insetos capturados, quando comparado com as amostragens das armadilhas que foram ajustadas gradualmente de acordo com o desenvolvimento da planta (Figura 10).

Figura 10 – Flutuação populacional da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) coletada em armadilha adesiva amarela (Biocontrole®) em experimentos de milho (*Zea mays*), posicionadas em alturas de 30 e 120 cm do solo durante a safra verão 2023/2024. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR.



Fonte: O próprio autor (2024).

Na análise estatística foi aplicada a correlação de Pearson para os dados obtidos durante a safra de verão. As variáveis analisadas foram: armadilhas superiores, inferiores, precipitação, temperatura mínima, temperatura máxima. De acordo com a análise, não houve diferenças significativas entre os tratamentos (i.e. posicionamento da armadilha, e condições climáticas). Conseqüentemente, não houve relação linear entre as variáveis dentro do conjunto de dados (Tabela 1 e Figura 11). Entretanto, é de conhecimento que algumas variáveis como escala

temporal, distribuição da temperatura e precipitação ao longo do período podem afetar o desenvolvimento biológico da *D. maidis*. Uma hipótese a ser discutida é a necessidade de coleta de dados por maior número de safras ou por períodos maiores de amostragem.

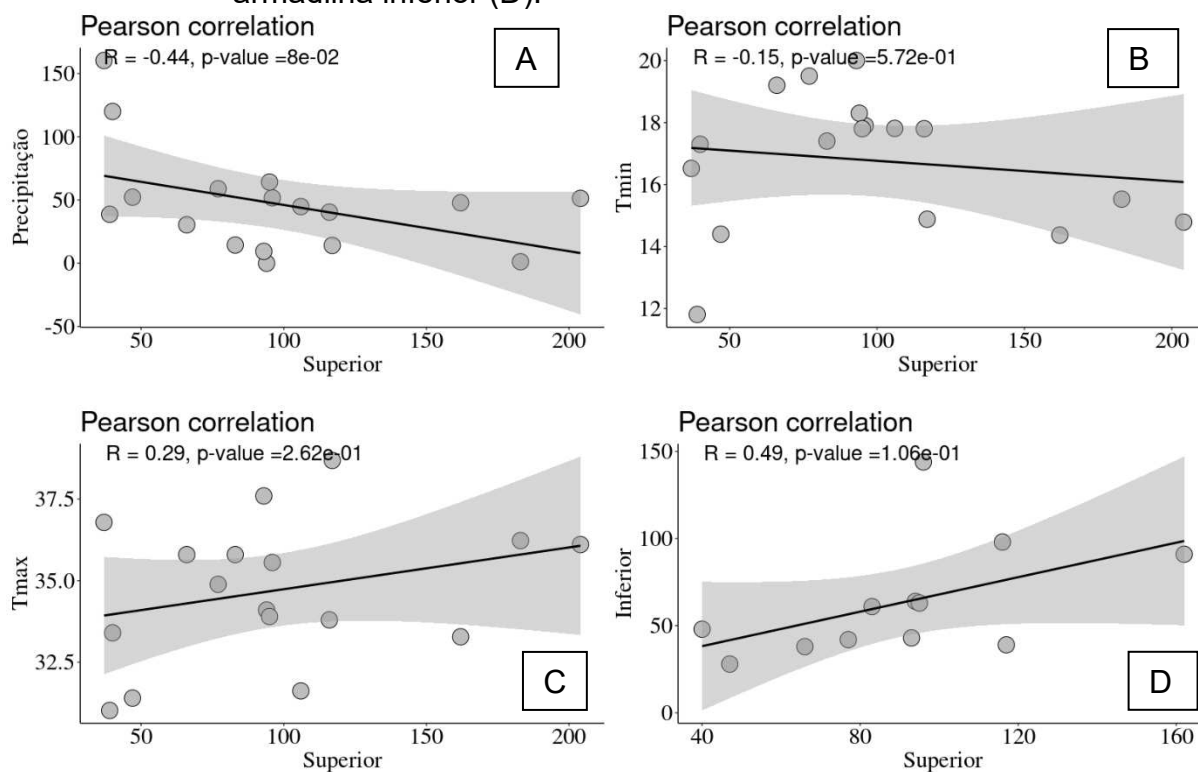
Tabela 1 – Matriz de correlação de Pearson, entre as variáveis armadilha superior, precipitação, temperatura mínima (T. min), temperatura máxima (T. máx.) e armadilha inferior.

	Superior	Precipitação	Tmin	Tmax	Inferior
Superior		-0,43589* 0,08028**	-0,14749* 0,57214**	0,28812* 0,26209**	0,48983* 0,10599**
Precipitação	-0,43589* 0,08028**		-0,04189* 0,87318**	-0,11969* 0,64728**	0,05369* 0,86838**
T. min	-0,14749* 0,57214**	-0,04189* 0,87318**		0,3209* 0,20917**	-0,00512* 0,9874**
T. máx.	0,28812* 0,26209**	-0,11969* 0,64728**	0,3209* 0,20917**		-0,07592* 0,81458**
Inferior	0,48983* 0,10599**	0,05369* 0,86838**	-0,00512* 0,9874**	-0,07592* 0,81458**	

*(r) fator de correlação, ** p crítico(p-value)

Fonte: O próprio autor (2024).

Figura 11 – Curvas de regressão entre as variáveis armadilha superior e precipitação (A), armadilha superior e temperatura mínima (B), armadilha superior e temperatura máxima (C) e armadilha superior e armadilha inferior (D).



Fonte: O próprio autor (2024).

O teste (t) foi significativo a 5% de probabilidade, diferindo estatisticamente entre os números de cigarrinha do milho (*D. maidis*) coletados nas diferentes alturas das armadilhas amarelas, inferior (30 cm) e superior (120 cm) (Tabela 2).

Tabela 2 – Análise estatística descritiva e teste t ($p < 0,05$), para comparação dos valores totais de insetos capturados entre as variáveis armadilhas superior e inferior a campo. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR - Paraná, Londrina, PR.

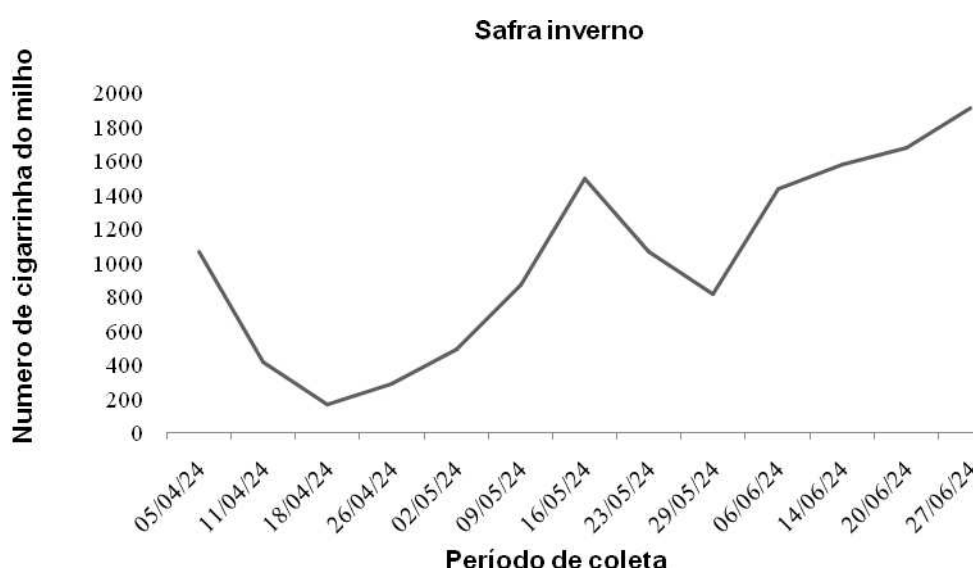
	N	Média	Desv Pad	EP Média	Mediana
Superior	12	90,50	32,77333	9,46084	93,5
Inferior	12	63,25	33,11996	9,56091	54,5
Diferença	12	27,25	33,28151	9,60755	29
Total	24	76,875	35,10024	7,16481	71,5
Teste t	DF	Prob>t			
2,83631	11	0,01619			

Fonte: O próprio autor (2024).

5.1.2 Safra Inverno 2024

Durante o monitoramento das cigarrinhas (*D. maidis*) na safra inverno, compreendendo o período de março de 2024 a junho de 2024, foi capturado um total de 13.747 espécimes. No mês de junho de 2024 foi capturado o maior número de indivíduos, totalizando 1907 espécimes do inseto vetor *D. maidis*. O pico na captura de cigarrinhas ocorreu na última semana de coleta, realizada no dia 27 de junho de 2024, com mais de 1500 espécimes registradas. Por outro lado, o menor número amostral de captura foi 162 espécimes em maio de 2024 (Figura 12).

Figura 12 – Flutuação populacional de *Dalbulus maidis* coletadas em armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®) em campo experimental de milho (*Zea mays*) na safra de inverno 2024 na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR - Paraná, Londrina, PR.



Fonte: O próprio autor (2024).

5.1.3 Estudo Comparativo da Captura de Cigarrinha do Milho (*D. maidis*) Entre a Safra Verão 2023/2024 e a Safra Inverno 2024

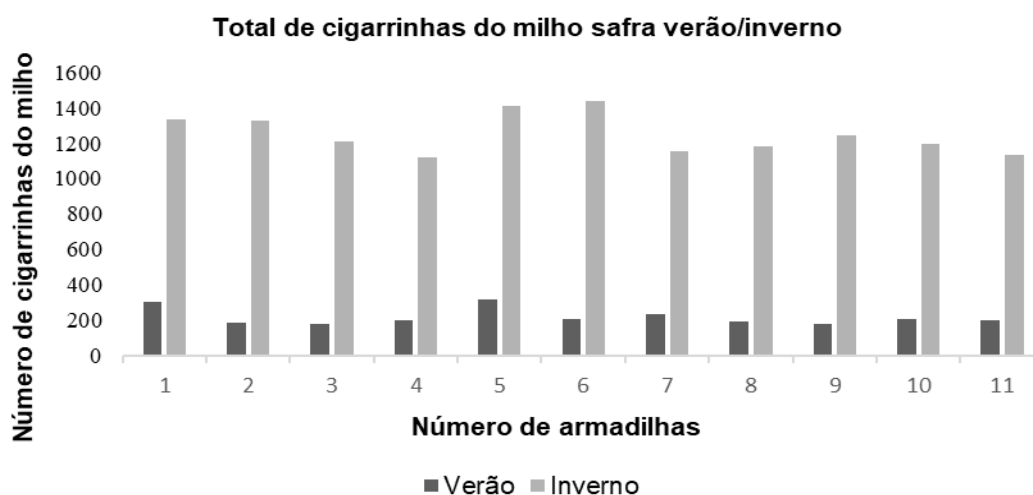
A análise comparativa dos dados da safra verã 2023/2024 e da safra inverno 2024 revelou uma grande diferença na captura de *D. maidis*. A maior captura de cigarrinhas do milho ocorreu na safra de inverno 2024, com captura total de 13.747 espécimes de *D. maidis*. O número de cigarrinhas capturadas foi oito vezes maior em relação às cigarrinhas capturadas na safra verão 2023/2024, apesar de terem sido utilizadas um número maior de armadilhas nesta safra verão. É importante salientar que a amostragem ocorreu na mesma localização geográfica, diferindo

apenas na época amostral (Figura 13). Na safra de verão 2023/2024, a captura total foi de 2.414 espécimes, ou seja, 83% a menos em comparação com a safra inverno 2024. Esses dados sugerem que a *D. maidis* tem preferência por dias com temperaturas amenas, o que pode favorecer a taxa de reprodução.

As armadilhas adesivas posicionadas de número amostral cinco (5) na safra verão 2023/2024 e seis (6) na safra inverno 2024 registraram as maiores capturas de *D. maidis*, em cada uma das safras. Na safra verão 2023/2024, foram capturados 319 espécimes na armadilha cinco. Já na armadilha seis na safra inverno 2024, a captura foi significativamente maior, com 1.439 espécimes. Por outro lado, as menores capturas ocorreram nas armadilhas três (3) e quatro (4), para as safras verão 2023/2024 e safra inverno 2024, respectivamente. Na safra verão 2023/2024, foram capturados 176 espécimes na armadilha três, e na safra inverno 2024 foram capturados 1.119 espécimes na armadilha quatro (Figura 13).

No presente estudo, há forte indício de que a localização dos pontos amostrais tem uma grande influência na determinação da densidade populacional da cigarrinha do milho em lavouras do cereal. Esse padrão pode estar relacionado à diferentes fatores, como vegetação, clima e rotas de migração. Além disso, há uma possibilidade de que o híbrido de milho utilizado no estudo seja mais atrativo para a espécie, favorecendo a presença da cigarrinha *D. maidis*.

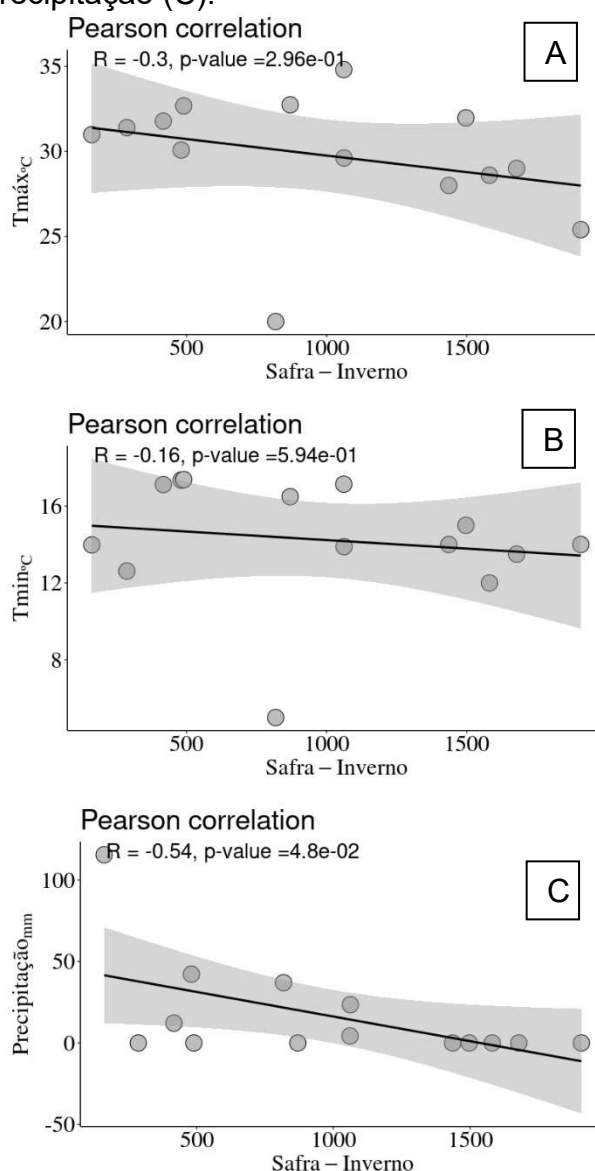
Figura 13 – Total de cigarrinhas do milho (*Dalbulus maidis*) capturadas em armadilhas adesivas amarelas (Biocontrole®) dispostas em diferentes pontos de áreas experimentais de milho (*Zea mays*) nas safras de verão 2023/2024 e inverno 2024, na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR.



Fonte: O próprio autor (2024).

A análise de correlação de Pearson foi aplicada nos dados obtidos durante a safra de inverno 2024 para as variáveis temperaturas máxima e mínima, e precipitação. Os dados não foram significativos a 5%, indicando que não houve correlação significativa, ou seja, uma relação linear entre as variáveis dentro do conjunto de dados (Figura 14).

Figura 14 – Curva de regressão entre as variáveis safra inverno 2024 e temperatura máxima (A), safra inverno 2024 e temperatura mínima (B), safra inverno 2024 e precipitação (C).



Fonte: O próprio autor (2024).

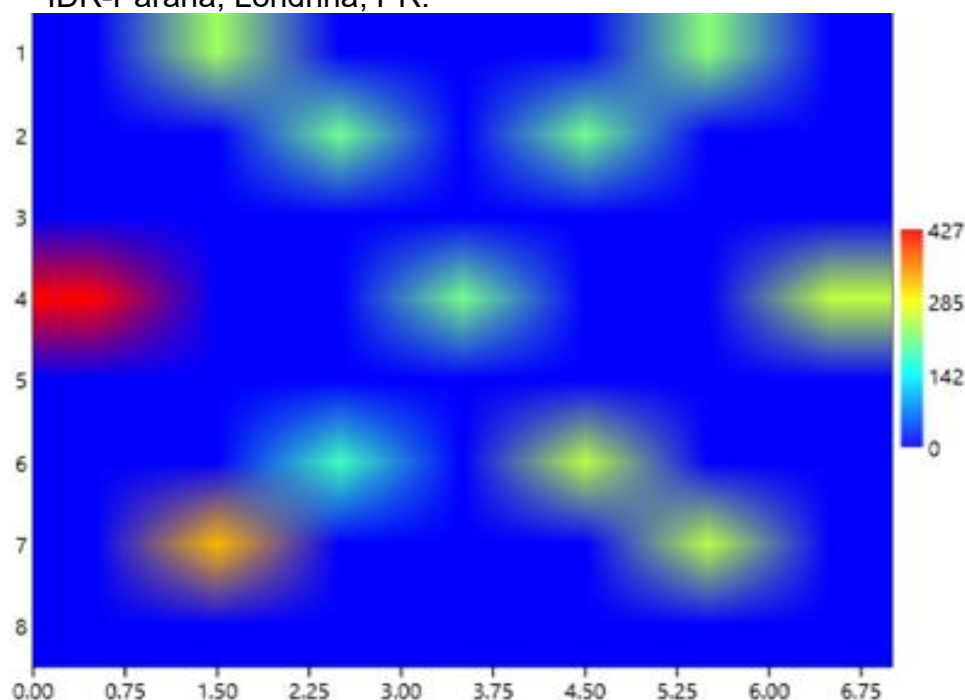
Os dados referentes às safras verão 2023/2024 e inverno 2024 foram também representados por meio de mapa de calor, com o objetivo de identificar possíveis padrões de preferência na distribuição e dispersão do inseto vetor nos pontos de

captura (Figuras 15 e 16). Para a safra de verão 2023/2024, foi observada baixa concentração da cigarrinha do milho na região central da área, sugerindo uma possível influência de fatores como condições ambientais, climáticas e características do híbrido de milho.

Os pontos com maiores índices de captura do inseto foram identificados nas bordaduras da área de cultivo, o que pode estar relacionado ao comportamento migratório da espécie (Figuras 15 e 16). A distribuição espacial observada no mapa de calor sugere que a cigarrinha do milho tende a se concentrar em áreas periféricas da lavoura, possivelmente utilizando as bordaduras como rotas preferenciais de entrada e permanência no ambiente agrícola.

A análise da abundância total de insetos capturados em armadilhas posicionadas a 30 cm e 120 cm do solo revelou a formação de alguns agrupamentos estáveis, especialmente nos pontos três, seis, oito, nove, dez e onze, que mantiveram um padrão de distribuição semelhante ao longo do tempo. Por outro lado, os pontos um, dois, quatro, cinco e sete apresentaram elevados números de captura, porém com uma distribuição mais isolada, conforme ilustrado na Figura 15.

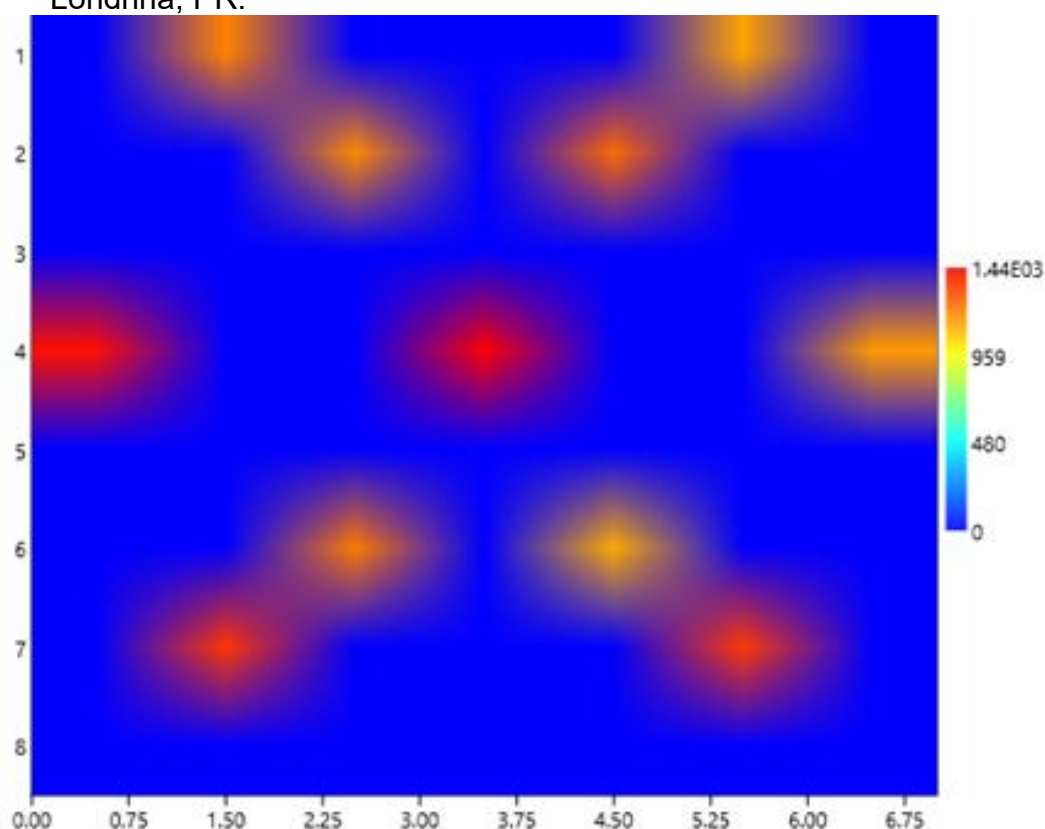
Figura 15 – Mapa de calor gerado pelo software Past, com base em dados totais de espécimes de cigarrinhas do milho (*Dalbulus maidis*) capturados em armadilhas adesivas amarela (Biocontrole®), dispostas a 30 e 120 cm do solo na safra verão 2023/2024. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR.



Fonte: O próprio autor (2024).

A análise dos dados referentes à safra de inverno revelou um comportamento distinto em relação à dispersão da cigarrinha do milho, caracterizado por uma maior uniformidade na abundância do inseto ao longo de toda a área cultivada, sem diferenciação evidente entre os pontos de captura (Figura 16). Esse padrão contrastante, quando comparado à distribuição observada na safra de verão, sugere uma influência significativa das condições climáticas na dinâmica populacional da *D. maidis*. Apesar de se tratar da mesma área experimental, as variações sazonais evidenciaram que o clima exerce um papel determinante na distribuição espacial do vetor, resultando em padrões de infestação consideravelmente diferentes entre as duas épocas analisadas.

Figura 16 – Mapa de calor gerado pelo software Past, com base em dados de coleta de espécimes da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) em armadilhas adesivas amarela (Biocontrole®) dispostas a 120 cm do solo na safra inverno 2024. Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR.

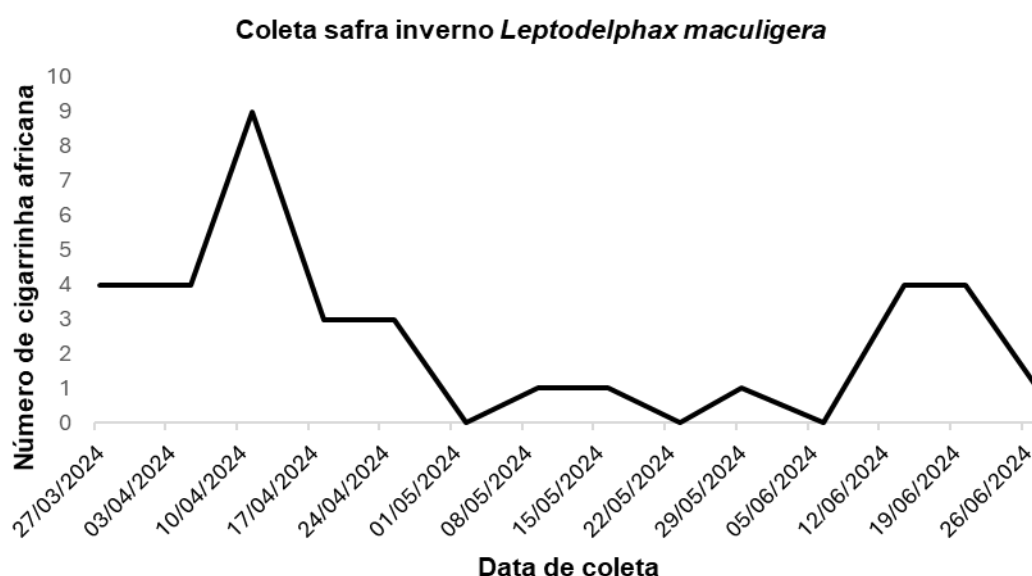


Fonte: O próprio autor (2024).

5.2 LEVANTAMENTO DA CIGARRINHA AFRICANA (*Leptodelphax maculigera*)

Na safra inverno 2024 foi relatada a presença da cigarrinha *Leptodelphax maculigera* (Hemiptera: Delphacidae) (Stål, 1859), conhecida como cigarrinha africana. O número total de espécimes capturados foi de 35, com flutuação populacional durante os meses de março a junho de 2024 (Figura 17). A maior incidência cigarrinha africana foi no mês de abril, com nove espécimes capturados, e a menor incidência foi no mês de maio com captura de uma única espécime da cigarrinha. A cigarrinha africana não foi capturada em nenhuma das armadilhas nas semanas dos dias 01/05/2024, 22/05/2024 e 05/06/2024 (Figura 17). Cabe salientar que a incidência populacional desta espécie é significativamente menor quando comparada à espécie *D. maidis*.

Figura 17 – Flutuação populacional da cigarrinha africana (*Leptodelphax maculigera*) (Stål, 1859) em área experimental de milho (*Zea mays*), capturadas em armadilhas amarelas (Biocontrole®) na safra inverno 2024, na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR.



Fonte: O próprio autor (2024).

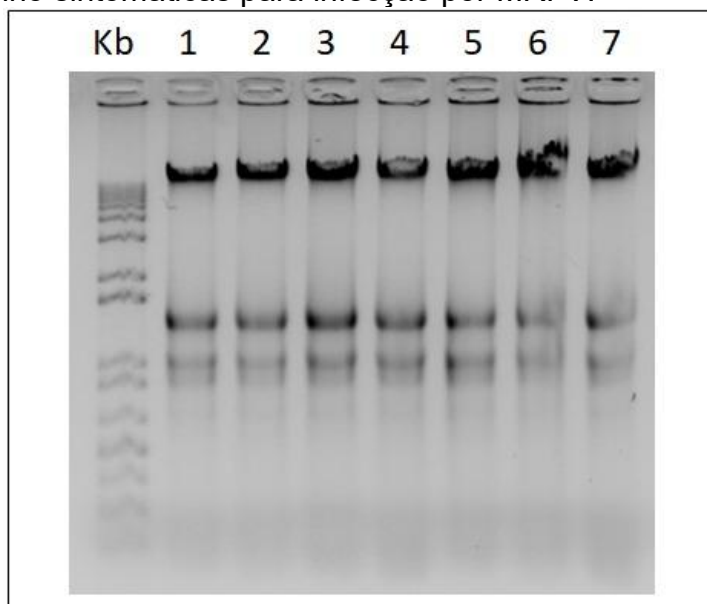
5.3 DETECÇÃO DO VÍRUS MAIZE RAYADO FINO VIRUS (MRFV)

Nos estudos de detecção do vírus Maize Rayado Fino vírus (MRFV) foram utilizadas folhas de plantas de milho (*Zea Mays* L.) sintomáticas para a virose raiado fino coletadas nas áreas experimentais em ambas as safras, verão 2023/2024 e inverno 2024. Algumas das folhas coletadas apresentavam sintomas característico de infecção por MRFV e outras folhas apresentavam sintomas características dos enfezamentos do CEM. Conforme Hogenhout *et al.* (2008), os sintomas da infecção pelo MRFV podem ser obscurecidos pelos sintomas causados pela coinfeção com outros agentes infecciosos, resultando no "complexo do enfezamento do milho" (CEM).

Os sintomas comuns de infecção pelo MRFV em plantas de milho incluem a presença de várias listras cloróticas, tanto curtas quanto longas, e também clorose generalizada e nanismo. Esses sintomas são mais evidentes na parte inferior das folhas, com aumento na intensidade dos sintomas nas folhas mais jovens (Gámez, 1980).

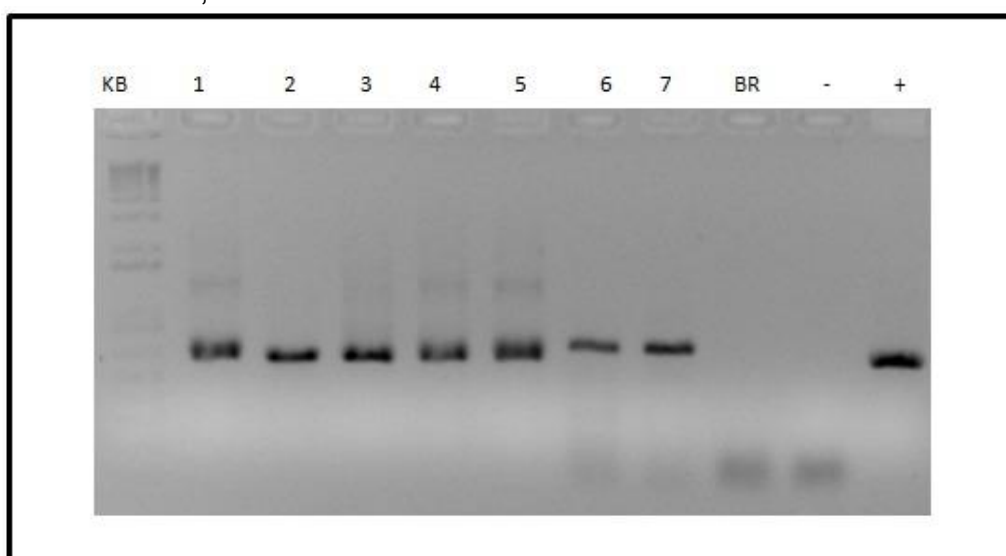
Devido à semelhança desses sintomas com aqueles causados por outros agentes infecciosos ou mesmo devido a deficiências nutricionais, a confirmação da presença do MRFV requer análises laboratoriais, incluindo testes moleculares. A detecção do MRFV foi feita por RT-PCR (Figura 18) utilizando iniciadores específicos para o gene da capa protéica do vírus, MRFV 9 e MRFV 10, com amplificação do fragmento esperado de 633 pb, o qual codifica o gene da proteína de revestimento (Hammond; Kogel; Ramirez, 1997). Os resultados da RT-PCR para detecção do MRFV nas amostras coletadas em ambas as safras confirmaram a presença do vírus em todas as amostras analisadas (Figuras 19).

Figura 18 – RNA total extraído de amostras de plantas de milho (*Zea mays*) sintomáticas para o *Maize Rayado Fino Virus* (MRFV) coletadas na safra verão 2023/2024 no período de 10/2023 a 01/2024, em área experimental na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR. Kb, marcador molecular Kb plus; e 1 a 7, amostras de milho sintomáticas para infecção por MRFV.



Fonte: O próprio autor (2024).

Figura 19 – Análise molecular de amostras de plantas de milho (*Zea mays*) sintomáticas para o *Maize Rayado Fino Virus* (MRFV), coletadas na safra verão 2023/2024, no período de 10/2023 a 01/2024, em área experimental na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná, Londrina, PR.



Nota: A amplificação foi via RT-PCR de fragmento de 633 pb do gene da capa proteica do MRFV utilizando os iniciadores específicos MRFV 9 e MRFV 10. KB, marcador molecular *Kb plus*; 1 a 7, amostras de milho sintomáticas para infecção por MRFV; BR, branco contendo água + mix da reação; +, controle positivo para MRFV; e -, controle negativo

Fonte: O próprio autor (2024).

6 DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo, o período da safra de inverno é o de maior captura de cigarrinhas vetores do MRFV, quando comparado ao período da safra de verão, em regiões com clima subtropical úmido mesotérmico, como o que ocorre em regiões do estado do Paraná. Além disso, armadilhas amarelas posicionadas a 1,20 cm de altura capturam maiores quantidades de espécimes de *D. maidis* quando comparadas com armadilhas posicionadas na altura de 30 cm. Meneses *et al.* (2016) avaliaram a distribuição sazonal e vertical de *D. maidis* em lavouras de milho no Brasil e observaram o efeito de armadilhas amarelas posicionadas em duas alturas nas estações chuvosas e secas. A população de *D. maidis* na estação seca foi muito maior do que na estação chuvosa. Durante as duas estações, a maior abundância de *D. maidis* foi observada aos 77 dias após a emergência do milho, período de maturidade fisiológica. Quanto às coletas realizadas em diferentes alturas, as maiores quantidades de insetos foram capturadas nas armadilhas dispostas na altura de 1,5 m do solo quando comparadas com as armadilhas mantidas na altura de 0,5 m. Em relação às populações de cigarrinhas, observaram que elas se mantiveram significativas ao longo do ciclo fenológico do milho, mas foram especialmente numerosas na estação seca.

A safra inverno 2024 foi marcada pelo período denominado veranico. Este fenômeno é caracterizado por temperaturas máximas e mínimas elevadas, pouca nebulosidade, brilho solar intenso, baixa precipitação e massas de ar quentes estacionadas sobre a região (Jacóbsen, 1999). O fenômeno foi registrado no norte do estado do Paraná na safra inverno 2024 (Figuras 3 e 4), com precipitações acumuladas de 115 mm no período, sendo marcado por irregularidade nessas precipitações distribuídas durante todo período experimental. Isto, junto com as altas temperaturas registradas no período, pode ter interferido na flutuação populacional da cigarrinha do milho de acordo com análises comparativas com os dados da safra verão 2023/2024.

Foresti *et al.* (2022), em estudos de campo para captura de cigarrinhas do milho, relataram que as maiores infestações desses insetos ocorreram nos limites do pivô central, e com menor preferência pelas áreas irrigadas. Adicionalmente, análises de correlação indicaram efeito positivo da temperatura do ar sobre a população de *D. maidis*. As chuvas afetaram negativamente a captura dos insetos,

indicando que esse fator pode impactar a população da cigarrinha do milho com a diminuição da quantidade de insetos vetores no campo.

Ávila e Arce (2008), com base em dados coletados na cidade de Dourados, MS, inferiram que a *D. maidis* apresentou dois picos populacionais, sendo um observado no período da entressafra da cultura, de julho a setembro, e outro no período de verão, em dezembro e janeiro. Entretanto, os mesmos autores concluíram também que as armadilhas adesivas quando instaladas na altura de 0,50 m a partir do nível do solo, capturam maior quantidade de cigarrinhas do que aquelas dispostas a 1,5 m do solo.

A grande diferença na captura dos vetores nas safras verão 2023/2024 e inverno 2024 pode estar relacionada ao fato de que no inverno os produtores em geral optam pelo cultivo do milho e outras gramíneas, e não por leguminosas. Nestas condições, a cigarrinha do milho normalmente pode encontrar ambiente mais propício para o seu desenvolvimento, com maior quantidade de alimento disponível, a qual interfere de forma favorável para o seu ciclo de vida e com conseqüente aumento das populações. Vilanova (2021) relataram aumento da população de cigarrinhas *D. maidis* em milho, principalmente em algumas regiões quentes do território nacional. A intensificação com a cultura do milho de segunda safra, cultivado em uma mesma área de forma sucessiva em sistemas irrigados, não tem proporcionado “quebra” na sazonalidade de plantio e vem aumentando a pressão de pragas e doenças.

Galvão e Miranda (2002), em seus estudos sobre flutuação populacional de *D. maidis*, concluíram que o pico de espécimes capturados ocorreu nos primeiros 40 dias após a emergência das plantas de milho na safrinha. O estudo corrobora para os resultados obtidos na safra verão, considerando ambas as alturas de armadilhas de coleta. Entretanto, os resultados do presente estudo para a safra inverno 2024 foram contrários aos dos autores citados. Provavelmente, isto se deve às condições climáticas muito adversas no final do ciclo do milho, favorecendo o aumento populacional dos insetos vetores.

A temperatura pode influenciar significativamente nos diferentes estágios de desenvolvimento da cigarrinha do milho (*D. maidis*), afetando diretamente a postura de ovos e a eclosão das ninfas, além do desenvolvimento e sobrevivência do inseto adulto. Estudos demonstram que a *D. maidis* pode se desenvolver em uma ampla faixa de temperatura, variando entre 15°C e 40°C. No entanto, a aptidão para

desenvolvimento e reprodução ocorre apenas dentro de uma faixa mais estreita, entre 17°C e 35°C. Este intervalo sugere que, embora a cigarrinha consiga sobreviver em temperaturas mais extremas, sua capacidade de desenvolvimento e reprodução é mais efetiva em condições amenas. Estudos indicam que a faixa ideal de temperatura para o desenvolvimento da *D. maidis* está entre 20°C e 29°C (Tsai, 1988; Waquil *et al.*, 1999).

De acordo com os dados de dispersão obtidos neste estudo, a ausência de migração da cigarrinha do milho pode ter desempenhado um papel determinante no aumento excepcional da população na safra inverno 2024 (Figura 12). Esse fenômeno pode estar associado à oferta contínua de plantas hospedeiras dentro da mesma região, reduzindo a necessidade de deslocamento e favorecendo a permanência e reprodução do inseto (Karam *et al.*, 2013). Dessa forma, a dinâmica populacional observada sugere que a disponibilidade local do milho pode influenciar diretamente o comportamento migratório de *D. maidis*, impactando a densidade populacional e, possivelmente, os surtos em determinadas regiões.

O comportamento migratório da cigarrinha do milho (*D. maidis*) é essencial para o crescimento populacional da espécie, principalmente em áreas onde o milho é cultivado de forma sazonal (Heady; Madden; Nault, 1985). O conhecimento da sazonalidade de *D. maidis* auxilia na compreensão de como a dinâmica populacional pode mudar com as estações de cultivo (Meneses *et al.*, 2016). De acordo com Karan, Guimarães Sobrinho; Oliveira Junior (2013), *D. maidis* é capaz de ser levada pelo vento por longas distâncias, frequentemente superiores a 20 km, em busca de novas lavouras de milho durante o período de entressafra ou até mesmo utilizando plantas hospedeiras alternativas para sua sobrevivência ao longo da migração.

O uso de técnicas moleculares, como a RT-PCR (Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction), é essencial para a identificação precisa do vírus MRFV. A escolha de iniciadores específicos, como MRFV 09 e MRFV 10, sugere que os pesquisadores buscaram sequências conservadas do genoma do MRFV. Albuquerque *et al.* (2023) detectaram o MRFV em lavouras de milho no estado de Santa Catarina utilizando técnicas moleculares com iniciadores MRFV 09 e MRFV 10. Esses autores observaram a incidência crescente de doenças em lavouras comerciais de milho em Santa Catarina nos últimos anos.

Os resultados na detecção do vírus do *Maize Rayado Fino Virus* (MRFV) em plantas de milho foi positivo para as duas safras avaliadas, independentemente da

variação populacional das cigarrinhas do milho. Isto indica que a transmissão do vírus pode ocorrer mesmo sob diferentes densidades do vetor. Canale, Andrade; Castilhos (2023) avaliaram a incidência de rayado fino e contaram o número de cigarrinhas do milho infestando plantas sintomáticas e assintomáticas para MRFV. Nesse estudo, concluíram que a *D. maidis* não diferenciou os dois genótipos de milho em condições de campo, mas infestou preferencialmente plantas assintomáticas. Isso pode ser uma evidência da manipulação do vetor para auxiliar na disseminação do patógeno.

Com relação à presença de sintomas em plantas infectadas pelo MRFV, foi observada plantas sintomáticas nas duas safras avaliadas. Avaliações de genótipos de milho em campo experimental no estado de Santa Catarina confirmam a presença de sintomas da virose rayado fino em 18 genótipos comerciais de milho 50 dias após a semeadura, com incidência diferencial para a doença (Canale; Andrade; Castilhos, 2023). Oliveira (2003) detectou os sintomas da virose e a presença do patógeno em todas as lavouras de milho amostradas. Essas evidências reforçam a hipótese de que a persistência dessas doenças na cultura do milho não está exclusivamente atrelada à população do vetor, mas também a fatores epidêmicos mais amplos, como a dinâmica de infecção nos hospedeiros e a circulação dos patógenos no ambiente agrícola.

A espécie *Lepidodelfax maculigera* (Stål, 1859) foi identificada em armadilhas coletadas apenas durante a safra inverno e em menor quantidade quando comparado à *D. maidis*. Entretanto, a cigarrinha africana *L. maculigera* já havia sido relatada em cultivo experimental de milho no estado do Paraná em safras do ano de 2023 (Bortoloto *et al.*, 2023). As diferenças morfológicas entre a cigarrinha africana *L. maculigera* e a cigarrinha do milho *D. maidis* são o ponto escuro no clipeo, pedicelo dilatado e os espinhos no terceiro par das pernas (Stumer *et al.*, 2024).

Nos estudos de Stürmer *et al.* (2024), realizados no estado do Rio Grande do Sul, a *L. maculigera* foi testada por análises moleculares de RT-gPCR para potencial vetora dos mesmos patógenos das doenças do complexo de enfezamentos do milho (CEM), transmitidos pela *D. maidis*. Foi observado que 76,9% dos exemplares apresentaram infecção simultânea do *maize rayado fino vírus* e fitoplasma, e os outros 23,1% apresentaram presença apenas do vírus do raiado. Isto indica que, embora ainda presentes em pequenas quantidades no norte do estado do Paraná, a cigarrinha africana *L. maculigera* é um potencial vetor de patógenos de doenças do

CEM. Esses resultados indicam para aspectos negativos no processo de disseminação dos agentes das doenças do CEM, visto que a praga pode multiplicar-se em grandes quantidades e se estabelecer no Estado, passando a ser uma praga importante para a cultura do milho.

No estado do Rio Grande do Sul foi conduzido levantamento populacional de *L. maculigera*, com armadilhas adesivas amarelas e armadilhas luminosas em três locais diferentes. A população capturada correspondeu para apenas 2,3% da população de *D. maidis* capturada durante o mesmo período. Nesse estudo foi também realizada análise molecular via RT-qPCR multiplex que confirmaram a infecção simultânea de *L. maculigera* por dois patógenos de complexo do enfezamento do milho (CEM), o- Maize rayado fino virus (MRFV) e o Maize bushy stunt phytoplasma (MBSP) em 76,9% das amostras, enquanto os 23,1% restantes apresentaram presença única de MRFV.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O período de maior captura das cigarrinhas do milho foi na safra de inverno.

As armadilhas dispostas na altura de 1.20 cm apresentaram maior captura de espécimes de cigarrinhas do milho do que armadilhas a 30 cm do solo.

Os resultados das análises espaciais, utilizando mapas de calor, permitiram identificar padrões distintos de distribuição da cigarrinha do milho entre as safras de verão e inverno. Enquanto na safra verão foi observada dispersão concentrada nas bordaduras e pontos específicos na área cultivada, na safra inverno foi observada distribuição mais uniforme da praga em toda a área avaliada.

Na safra inverno 2024 foi identificada a presença da cigarrinha africana *Lepidodelfax maculigerana* na Estação de Pesquisa de Londrina do IDR-Paraná. Esta ocorrência não foi observada na safra verão 2023/2024.

A análise molecular para o MRFV confirmou a presença do vírus em plantas de milho em ambas as safras monitoradas.

Embora as análises estatísticas não revelaram correlação entre fatores de temperaturas e precipitação com número de espécimes de cigarrinhas capturado, foi possível observar que fatores microclimáticos como veranico podem influenciar diretamente o número de insetos capturados.

O monitoramento da cigarrinha do milho é uma prática importante a campo para entender os padrões de dispersão e os fatores que influenciam sua presença em lavouras de milho.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, M. R. M. *et al.* First report of maize rayado fino virus in corn fields in Santa Catarina, Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 107, n. 2, p. 247-593, 2023.
- ALVES, A. P. *et al.* **Guia de boas práticas para o manejo dos enfezamentos e da cigarrinha-do-milho**. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2020. v. 1, p. 1-34.
- ÁVILA, C. J. *et al.* A cigarrinha *Dalbulus maidis* e os enfezamentos do milho no Brasil. **Revista Plantio Direto & Tecnologia Agrícola**, Passo Fundo, n. 182, p. 18-25, 2021. Disponível em <https://plantiodireto.com.br/artigos/1522>. Acesso em: 5 jul. 2023.
- ÁVILA, C. J.; ARCE, C. C. M. Flutuação populacional da cigarrinha-do-milho em duas localidades do Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1129–1132, 2008.
- BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Évora: Universidade de Évora, 2014. Disponível em: <https://dspace.uevora.pt/rdpc/handle/10174/10804>. Acesso em: 5 jul. 2023.
- BARTMER, L. B. **Controle biológico da cigarrinha *Dalbulus maidis* na cultura do milho (*Zea mays*)**. 2023. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Agrônoma) – Universidade Federal do Pampa, Itaqui, 2023.
- BASCOPE, B. Q.; GALINDO, J. A. Naturaleza micoplasmica de la raza "Mesa Central dei Achaparramiento" dei maiz. **Revista Fitopatologia**, Chapingo, v. 16, n. 1, p. 29-33, mar.1981.
- BEADLE, G. W. Teosinte and the origin of maize. **Journal of Heredity**, Cary, v. 30, n. 6, p. 245–247, June 1939.
- BORGES, Elder. **Virose e enfezamentos transmitidos pela Cigarrinha do Milho**. 2. ed Curitiba: Campo em Foco, 2020.
- BORTOLOTTO, O. C. *et al.* Vírus-da-risca tem novo transmissor. **Revista Cultivar**, Pelotas, n. 292, p. 30-35, 2023. Disponível em: <https://revistacultivar.com.br/revistas/grandes-culturas/292>. Acesso em: 5 jul. 2023.
- CALDEIRA, L. N. **Eficiência do tratamento de sementes na redução de população de *Dalbulus maidis* na cultura do milho**. 2018. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Agronomia) - Faculdade da Amazônia, Vilhena, 2018. Disponível em: <http://repositorio.famaro.com.br/handle/123456789/87>. Acesso em: 5 jul. 2023.
- CALONEGO, J. C. *et al.* Produtividade e crescimento de milho em diferentes arranjos de plantas. **Agrarian**, Dourados, v. 4, n. 12, p. 84–90, 2011.
- CÂMARA, R. J. **Cultivares crioulas de milho (*Zea mays*, L.) em sistema de produção orgânico desempenho agrônômico das plantas e composição**

química das sementes. 2005. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2005.

CANALE, M. C.; ANDRADE, M. V.; CASTILHOS, R. V. Cigarrinha-africana *Leptodelphax maculigera* Stål, 1859 (Hemiptera: Delphacidae) em Santa Catarina. **Nota Técnica**, Florianópolis, n. 1, p. 1-2, 2023. Disponível em: <https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/nt/article/view/1763/1602>. Acesso em: 5 jul. 2023.

CASELA, C. R. **Manejo integrado de doenças na cultura do milho**. Brasília, DF: Fitopatologia Brasileira, v. 28, p. S86–S88, 2003.

CATARINO, R. *et al.* The impact of secondary pests on *Bacillus thuringiensis* (Bt) crops. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 13, n. 5, p. 601–612, June 2015.

CHEN, T. A.; LIAO, C. H. Corn stunt spiroplasma: isolation, cultivation, and proof of pathogenicity. **Science**, New York, v. 188, n. 4192, p. 1015-1017, June 1975.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra Brasileira**: grãos, sexto levantamento. Brasília, DF: CONAB, 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/infoagro/safras/graos/boletim-da-safra-degraos>. Acesso em: 5 jul. 2023.

CONTINI, E. *et al.* **Milho**: caracterização e desafios tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa, 2019. (Série Desafios do Agronegócio Brasileiro - NT2).

COTA, L. V. *et al.* **Manejo da cigarrinha e enfezamentos na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2021. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1130346>. Acesso em: 28 mar. 2024.

CRUZ, I. Lagarta-do-cartucho: enfrente o principal inimigo do milho. **Revista Cultivar**, Pelotas, ano 3, n. 35, dez. 2001. Disponível em: <https://revistacultivar.com.br/artigos/lagarta-do-cartucho-enfrente-o-principal-inimigo-do-milho>. Acesso em: 28 mar. 2024.

DÁVILA, J. F. R. *et al.* Estudio de la distribución espacial de *Scirtothrips* sp. (insecta: thysanoptera) y su control mediante el depredador *Orius insidiosus say*. Em el cultivo de aguacate en México. **Interciencia**, Caracas, v. 43, n. 7, p. 526-533, jul. 2018. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33957461011>. Acesso em: 1 jul. 2023.

DAVIS, R. E.; WORLEY, J. F. Spiroplasma; motile, helical microorganism associated with corn stunt disease. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 63, p. 403-408, 1973.

WOLCOTT, G. N. Insectae portoricensis: a preliminary annotated check-list of the insects of Porto Rico, with descriptions of some new species. **The Journal of Agriculture of the University Puerto Rico**, Porto Rico, v. 7, n. 1, 1923. DOI: <https://doi.org/10.46429/jaupr.v7i1.15118>.

DOEBLEY, J. The genetics of maize evolution. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 38, p. 37–59, 2004.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Statistical yearbook**: world food and agriculture 2023. Rome: FAO, 2023.

FERNANDES, M. L. D.; BUSOLINI, A.; BARBOSA, J. Distribuição espacial de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) em algodoeiro. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, v. 8, n. 3, 2002.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para-Windows versão 4.0. *In*: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., São Carlos, 2000. **Anais** [...]. São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FERREIRA, K. R. *et al.* First Record of the African Species *Leptodelphax maculigera* (Stål, 1859) (Hemiptera: Delphacidae) in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 53, n. 1, p. 171-174, Feb. 2024. DOI: 10.1007/s13744-023-01099-1. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38079015/>. Acesso em: 8 jan. 2025.

FLAUSINO, B. F. **Avaliação da abundância de pragas e inimigos naturais no consórcio milho-braquiária**. 2021. 42 f. Dissertação (Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários) – Universidade Federal de Viçosa, Florestal – MG. Disponível em: <https://locus.ufv.br/items/e1475d0d-74b8-4fba-9946-4b3eb670f7dd>. Acesso em: 12 set. 2023.

FORESTI, J. *et al.* Spatial–temporal distribution of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and factors affecting its abundance in Brazil corn. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 78, n. 6, p. 2196-2203, 2022.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007.

FREITAS, F. O. **Estudo genético-evolutivo de amostras modernas e arqueológicas de milho (*Zea mays*, L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2001. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (ed.). **Tecnologia de produção do milho**. 20. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. v. 1, p. 13-53.

GALVÃO, S. R. **Enfezamentos do milho**: incidência do fitoplasma e espiroplasma, dinâmica populacional, expressão de sintomas e caracterização molecular do fitoplasma com base no gene SecY. 2019. Tese (Doutorado em Ciências) -. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

GALVÃO, S. R.; SABATO, E. O.; BEDENDO, E. O. Occurrence and distribution of single or mixed infection of phytoplasma and spiroplasma causing corn stunting in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 46, p. 152–155, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40858-020-00381-6>. Acesso em: 12 set. 2023.

GÁMEZ, R. Maize rayado fino virus. **Descriptions of Plant Viruses**, [s. l.], 1980.

GÁMEZ, R.; KITAJIMA, E. W.; LIN, M. T. The geographical distribution of maize rayado fino virus. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 63, n. 10, p. 830–833, Oct. 1979. Disponível em: <https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=mdp.39015001262321&seq=334>. Acesso em: 12 set. 2023.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: Van SCHOONHOVEN, A.; VOYSEST, O. (ed.). **Common Beans: research for crop improvement**. Oxford: Oxford University Press, 1991. p. 7-53.

GIBBIS, A. J. *et al.* **Virus taxonomy**: ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Oxford: Elsevier, 2011. p. 944-952.

GIMÉNEZ-PECCI, M. P. *et al.* Occurrence of Maize rayado fino virus in Maize in Argentina. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, n. 9, p. 1046, Sept. 2000. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.9.1046D>.

GONÇALVES, M. C. *et al.* Infecção mista pelo Sugarcane mosaic virus e Maize rayado fino virus provoca danos na cultura do milho no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 4, p. 348-352, 2007.

GORDON, D. T.; KNOKE, J. K.; SCOTT, G. E. **Virus and virus like diseases of maize in the United States**: Wooster. Ohio: Ohio Agricultural Research and Development Custer, 1981.

GUIMARÃES, P. S. **Desempenho de híbridos simples de milho (*Zea mays* L.) e correlação entre heterose e divergência genética entre as linhagens parentais**. 2007. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo, Campinas, 2007.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, [College Station], v. 4, n. 1, p. 1-9, May 2001.

HAMMOND, R. W.; KOGEL, R.; RAMIREZ, P. Variability of geographically distinct isolates of maize rayado fino virus in Latin America. **Journal of General Virology**, London, pt. 2, p. 3153-3159, Dec. 1997.

HAMMOND, R. W.; RAMIREZ, P. Molecular characterization of the genome of *Maize rayado fino virus*, the type member of the genus *Marafivirus*. **Virology**, New York, v. 282, n. 2, p. 338-347, Apr. 2001.

HARLAN, J. R. *et al.* On the quality of evidence for origin and dispersal of cultivated plants [and Comments and Reply]. **Current Anthropology**, [Chicago], v. 14, n. 1/2, p. 51-62, Feb./Apr, 1973.

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

HOGENHOUT, S. A. *et al.* Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 9, n. 4, p. 403–423, June 2008.

HRUSKA, A. J.; PERALTA, M. G. Maize response to corn leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) infestation and achaparramiento disease. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 90, n. 2, p. 604-610, Apr. 1997.

IBGE. **Resultados definitivos do censo agro 2023**. Rio de Janeiro: IBGE, 2023.

ICTV - INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. **Virus Taxonomy**: 2022 Release. Florida: ICTV, 2023. Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy>. Acesso em: 11 maio 2026.

IDR-PARANÁ - INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO RURAL DO PARANÁ. **Complexo de enfezamento do milho no Paraná safra 2021/2022**. Curitiba: IDR-Paraná: ADAPAR, 2022. Nota Técnica nº 05/2022. Disponível em: https://www.idrparana.pr.gov.br/system/files/publico/Publica%C3%A7%C3%B5es/Notas%20T%C3%A9cnicas/NotaTecnicaEnfezamento05_08_22.pdf. Acesso em: 8 jan. 2025.

IDR-PARANÁ - INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO RURAL DO PARANÁ. **Desafios do complexo de enfezamento do milho no Paraná, safra de 2020/2021**. Curitiba: IDR-Paraná: ADAPAR, [2021]. Disponível em: https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2021-02/nota_tecnica_desafios_do_complexo_de_enfezamento_do_milho_0.pdf. Acesso em: 8 jan. 2025.

IDR-PARANÁ - INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO RURAL DO PARANÁ. **Monitoramento da cigarrinha-do-milho no estado do Paraná: Safra 2023/2024**. Londrina: IDR-Paraná, 2024. Disponível em: <https://www.idrparana.pr.gov.br>. Acesso em: 11 maio 2026.

JACÓBSEN, L. O. Estudo de casos de veranico em Porto Alegre/RS de 1961 à 1985. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 11, 1999, Florianópolis. **Anais [...]**. Florianópolis: SBA, 1999. p. 1462-66.

KIST, N. A. *et al.* Eficiência de fungos entomopatogênicos no controle de *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). *In*: SEMINÁRIO INTERINSTITUCIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 25., 2020, Cruz Alta. **Anais [...]**. Cruz Alta: Universidade de Cruz Alta, 2020. Disponível em: <https://revistaanais.unicruz.edu.br/index.php/inter/article/view/728/657>. Acesso em: 12 mar. 2024.

KITAJIMA, E. W.; GÁMEZ, R. Electron Microscopy of Maize Rayado Fino Virus in the Internal Organs of Its Leafhopper Vector. **Intervirology**, Basel, v. 19, n. 3, p. 129-134, 1983.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1991.

MAGALHAES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Fisiologia da produção de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

MANEIRA, R. Ferramentas para o controle da Cigarrinha-do-milho. **Informativo Técnico Nortox**, Arapongas, n. 32, p. 1-3, mar. 2021.

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

MARQUES, L. S.; SOUZA, E. S. Resistência de genótipos de milho indicados para o tocamantins frente à cigarrinha do milho. **Agri-Environmental Sciences**, Palmas, v. 9, n. 2, p. 7-7, 2023.

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

MENESES, A. R. *et al.* Seasonal and vertical distribution of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) in Brazilian corn fields. **Florida Entomologist**, Flórida, v. 99, n. 4, p. 750-754, 2016.

MIRANDA, H. R. N.; SOUSA, E. S. B.; SANTANA, G. G. Controle biológico: combate de pragas de forma sustentável na fase vegetativa do milho. **Facit Business and Technology Journal**, Araguaína, v. 2, n. 46, 2023.

NAULT, L. R.; BRADFUTE, O. E. Corn stunt: involvement of a complex of leafhopper pathogens. *In*: MARAMOROSCH, K.; HARRIS, K. (ed.). **Leafhopper vectors and plant disease agents**. New York: Academic Press, 1979. p. 561-586.

OLIVEIRA, C. M. Variação morfológica entre populações de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott, 1923) (Hemiptera: Cicadellidae) de algumas localidades do Brasil. 1996. 69f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

OLIVEIRA, C. M.; SABATO, E. O. (ed.). **Doenças em milho**: insetos-vetores, mollicutes e vírus. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 278 p.

OLIVEIRA, E. D.; RESENDE, R. D. O.; GIMÉNEZ PECCI, M. D. L. P.; LAGUNA, I. G.; HERRERA, P.; CRUZ, I. Incidência de viroses e enfezamentos e estimativa de perdas causadas por mollicutes em milho no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 38, p. 19-25, 2003.

PELLEGRINO, E. *et al.* Impact of genetically engineered maize on agronomic, environmental and toxicological traits: a meta-analysis of 21 years of field data. **Scientific Reports**, v. 8, p. 1-12, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-21284-2.

PINAZZA, L. A. (coord.). **Cadeia produtiva do milho**. Brasília, DF: MAPA, 2007. v. 1. (Série Agronegócios).

PINTO, M. R. **Cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*) e o complexo dos enfezamentos**: características de transmissão, disseminação e controle. 2021 Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) – Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/20.500.14289/13756>. Acesso em: 12 set. 2023.

SABATO, E. O. **Manejo do risco de enfezamentos e da cigarrinha no milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018. (Comunicado Técnico, 226).

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. Expression of cloned genes in *Escherichia coli*. *In*: SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning**. Michigan: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. Ch. 15.

SANCHES, A.; ALVES, L. R. A.; BARROS, G. S.C. Oferta e demanda mensal de milho no Brasil: impactos da segunda safra. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, DF, v. 27, n. 4, p. 73-97, 2019.

SANTOS, H. G. *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

SANTOS, S. S. **Alternativas para o controle da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*)**. 2024. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde, 2024.

SILVA, D. D. *et al.* **Protocolos para experimentação, identificação, coleta e envio de amostras da cigarrinha *Dalbulus maidis* e de plantas com enfezamentos em milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2021.

SILVA, H. P. *et al.* Manejo integrado de doenças na cultura do milho de safrinha. *In*: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA, 6.; CONFERÊNCIA NACIONAL DE PÓS-COLHEITA, 2.; SIMPÓSIO EM ARMAZENAGEM DE GRÃOS DO MERCOSUL, 2., 2001, Londrina. **Anais [...]**. Londrina: FAPEAGRO: IAPAR, 2001. p. 113-144. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/485002>. Acesso em: 28 mar. 2024.

SOUZA, A. E. *et al.* Estudo da produção do milho no Brasil: regiões produtoras, exportação e perspectivas. **South American Development Society Journal**, São Paulo, v. 4, n. 11, p. 182-194, 2018.

STÅL, C. Hemiptera. Rhynchota. *In*: **SYSTEMA Entomologiae**, Part 1, p. 1-474, 1859.

STÜRMER, G. R. *et al.* Simultaneous infection of *Leptodelphax maculigera* (Hemiptera: Delphacidae) by Maize rayado fino virus (MRFV) and Maize bushy stunt phytoplasma (MPSP) detected in Rio Grande do Sul, Brazil. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 131, p. 2247–2253, 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s41348-024-00988-w>. Acesso em: 12 set. 2023.

TAYLOR, R. A. J.; NAULT, L. R.; STYER, W. E. Experimental analysis of flight activity of three *Dalbulus* leafhoppers (Homoptera: Auchenorrhyncha) in relation to migration. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 86, n. 5, p. 655-667, Sept. 1993

TOFFANELLI, C. M.; BEDENDO, I. P. Efeito da população infetiva de *Dalbulus maidis* na produção de grãos e no desenvolvimento de sintomas do enfezamento vermelho do milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 82-86, jan./fev. 2002.

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**, College Park, v. 78, n. 3, p. 291-315, May 1985.

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

UNEM - UNIÃO NACIONAL DO ETANOL DE MILHO. **Sustentabilidade**. Cuiabá: UNEM, [2022]. Disponível em: <https://etanoldemilho.com.br/sustentabilidade/>. Acesso em: 12 mar. 2024.

UNITED STATES. Department of Agriculture. **Grain**: world markets and trade. UNITED STATES. Department of Agriculture, 2022. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/grain-world-markets-and-trade>. Acesso em: 28 jul. 2025.

VALICENTE, F. H. **Manejo integrado de pragas da cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015.

VIANA, P.; CRUZ, I.; WAQUIL, J. **Cultivo do milho**: pragas iniciais. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 2002.

WAQUIL, J. M. Cigarrinha-do-milho: vetor de mollicutes e vírus. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 2004. (Circular Técnica, 41).

WAQUIL, J. M. Corn leafhoppers as vectors of maize pathogens in Brazil. In: CASELA, C.; RENFRO, B.; KRATTIGER, A. F. (ed.), **Diagnosing maize diseases in Latin America**. Ithaca, ISAAA: Embrapa, 1998. p. 34-42.

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

WORDELL FILHO, J. A.; RIBEIRO, L. D. P.; CHIARADIA, L. A.; MADALÓZ, J. C.; NESI, C. N. Pragas e doenças do milho: diagnose, danos e estratégias de manejo. **Boletim Técnico**, Florianópolis, n. 70, p. 1-84, out. 2016.