

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE AGRONOMIA**



**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NA
CORTEVA AGRISCIENCE™, EM PLANALTINA, DISTRITO
FEDERAL, DURANTE O SEGUNDO SEMESTRE 2021**

Amanda Gabriella Silva Venâncio

**BRASÍLIA, DF
2022**

AMANDA GABRIELLA SILVA VENÂNCIO

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NA
CORTEVA AGRISCIENCE™, EM PLANALTINA, DISTRITO
FEDERAL, DURANTE SEGUNDO SEMESTRE 2021**

Relatório Final de Estágio Supervisionado apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para a obtenção do título de Engenheira Agrônoma

Orientadora:
PROF^ª. DR^ª. RENATA SANTOS DE MENDONÇA

**BRASÍLIA, DF
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA

Sr Silva Venâncio , Amanda Gabrilla
 RELATÓRIO DE ESTÁGIO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NA
CORTEVA AGRISCIENCE™, EM PLANALTINA, DISTRITO FEDERAL,
DURANTE SEGUNDO SEMESTRE 2021 / Amanda Gabrilla Silva
Venâncio ; orientador Renata Santos de Mendonça. -- Brasília,
2021.
 54 p.

 Monografia (Graduação - Faculdade de Agronomia e Medicina
Veterinária) -- Universidade de Brasília, 2021.

 1. Criação massal . 2. Spodoptera frugiperda. 3.
Cigarrinha do milho. 4. Dalbulus maidis. 5. Milho
transgênico . I. Santos de Mendonça, Renata , orient. II.
Título.

Cessão de direitos

Nome do Autor: Amanda Gabriella Silva Venâncio

Título: Relatório de estágio das atividades desenvolvidas na Corteva Agriscience™, em Planaltina, Distrito Federal, durante segundo semestre 2021

Ano: 2022

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desse relatório e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva - se a outros direitos de publicação, e nenhuma parte desse relatório pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

AMANDA GABRIELLA SILVA VENÂNCIO

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NA
CORTEVA AGRISCIENCE™, EM PLANALTINA, DISTRITO
FEDERAL, DURANTE SEGUNDO SEMESTRE 2021**

Relatório Final de Estágio Supervisionado apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Aprovado em 06 de maio de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br RENATA SANTOS DE MENDONÇA
Data: 06/05/2022 11:37:38-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Renata Santos, de Mendonça
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade
de Brasília
Orientador

Prof. Dr. Marcelo Fagioli
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade
de Brasília
Examinador

Coordenadora (P&D) Cíntia Gabriela Garlet
Corteva Agriscience
Examinador

Documento assinado digitalmente
gov.br ELISANGELA GOMES FIDELIS
Data: 16/05/2022 10:05:47-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dr. Elisângela Gomes Fidelis
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)
Examinador

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe e melhor amiga RITA DE CASSIA DA SILVA VENÂNCIO (*in memoriam*), que me ensinou tanto sobre a vida e me mostrou, diariamente, que é preciso encará-la com os pés fixos no chão e, ainda assim, continuar sonhando alto. Nos veremos em breve na eternidade.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua infinita bondade e misericórdia que se renovam a cada manhã, e me permitem tentar novamente dia após dia.

À minha família e amigas (os), que sempre me apoiaram e estiveram presentes nos melhores e nos piores momentos.

À Corteva Agriscience™ e também a minha gestora Renata Ramos Pereira, pela oportunidade de realização desse estágio; às coordenadoras Cinthia Garlet e Marta Nimet, que me acompanharam nas atividades laboratoriais, pelos ensinamentos ao longo do período estagiado na empresa e principalmente às minhas colegas de laboratório Ketty Helen Magalhães Xavier e Jaqueline Pereira da Silva, pelas experiências vivenciadas, por todo o auxílio e companheirismo.

À minha orientadora Renata Santos de Mendonça pelos conhecimentos compartilhados, compreensão, paciência e dedicação.

EPÍGRAFE

*Louvai ao Senhor todas as nações, louvai-o todos os povos.
Porque a sua benignidade é grande para conosco e a verdade do Senhor é eterna.
Louvai ao Senhor.
Louvai ao Senhor, porque Ele é bom, porque a sua benignidade dura para sempre.
Salmos 117; 118:1*

RESUMO

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NA CORTEVA AGRISCIENCE™, EM PLANALTINA, DISTRITO FEDERAL, DURANTE SEGUNDO SEMESTRE 2021

O presente trabalho tem o objetivo relatar as atividades desenvolvidas durante o estágio na Corteva Agriscience™, unidade de Planaltina, DF, no segundo semestre de 2021, no intervalo de 16/08/2021 a 10/12/2021, com 17 semanas corridas e 510 horas. O estágio está condicionado a matrícula na disciplina “Estágio Supervisionado 1” oferecida pela Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, e a celebração de um Termo de Compromisso de Estágio (TCE), que foi firmado entre a Corteva e a FAV, UnB. No Projeto Pedagógico do curso, o estágio está entre as exigências para a aprovação e obtenção do diploma de graduação em Agronomia. A Corteva é uma grande empresa americana considerada atualmente uma das maiores no ramo da agricultura, no que tange a produção de produtos químicos e sementes. Com a especialização adquirida ao longo dos anos, investimentos em inovação tecnológica e realizações científicas, tem oferecido ao setor agrícola produtos e serviços que propiciam melhorias para o campo, especialmente para as culturas do milho e da soja. As atividades realizadas durante o estágio envolveram o acompanhamento das pesquisas desenvolvidas no Insetário da Corteva, como os processos de criação massal de lepidópteros de culturas agrícolas para a cultura do milho, *i.e.*, *Spodoptera frugiperda*, e soja, *Spodoptera eridania* e *Spodoptera cosmioides*, criação da cigarrinha-do-milho (*Dalbulos maidis*) sobre o hospedeiro natural, coletas desses insetos no campo, realização de bioensaios em laboratório e ensaios em casa-de-vegetação. Estes insetos foram criados com o objetivo de monitorar populações do campo resistentes a uma das tecnologias desenvolvidas pela empresa, o milho *Bt*, e também testar outras novas tecnologias. As variedades de milho *Bt* caracterizam-se pela presença de um ou mais genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* em seu genoma. Essa bactéria é capaz de sintetizar proteínas tóxicas, conhecidas como Cry, Cyt ou Vip, que apresentam um grande potencial inseticida. O estágio permitiu aprender a lidar com dificuldades, enfrentar situações inusitadas, e assumir compromissos que envolvem o trabalho em equipe. O relacionamento com os profissionais da Corteva, a percepção da postura e atitudes diante de diversas circunstâncias trouxe experiências importantes para o desenvolvimento das habilidades científicas e práticas em entomologia e para o aperfeiçoamento profissional.

Palavras-chave: Criação massal de insetos, *Spodoptera frugiperda*, cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis*, milho transgênico

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Adulto e lagarta de espécies do gênero *Spodoptera*. A: *Spodoptera frugiperda*. B: *Spodoptera eridania*. C: *Spodoptera cosmioides*. 28
- Figura 2.** Adulto da cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* DeLong & Wolcott, 1923. **A:** Fonte, https://www.agrolink.com.br/problemas/cigarrinha-do-milho_509.html. **B:** Fonte, adaptado de <https://hanseandina.com/blog/2018/11/26/chicharrita/> 31
- Figura 3.** Plantas de milho com sintomas de doenças do complexo do enfezamento do milho. A: Enfezamento vermelho (*maize bushy stunt phytoplasma*, MBSP); B: enfezamento pálido (*corn stunt Spiroplasma*, CSS). Fonte: Sabato et al. (2016), Oliveira e Sabato (2018). 31
- Figura 4.** Folhas de milho com sintomas de enfezamento causado pelo vírus do raiado fino (*maize rayado fino virus*, MRFV). Fonte: <https://revistacultivar.com.br/artigos/cigarrinha-do-milho-e-a-transmissao-de-doencas-que-afetam-a-productividade> Oliveira et al. (2003), Sabato (2018). 32
- Figura 5.** Danos por enfezamento nas espigas de milho. **A:** Enfezamento pálido (*corn stunt Spiroplasma*, CSS), FOTO: CABI, 2022. **B:** Enfezamento vermelho (*maize bushy stunt phytoplasma*, MBSP), Foto: Sabato et al. (2016). **C:** Aspecto geral dos danos por enfezamento, Foto: <https://www.opresente.com.br/parana/cigarrinha-do-milho-ameaca-segunda-safra-no-parana/> 32
- Figura 6.** Representação do ciclo biológico de *Dalbulus maidis*. Foto: Embrapa Milho e Sorgo. 33
- Figura 7.** *Dalbulus maidis*, adultos com o detalhe das manchas circulares negras na frente (indicadas com as setas pretas) bem marcadas na região da coroa, na cabeça, entre os olhos compostos. Fonte: A: Oliveira (2020) – Banco de imagens, Embrapa Cerrados. B: Agroinovadores – Genica <https://i0.wp.com/agro.genica.com.br/wp-content/uploads/2020/02/ig2.jpg?fit=1000%2C1000&ssl=1> 34
- Figura 8.** Cartucho do milho com infestação de ninfas e adultos da cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis*. **A:** Fonte: Dirceu Gassen <http://www.pragas.com.br/wp-content/uploads/2021/02/WhatsApp-Image-2021-02-09-at-16.31.54.jpeg>. **B:** Fonte: Aristides Garcia, <https://assets.revistacultivar.com.br/webp/b3ee3e9c47abd66b03602a4443f8ba48.jpg> 35
- Figura 9.** Corteva Agriscience™, unidade de Planaltina, Brasília – DF Fonte: Corteva Agriscience™ 36
- Figura 10.** Tacho elétrico de cozimento industrial de 20L. Fonte: Amanda Venâncio. 39
- Figura 11.** A: Distribuição da dieta artificial em bandejas utilizando pisseta. B: Pote de 250mL contendo dieta artificial e postura. Fonte: Amanda Venâncio. 39
- Figura 12.** Esterilização de bandejas de criação e bandejas de coleta em cabine de segurança biológica com luz UV. Fonte: Amanda Venâncio. 40
- Figura 13.** Transferência de formas neonatas para as bandejas de criação. Fonte: Amanda Venâncio. 41
- Figura 14.** A: Retirada de pupas com pinça entomológica. B: Pupas sendo escorridas na peneira após tratamento com solução desinfetante já separadas conforme a espécie. Fonte: Amanda Venâncio.... 41
- Figura 15.** A: Gaiola de adultos de *Spodoptera* contendo solução para alimentação a base de mel. B: Toca de adultos. Fonte: Amanda Venâncio..... 42

- Figura 16.** Fita tipo *GMO strip test* no interior de microtubos contendo folha e água destilada para testar a presença ou a ausência da proteína *Bt*. Fonte: Amanda Venâncio. 45
- Figura 17.** Sexagem sob o microscópio estereoscópio de pupas de *Spodoptera*. Fonte: Amanda Venâncio. 46
- Figura 18 A:** Potes com casais emparelhados para acasalamento. **B:** Casal emparelhado e posturas na tampa. Fonte: Amanda Venâncio. 46
- Figura 19.** Etapas da criação de *Dalbulos maidis* e de obtenção e manutenção dos fitopatógenos. Fonte: Amanda Venâncio. 48
- Figura 20.** Gaiolas para a criação de cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis*. Fonte: Amanda Venâncio. 49
- Figura 21 A:** Vasos recobertos com sacos de confinamento para contaminação de plantas de milho. **B:** Casa de vegetação para plantio de plantas de milho. Fonte: Amanda Venâncio. 50
- Figura 22.** Inoculação de *Dalbulus maidis* em plantas de milho recobertas com sacos de confinamento em casa de vegetação. Fonte: Amanda Venâncio. 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das dietas artificiais utilizadas no Insetario para a manutenção das populações de referência e de campo de <i>Spodoptera frugiperda</i>	388
--	-----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS.....	20
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1 HISTÓRICO CORTEVA	21
3.2 CULTURA DO MILHO	22
3.2.1 MILHO <i>BT</i>	23
3.3 CULTURA DA SOJA.....	25
3.4 CRIAÇÃO MASSAL DE INSETOS	25
3.4.1 <i>Spodoptera</i> sp.....	28
3.4.2 <i>Dalbulos maidis</i>	31
4 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO.....	35
4.1 CRIAÇÃO MASSAL DE LEPIDÓPTEROS	36
4.1.1 DIETA ARTIFICIAL.....	37
4.1.2 MANIPULAÇÃO DAS POSTURAS, LAGARTAS E PUPAS.....	40
4.1.3 ADULTOS	42
4.2 REALIZAÇÃO DE BIOENSAIOS	43
4.2.1 BIOENSAIO PARA A MANUTENÇÃO DAS CRIAÇÕES EM LABORATÓRIO ...	43
4.2.2 BIOENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE LAGARTAS A PROTEÍNA <i>BT</i>	44
4.2.3 BIOENSAIO <i>F1 SCREEN</i>	45
4.3 CRIAÇÃO MASSAL DE CIGARRINHA-DO-MILHO, <i>Dalbulus maidis</i>	47
4.4 ENSAIO DE TRANSMISSÃO DE FITOPATÓGENOS PELA CIGARRINHA-DO- MILHO 51	
5. ANÁLISE CRÍTICA	53
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1. INTRODUÇÃO

Este documento corresponde ao Relatório Final de Estágio Supervisionado realizado na Corteva Agriscience™, no setor de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D), Laboratório de Entomologia, denominado Insetário, localizado em Planaltina, Distrito Federal. O período de estágio correspondeu a 510 horas, equivalentes a 17 semanas compreendidas entre 16/08 a 10/12/2021. O estágio foi realizado em conformidade com o Regulamento de Estágio Obrigatório do curso de Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, FAV/UnB, de acordo com a Lei 11.788/08 de 25 de setembro de 2008 e está entre as exigências para a aprovação e obtenção do diploma de graduação em Agronomia.

As atividades do Estágio Supervisionado foram voltadas para os trabalhos com lepidópteros e cigarrinhas considerados praga do milho. O milho é uma *commoditie* de suma importância para o Brasil; esta ocupou, na safra 2021/22, uma área cultivada correspondente a 21.116,7 milhões de hectares, com produção aproximada de 112.341,1 milhões de toneladas e produtividade média de 5.320 kg. ha⁻¹ (CONAB, 2022). As pragas que ocorrem na lavoura estão entre os problemas que mais preocupam o produtor. Os insetos têm ocasionado perdas da ordem de 20 a 30% da produção mundial, estando entre as maiores causas de danos na produção de alimentos (ESTRUCH et al., 1997). Entre as artrópodes pragas importantes, destacam-se os lepidópteros desfolhadores e a cigarrinha-do-milho.

Entre as espécies de lepidópteros pragas do milho, o gênero *Spodoptera* (Lepdoptera: Noctuidae) possui pelo menos oito espécies registradas no Brasil: *Spodoptera albula* (Walker, 1857); *Spodoptera androgea* (Stoll, 1782); *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858); *Spodoptera dolichos* (Fabricius, 1794); *Spodoptera eridania* (Stoll, 1782); *Spodoptera evanida* Schaus, 1914; *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e *Spodoptera ornithogalli* (Schaus, 1904) (Pogue 2002). Essas espécies são generalistas e podem ocorrer em diversas culturas de forma simultânea na lavoura.

Entre as espécies de pragas vetoradas de doenças, a cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), causa prejuízos a produção desta *commoditie* no Brasil e na América Latina. Essa espécie é responsável por danos diretos à cultura, ocasionados pela sucção contínua de seiva e injeção de toxinas, e danos indiretos causados pela capacidade de transmitir doenças às plantas. As doenças transmitidas pela

cigarrinha são conhecidas como complexo de enfezamentos e os fitopatógenos transmitidos são: vírus do raiado fino (*maize rayado fino virus*, MRFV), espiroplasma, *Spiroplasma kunkelii*, (Mollicutis, Spiroplasmataceae) (Whitcomb et al. 1986) responsável pela doença conhecida como o enfezamento pálido (*corn stunt spiroplasma*, CSS) e o fitoplasma (Acholeplasmatales: Acholeplasmataceae,) (FIRRAO et al, 2004) responsável pelo enfezamento vermelho (*maize bushy stunt phytoplasma*, MBSP) (KITAJIMA et al., 1984; NAULT, 1980, 1990; LOPES; OLIVEIRA, 2004). A criação de insetos-vetores, especialmente os sugadores, necessita de material biológico vivo, visto que sua criação em dietas artificiais é muito difícil, especialmente quando se trata de estudos de transmissão de patógenos causadores de doenças às plantas. A manipulação e a manutenção das colônias desses insetos requerem uma infraestrutura específica.

A busca por métodos alternativos e seguros de controle de pragas tem sido foco de diversas pesquisas ao redor do mundo (BOBROWSKI, 2003). O milho *Bt*, caracterizado pela presença de um ou mais genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* em seu genoma, está entre as descobertas que permitiram menor dependência do controle químico, o qual pode gerar resíduos tóxicos no produto final obtido além da contaminação ambiental, que traz risco tanto para o agricultor quanto para o consumidor (WAQUIL, 2003).

Outra cultura de grande destaque, que também foi objeto de trabalho, foi a soja. Essa commodity ocupou uma área de 40.703,6 milhões de hectares na safra 2021/22, com produção de 122.769,6 milhões de toneladas e produtividade média de 3.016 kg ha⁻¹ (CONAB, 2022). O ataque de insetos-praga pode ocorrer durante todo o ciclo da soja e também tem sido um desafio para a produção (FREITAS, 2011).

Pesquisas detalhadas sobre o comportamento e biologia dessas pragas permitem avanços na utilização de técnicas de controle de pragas. As criações artificiais de insetos têm sido uma ferramenta fundamental para o desenvolvimento de alternativas de controle de insetos, adequação do manejo integrado de pragas (MIP), uso de resistência de plantas, e controle genético (EMBRAPA, 2018; PARRA, 2019). Os avanços nos mecanismos de criação massal difundiram o uso de dietas, além de aprimorar os meios naturais, criações sobre as plantas hospedeiras, para a alimentação de insetos que não podem ser mantidos em dietas artificiais (PANIZZI & PARRA, 2013).

As atividades realizadas durante o estágio envolveram o acompanhamento dos processos de criação massal de lepidópteros, criação de cigarrinha-do-milho (*D. maidis*) sobre o hospedeiro natural, a realização de bioensaios em laboratório e ensaios em casa-de-vegetação.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste relatório técnico de estágio foi apresentar as atividades desenvolvidas, com supervisão técnica, na empresa Corteva Agriscience™, setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Laboratório de Entomologia, durante o período de Estágio Supervisionado Obrigatório.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 HISTÓRICO CORTEVA

A Corteva Agriscience™ é uma empresa de voltada à agricultura. De acordo com o site da empresa, foi fundada a partir da fusão da DuPont Pioneer, DuPont Crop Protection e Dow AgroSciences, sendo considerada, hoje, uma das líderes do mercado global de sementes e defensivos.

No ano de 1972, foi anunciada a formação da empresa Proagro Pioneer S.A. - Agricultura, Indústria e Comércio. Em 1982, a razão social da empresa mudou para Pioneer Hi-Bred International Inc., ficando instituída então a Pioneer Sementes LTDA. No final da década de 1990, a Pioneer entrou no mercado de sementes de soja, desenvolvendo um programa de melhoramento que inovou o setor ao verticalizar o processo de beneficiamento de suas sementes numa unidade própria construída na cidade de Planaltina - DF. A partir deste período, a área de logística da empresa passou a ganhar um significado maior e a Pioneer instalou Centros de Distribuição (CDs) em todo o Brasil. A Pioneer foi a primeira empresa do setor de sementes na América Latina a ser certificada, tanto para produção, quanto para seus laboratórios de análise de sementes. Além disso, a empresa conquistou o Certificado de Qualidade em Biossegurança – CQB, o qual lhe autorizou a realizar pesquisas de campo com produtos geneticamente modificados e/ou transgênicos.

Em 1999, foi anunciado um acordo que resultou na completa aquisição da Pioneer Hi-Bred International pela tradicional empresa da área química E. I. DuPont de Nemours & Company. Porém, a incorporação da Pioneer pela Du Pont do Brasil só ocorreu oficialmente no ano de 2005, quando a nova razão social passou a ser Du Pont do Brasil S.A. – Divisão Pioneer Sementes. Foram realizados inúmeros investimentos nas áreas de produção e de pesquisa. De 2000 a 2007, a Pioneer inaugurou diversas unidades de produção e estações de pesquisa para soja e milho em todo o Brasil. Em 2012, a empresa adotou um novo logotipo e passou a utilizar o nome DuPont Pioneer.

No ano de 2017, houve uma nova mudança significativa com fusão entre as gigantes americanas Dow e DuPont. A entidade combinada passou a operar como uma holding sob o nome “DowDuPont” e com três divisões: agricultura, ciência dos materiais e produtos especializados. No entanto, já era esperado que, posteriormente, houvesse a divisão das empresas em três companhias.

Em 2018, foi oficialmente divulgada a marca Corteva Agriscience, Divisão Agrícola da DowDuPont™. O nome Corteva não foi escolhido ao acaso. O termo “Cor” deriva do latim e significa coração, enquanto “Teva” é um vocábulo antigo de origem hebraica, que quer dizer natureza. O significado do nome, “coração da natureza”, carrega em si a tarefa de servir como justificativa para um dos propósitos da empresa: melhorar a vida de produtores rurais e consumidores, a fim de garantir o progresso das próximas gerações. Logo no ano seguinte, em 2019, a marca se separou da holding DowDuPont, passando à subsidiária integral da Corteva Agriscience™, como é conhecida atualmente.

3.2 CULTURA DO MILHO

O milho *Zea mays* (L.) é uma cultura de vital importância para o modelo agrícola atual. Ocupa o posto de segundo cereal mais cultivado e exportado, ficando atrás apenas da soja, com isso, se confirma com uma das principais atividades da economia nacional que é de vital importância para a balança comercial brasileira, o agronegócio. Sua grande capacidade produtiva e facilidade de cultivo torna viável a sua presença nas lavouras em todo território nacional (ESPIRITO SANTO, 1994; CONTINI et al. 2019).

No Brasil, a produção de milho é caracterizada pela divisão da produção em duas épocas de plantio no ano. A primeira safra ocorre no verão, durante o período chuvoso, que varia entre o final de agosto para a região sul, até os meses de outubro/novembro no Sudeste e Centro-Oeste. No Nordeste, esse período ocorre no início do ano. A segunda safra, ou “safrinha”, como é chamada, diz respeito ao plantio do milho de sequeiro, plantado após a soja precoce, em fevereiro ou março, principalmente na região do Centro-Oeste e nos estados do Paraná e São Paulo (GARCIA, 2006).

Dados revelam que o aumento da oferta global para a safra 2021/22 mostram que a produção mundial de milho deve alcançar 1.197,77 milhões de toneladas, um aumento de 7,2% em relação à safra anterior. Dentre os maiores produtores mundiais de milho, o Brasil ocupa a terceira posição, depois de EUA e China. Juntos, os três países são responsáveis por mais de 60% de todo o milho produzido no mundo (USDA, 2022).

Na safra 2021/22, a área cultivada com essa cultura no Brasil foi de 21.116,7 milhões ha, correspondendo a produção de 112.341,1 mil toneladas, com produtividade média de 5.320 kg ha⁻¹ (CONAB, 2022).

A implementação de novas tecnologias tem contribuído significativamente para o aumento de produtividade no Brasil, o que comprova que o setor vem se profissionalizando cada vez mais. Essas tecnologias estão associadas a melhoria na qualidade de sementes; controle químico de doenças; correção de solos; espaçamento reduzido associando à maior densidade de plantio; cultivares de alto potencial genético (híbridos simples e triplos) e cultivares transgênicas (EMBRAPA, 2017).

3.2.1 MILHO *Bt*

O milho é uma cultura importante para suprir as necessidades atuais da sociedade e apresenta uma demanda de consumo e mercado cada vez maior ao longo dos anos (LOGUERCIO et al., 2002). Dentre os principais problemas encontrados no cultivo do milho, o controle de pragas pode ser considerado um dos mais preocupantes. Os insetos têm ocasionado perdas da ordem de 20 a 30% da produção mundial, estando entre as maiores causas de danos na produção de alimentos (ESTRUCH et al., 1997). A expansão do plantio direto, da safrinha e de culturas irrigadas têm contribuído para o aumento da densidade populacional de vários insetos-praga. A safrinha e os plantios irrigados suprem os insetos de alimentos durante a entressafra de verão, contribuindo com o aumento da densidade populacional de espécies que se alimentam e se reproduzem principalmente da cultura do milho (WAQUIL, 2009).

A busca por métodos alternativos de controle de pragas tem sido foco de diversas pesquisas ao redor do mundo, em função da necessidade de uma agricultura mais desenvolvida e sustentável, que vise a preservação do meio ambiente (BOBROWSKI, 2003). Para tanto, a combinação de conhecimentos e avanços na biotecnologia e engenharia genética, resultou no desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas, que podem ser consideradas uma tática de controle de Manejo Integrado de Pragas em inúmeros ecossistemas. Nesse viés, é possível ressaltar o desenvolvimento das variedades de milho *Bt*, caracterizado pela presença de um ou mais genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* em seu genoma.

Segundo James (2000), o milho *Bt* é atualmente a planta transgênica mais cultivada no mundo, ocupando cerca de 15% da área global em países como EUA, Canadá, Argentina, África do Sul e Espanha. O algodão *Bt* ocupa o segundo lugar em áreas plantadas, representando aproximadamente 7% da área cultivada com transgênicos. O maior controle de artrópodes-praga obtido pelo uso de plantas *Bt*, quando comparado ao convencional, possibilitou a redução

da demanda pelo controle químico, o qual pode apresentar falhas frequentes e gerar resíduos tóxicos no produto final obtido, populações de insetos resistentes, além da contaminação ambiental, que traz risco tanto para o agricultor quanto para o consumidor (WAQUIL, 2003).

O agente microbiano *Bt* é considerado o mais utilizado em todo o mundo no controle de pragas agrícolas (VILAS-BÔAS; PERUCA; ARANTES, 2007). Essa bactéria gram-positiva entomopatogênica, que pode ser facilmente encontrada no solo, é capaz de sintetizar proteínas tóxicas com ação inseticida, ao serem ingeridas pelo inseto suscetível, frente as mais variadas ordens. Essas proteínas são sintetizadas durante a fase de esporulação da bactéria e se acumulam na periferia dos esporos na forma de cristais em um dos polos da célula (proteínas Cry e Cyt); ou ainda, durante a fase vegetativa (proteínas Vip) (BOBROWSKI, 2003; ESTRUCH et al., 1996; GLARE; O'CALLAGHAM, 2000; DE MAAGD et al., 2003). Lee et al., (2006) ressaltou que as proteínas Vip apresentaram um grande potencial inseticida contra pragas que apresentaram resistência às proteínas Cry, já que atuaram em receptores diferentes no inseto.

A resistência de pragas pode ser considerada o maior entrave para o uso de culturas que expressam a proteína *Bt*. A execução de um programa efetivo de Manejo a Resistencia de Insetos (MRI) às tecnologias *Bt* é de suma importância para assegurar a sua eficácia. Esse manejo refere-se a um conjunto de procedimentos aplicados em áreas agrícolas, a fim de evitar e/ou retardar a evolução da resistência das pragas aos agentes utilizados no seu controle. Para o MRI em plantas *Bt*, tem sido usado as estratégias de alta dose de refúgio, pirâmide de genes e o monitoramento (MACHADO; FIUZA, 2011; BERNARDI et al., 2016).

Destaca-se o uso do monitoramento de plantas transgênicas como forma de identificar a quebra da resistência a tecnologia *Bt* nas populações de insetos-praga no campo. O ideal é que as mudanças nas frequências de resistência de pragas às proteínas *Bt* sejam acompanhadas através de estudos em laboratório. Dentre os métodos utilizados no monitoramento enfatiza-se duas classes: fenotípica e genotípica. O método fenotípico mensura a suscetibilidade dos insetos pela exposição às proteínas inseticidas, através de bioensaios em dietas artificiais, ou sobre o tecido vegetal da planta (BERNARDI et al., 2011). Já o método genotípico utiliza o “*F₁ Screen*” e o “*F₂ Screen*” como forma de detectar a frequência inicial de alelos resistentes em populações do campo (LEITE, N. A. et al., 2011).

3.3 CULTURA DA SOJA

A incorporação da soja (*Glycine max* (L.) (Merrill) na agricultura brasileira revolucionou completamente o setor. Se antes era considerada incipiente, hoje é tido como um dos principais produtos de exploração agrícola e da economia nacional, visto que o Brasil tem uma participação significativa na oferta e demanda de produtos do complexo agroindústria da soja (BONATO, 1987; HIRAKURI & LAZZAROTTO, 2014).

O primeiro relato sobre o surgimento da soja no Brasil foi em 1882, sendo cultivada no estado da Bahia (BLACK, 2000). Em seguida, foi levada para São Paulo e somente em 1914 a soja foi introduzida no estado do Rio Grande do Sul. Este foi o local onde as variedades trazidas dos Estados Unidos melhor se adaptaram às condições edafoclimáticas, que até então configuravam um grande problema para a disseminação da cultura, principalmente em relação ao fotoperíodo (BONETTI, 1981). A implantação de programas de melhoramento de soja no Brasil possibilitou o avanço desta para as regiões de baixas latitudes, sendo difundida assim em praticamente todo o território brasileiro.

No Brasil, a área cultivada com essa cultura na safra 2021/22 foi de 40.703,6 milhões de ha, correspondendo a produção de 122.769,6 milhões de toneladas, com produtividade média de 3.016 kg ha⁻¹, cerca de 14,4% a menos que a registrada na safra anterior (CONAB, 2022).

Além do ambiente, os ataques de insetos- praga, que podem ocorrer durante todo o ciclo da soja, também tem sido um desafio para a produção. O complexo de percevejos fitófagos (*Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* e *Euschistus heros*) e as lagartas desfolhadoras (a lagarta da soja: *Anticarsia gemmatalis* e a lagarta falsa-medideira: *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858), anteriormente conhecida como *Pseudoplusia includens*) são as principais pragas da cultura soja no Brasil (FREITAS, 2011).

O controle das principais pragas da soja, o monitoramento destas e os avanços tecnológicos contribuem para o progresso da cultura, possibilitando superar desafios técnicos que surgem todos os anos e acabam por influenciar as atividades de pesquisadores, melhoristas, técnicos e agricultores que trabalham com a cultura da soja (FREITAS, 2011).

3.4 CRIAÇÃO MASSAL DE INSETOS

A importância da criação massal de insetos no Brasil outrora fora uma questão de grande discussão, principalmente quanto a sua validade e relevância, visto que no passado a

preocupação era apenas uma: eliminar as pragas (PARRA, 2019). Atualmente, a criação de insetos ganhou espaço e se tornou de grande valia para ciência entomológica moderna, passando a ser fundamental para o desenvolvimento de pesquisas aplicadas as técnicas de controle de insetos, manejo integrado de pragas (MIP), resistência de plantas, bioensaios e controle genético (EMBRAPA, 2018; PARRA, 2019). Os avanços nos mecanismos de criação difundiram o uso de dietas artificiais, mas em alguns casos são utilizados, ainda, os meios naturais para a alimentação de insetos. A criação de insetos em hospedeiros naturais pode ser difícil, já que depende da sazonalidade e manutenção da planta em condições e locais adequados (PANIZZI & PARRA, 2013).

Uma dieta artificial pode ser definida como: “Alimentos fornecidos pelo homem, na tentativa de substituir um alimento natural por outro mais acessível, ou conveniente, sob o ponto de vista técnico ou econômico” (PARRA, 2019). De acordo com o autor, a dieta pode ser formulada em pó, semilíquida para fitófagos mastigadores, líquida para fitófagos sugadores ou endoparasitóides.

A partir dos anos de 1960, as dietas artificiais propiciaram um aperfeiçoamento de pesquisas sobre as exigências nutricionais, sendo identificados meios artificiais para a criação de mais de 1.300 espécies de insetos (PANIZZI & PARRA, 2013). Embora tenham ocorrido avanços nas dietas para parasitoides e predadores (COHEN, 2004), cerca de 85% das dietas são destinadas a insetos fitófagos, das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (PANIZZI & PARRA 2013).

A determinação de uma dieta artificial ideal para a criação de um inseto é um dos primeiros passos a se estabelecer. É de extrema importância conhecer o comportamento, hábitos, preferência alimentar do inseto; além de saber quais são as suas necessidades nutricionais (SALVADORI & PARRA 1990).

De acordo com Parra (2019), uma dieta artificial é considerada adequada quando proporciona alta viabilidade larval, é capaz de produzir insetos iguais aos da natureza, competitivos, origina adultos com elevada capacidade reprodutiva e serve para mais de uma espécie, ou até mesmo, se possível, mais de uma ordem. Além disso, a dieta precisa ser viável economicamente e ser composta por ingredientes de fácil acesso, que sejam capazes de manter a qualidade do inseto ao longo das gerações, preenchendo assim os requisitos mínimos de qualidade biológica, quantidade e economicidade.

O primeiro inseto a ser criado sob condições artificiais, de ovo a adulto, foi a mosca *Calliphora vomitoria* (L.), que foi mantida em uma dieta de peptona, extrato de carne, amido e minerais (Bogdanov, 1908). Loeb (1915) criou *Drosophila* sp. por cinco gerações em uma dieta

composta de açúcar de uva, açúcar de cana, tartarato de amônio, ácido cítrico, fosfato monoácido de potássio, sulfato de magnésio e água. Dois anos depois, Guyénot (1917) manteve, com bons resultados, colônias de *Drosophila ampelophila* Loew em uma dieta exclusivamente artificial. Esse organismo é considerado um dos mais fáceis de se multiplicar e tem sido o principal inseto em pesquisas de genética (PARRA, 2019; PANIZZI & PARRA, 2013). Já a criação de hemípteros com substratos artificiais foi estabelecida por Schell et al. (1957), com as espécies *Oncopeltus fasciatus* (Dallas) (Lygaidae) e *Euschistus variolarius* (Palisot de Beauvois) (Pentatomidae).

A introdução do germe de trigo na formulação de dietas artificiais para a lagarta rosada do algodoeiro, *Pectinophora gossypiella* (Bull et al., 1960) (Gelechiidae), e para a lagarta da maçã do algodoeiro, *Heliothis virescens* (F.) (Berger, 1963) (Noctuidae), foi considerada um dos maiores avanços nas técnicas de criação de lepidópteros e outras pragas, e passou a ser utilizado como substrato para a dieta de inúmeros insetos fitófagos, sendo base, inclusive, na formulação da dieta para as espécies estudadas no presente trabalho.

Parra (1998) descreveu que as dietas artificiais são vantajosas especialmente por demandar menos mão-de-obra, em contraste com a manutenção de insetos em seus hospedeiros naturais, que exige a manutenção das plantas. Ainda assim, a criação sobre plantas é importante para determinados grupos de insetos, como hemípteros e tisanópteros. Destaca-se que para a manutenção das plantas hospedeiras, muitas vezes, há a necessidade de casas-de-vegetação para o cultivo, em função do controle da umidade e temperatura. Espécies pequenas, como, por exemplo, tripses, moscas-brancas e também a cigarrinha-do-milho, demandam atenção especial com a criação, pois é necessário manter o isolamento com telas finas a fim de separar criações e evitar a mistura de espécies.

Nesse trabalho, as dietas artificiais foram utilizadas no Laboratório de Insetos da Corteva por representar uma técnica vantajosa e prática à manutenção das criações dos insetos para o desenvolvimento de estudos de resistência de milho e soja às populações de lepidópteros do gênero *Spodoptera*, além do fornecimento de insetos para estudos de produtos em campo em outras unidades. Paralelamente, uma dieta natural utilizando plantas de milho foi utilizada para a manutenção de populações da cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis*, vetor de doenças fitoplasma, espiroplasma e virose da risca do milho, para os estudos de transmissibilidade e controle.

3.4.1 *Spodoptera* sp.

O gênero *Spodoptera* (Lepdoptera: Noctuidae) possui uma vasta gama de espécies distribuídas em todo o mundo e compreende 30 espécies descritas. Metade delas, por serem consideradas espécies polípagas, afetam inúmeras culturas de importância econômica (POGUE, 2002). Ao menos oito espécies são registradas para o Brasil: *Spodoptera albula* (Walker, 1857); *Spodoptera androgea* (Stoll, 1782); *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858); *Spodoptera dolichos* (Fabricius, 1794); *Spodoptera eridania* (Stoll, 1782); *Spodoptera evanida* Schaus, 1914; *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e *Spodoptera ornithogalli* (Schaus, 1904) (Pogue 2002). Essas espécies generalistas e com características morfológicas próprias, podem ocorrer em diversas culturas de forma simultânea.

No laboratório de Criação de Insetos da Corteva, na unidade de Planaltina-DF, foram monitoradas três espécies do gênero *Spodoptera*, *i.e.*, *S. frugiperda*, *S. cosmioides* e *S. eridania* (Figura 1). A diferenciação entre elas é considerada difícil devido a semelhança interespecífica, especialmente quanto ao padrão de coloração das asas (POOLE, 1989; POGUE, 2002).



Figura 1 Adulto e lagarta de espécies do gênero *Spodoptera*. **A:** *Spodoptera frugiperda*. **B:** *Spodoptera eridania*. **C:** *Spodoptera cosmioides*.

Comumente conhecida como lagarta-do-cartucho-do-milho, *S. frugiperda* é considerada uma das pragas mais importantes da cultura do milho, embora possua hábito alimentar diversificado, infestando diferentes hospedeiros. Cruz (1995), relatou a preferência do inseto por gramíneas (Poaceae), incluindo, além do milho, trigo, sorgo e arroz. Também pode causar danos a culturas como feijão, alface, amendoim, batata, repolho, tomate, espinafre,

couve, abóbora, algodão, soja, atacando mais de 50 variedades de plantas em mais de 20 famílias botânicas.

Alimenta-se em todas as fases de crescimento da cultura do milho, desde plântula até o pendoamento e espigamento. Na fase jovem, as lagartas raspam o limbo foliar. Depois, se alimentam das folhas centrais da região do cartucho, podendo destruí-lo totalmente (DA ROSA & BARCELOS 2012). De acordo com Sparks (1979) o maior consumo foliar ocorre quando as lagartas estão no quinto e sexto instar. Os insetos têm preferência pelo cartucho de plantas jovens. Durante seu ciclo de vida, por ser um inseto que apresenta metamorfose completa (holometabólico), passa por quatro fases distintas: ovo, lagarta, pupa e adulto. Os ovos são colocados em massas, sem haver um local específico na planta, podendo uma fêmea ovipositar até 1000 ovos (ÁVILA et al., 1997). Logo após a oviposição a massa de ovos apresenta uma coloração verde-clara levemente acinzentada e após cerca de 12 a 15 horas, adquirem uma coloração alaranjada. O período de incubação varia de acordo com a temperatura, sendo em média de 2 a 4 dias (DA ROSA & BARCELOS 2012; CRUZ, 1995)

Após a eclosão, as lagartas se alimentam do córion (casca do ovo) e ao longo do seu desenvolvimento, passam por cinco, seis, ou até mesmo sete instares larvais, sendo esta duração dependente da disponibilidade de alimento e condições de temperatura (DA ROSA & BARCELOS 2012). Cada instar pode ser dividido em dois períodos, um de alimentação ativa e outro de descanso, podendo este ser prolongado mediante baixas temperaturas (CRUZ, 1995). Uma lagarta completamente desenvolvida no primeiro instar apresenta mais pelos e a cabeça é mais larga em comparação ao restante do corpo, medindo aproximadamente 1,90mm. Possuem três pares de pernas torácicas e cinco pares de falsas pernas abdominais. No geral, possui a coloração esbranquiçada, tornando-se esverdeada após a alimentação. A partir do segundo instar apresentam canibalismo, sendo encontrada, geralmente, apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho (ÁVILA et al., 1997; GRÜTZMACHER et al., 2000). O segundo instar larval é caracterizado por um corpo de coloração esbranquiçada como no instar anterior, mas com um sombreamento marrom no dorso, atingindo de 3,5 a 4,0 mm. A larva de terceiro instar é de coloração marrom-clara no dorso, esverdeada na parte ventral, com linhas dorsais e subdorsais brancas e completamente visíveis, com comprimento entre 6,35 e 6,50mm. No quarto instar a lagarta possui a cabeça marrom-avermelhada e o dorso de corpo marrom-escuro, atingindo até 10mm. O quinto instar é semelhante ao anterior, sendo a coloração um pouco mais escura, tendo o comprimento em torno de 18mm. Por fim, nos instares finais, a lagarta possui um corpo cilíndrico, com o dorso marrom-acinzentado, sendo esverdeada na parte ventral e subventral com manchas de coloração marrom-avermelhada. Sendo as linhas dorsais e subdorsais

proeminentes, tendo o corpo mais amplo do sétimo ao nono segmento abdominal, alcançando cerca de 35mm de comprimento. Na frente da cabeça da lagarta é bastante comum a visualização de um Y invertido que, apesar de não ser sempre evidente, serve como meio para sua identificação (CRUZ, 1995).

Quando completamente desenvolvida, a lagarta usualmente se dirige para o solo, e passa por um período denominado pré-pupa, que pode durar de 3 a 5 dias (a depender da temperatura), durante o qual ela não se alimenta. Após esse período, se transforma em pupa, tendo a coloração verde clara, com tegumento transparente, possibilitando a visualização das vísceras. Pouco tempo depois ela passa ser alaranjada, chegando a ser marrom-avermelhada e por fim escurece até tornar-se quase preta, quando próxima a emergência do adulto. O comprimento atinge cerca de 13 a 16 mm e o período pupal varia de 6 a 55 dias a depender da temperatura do ambiente (CRUZ, 1995).

Após a emergência, os adultos (mariposas), normalmente, voam para longe da área de origem. A temperatura ideal para a emergência varia de 21 a 26,7°C e mesmo que ambos os sexos se transformem em pupas na mesma época, as fêmeas emergem um dia, ou mais, antes da emergência do macho. Os adultos não são ativos durante o dia e podem ser facilmente encontrados escondidos sob a folhagem, próximos ao solo. Medem cerca de 35mm de envergadura alar e 15mm de comprimento, com asas de coloração marrom acinzentada com manchas pálidas. Os machos e fêmeas possuem as asas posteriores de coloração hialina, com linhas delicadas marrons na extremidade. Os machos possuem manchas mais claras nas asas anteriores, sendo possível diferenciá-los das fêmeas por esta característica (CRUZ, 1995).

As outras duas espécies criadas no laboratório foram: *S. eridania* e *S. cosmioides*. De forma geral, as espécies de *Spodoptera* são muito parecidas. Partindo da descrição apresentada para *S. frugiperda* e considerando a semelhança entre as espécies, serão destacados, a seguir, os caracteres diagnósticos utilizados para o reconhecimento e discriminação dos adultos e lagartas de *S. eridania* e *S. cosmioides*. As mariposas de *S. cosmioides* são relativamente maiores do que as de *S. frugiperda*, podendo atingir 40mm de envergadura alar. As asas posteriores são esbranquiçadas e as anteriores pardas. Os machos são mais amarelados e possuem desenhos em mosaico nas asas. As lagartas apresentam variação no padrão de manchas e na coloração, podendo ser cinzas-claro, castanhas ou pretas (ZENKER et al., 2007). Nos primeiros instares, apresentam uma região enegrecida bastante característica no primeiro segmento abdominal e no metatórax; também apresentam uma faixa lateral acima das pernas de coloração predominantemente alaranjada, que se estende até próximo da cabeça. No instar final, as lagartas medem em torno de 48mm de comprimento (TEODORO, A. V. et al., 2013).

Spodoptera eridania possui adultos medindo de 33 a 38mm de envergadura e asas marrom acinzentadas, com manchas pretas e marrom escuras de formas irregulares. As lagartas são de coloração marrom, com uma faixa lateral longitudinal esbranquiçada acima das pernas. Essa faixa é interrompida por uma mancha escura no tórax (GALLO et al., 2002), sendo sua cabeça um pouco mais aparente em relação a *S. cosmioides* (TEODORO, A. V. et al., 2013).

3.4.2 *Dalbulos maidis*

Na cultura do milho, a cigarrinha *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) (Figura 2) é considerada uma praga limitante para a produção desta *commoditie* no Brasil e na América Latina. Essa espécie é responsável por danos diretos à cultura, ocasionados pela sucção contínua de seiva e injeção de toxinas, e danos indiretos causados pela capacidade de transmitir doenças às plantas, as quais podem reduzir a produção, pois plantas infectadas produzem espigas com tamanho reduzido, com menor quantidade de grãos, causando prejuízos econômicos aos produtores (Figuras 3, 4 e 5). As doenças transmitidas pela cigarrinha são conhecidas como complexo de enfezamentos e os fitopatógenos transmitidos são: vírus do raiado fino (*maize rayado fino virus*, MRFV), espiroplasma, *Spiroplasma kunkelii*, (Mollicutis, Spiroplasmataceae) (Whitcomb et al. 1986), responsável pela doença conhecida como o enfezamento pálido (*corn stunt spiroplasma*, CSS) e o fitoplasma (Acholeplasmatales: Acholeplasmataceae) (FIRRAO et al. 2004), responsável pelo enfezamento vermelho (*maize bushy stunt phytoplasma*, MBSP) (KITAJIMA et al. 1984; NAULT, 1980, 1990; LOPES; OLIVEIRA, 2004) (Figura 3, 4 e 5).

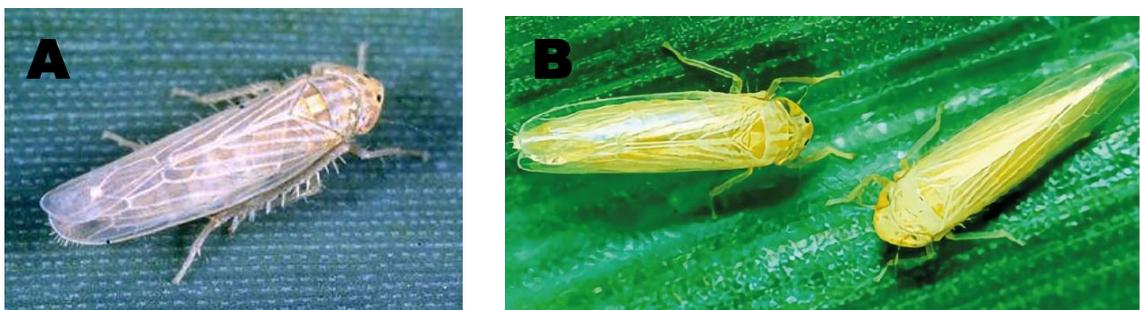


Figura 2. Adulto da cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* DeLong & Wolcott, 1923. **A:** Fonte, https://www.agrolink.com.br/problemas/cigarrinha-do-milho_509.html. **B:** Fonte, adaptado de <https://hanseandina.com/blog/2018/11/26/chicharrita/>

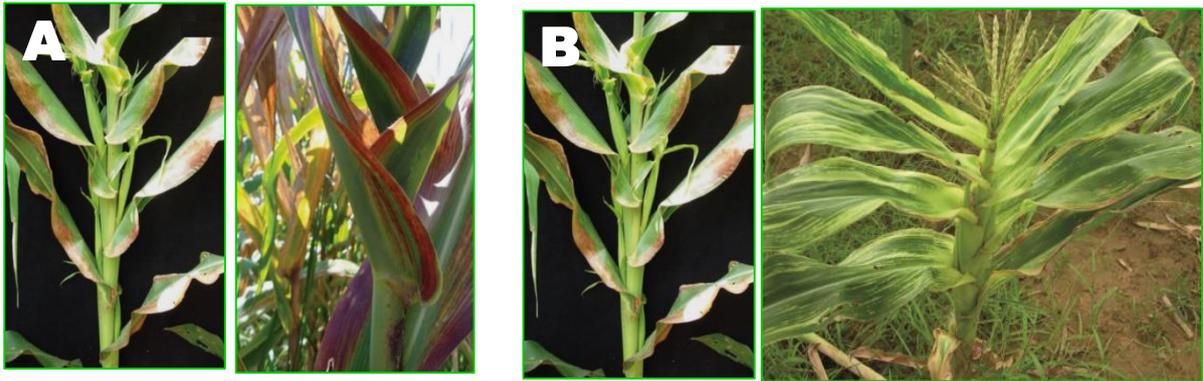


Figura 3. Plantas de milho com sintomas de doenças do complexo do enfezamento do milho. **A:** Enfezamento vermelho (*maize bushy stunt phytoplasma*, MBSP); **B:** enfezamento pálido (*corn stunt spiropasma*, CSS). Fonte: Sabato et al. (2016), Oliveira e Sabato (2018).



Foto: Wagner Gusmão

Figura 4. Folhas de milho com sintomas de enfezamento causado pelo vírus do raiado fino (*maize rayado fino virus*, MRFV). Fonte: <https://revistacultivar.com.br/artigos/cigarrinha-do-milho-e-a-transmissao-de-doencas-que-afetam-a-produtividade> Oliveira et al. (2003), Sabato (2018).

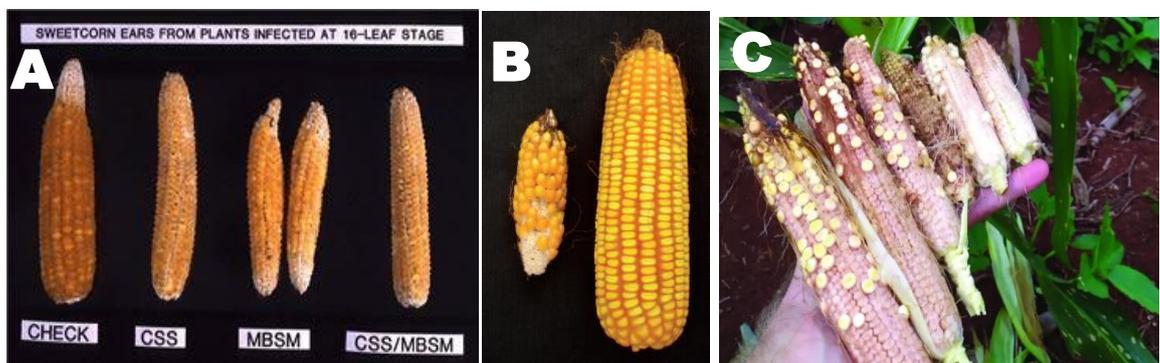


Figura 5. Danos por enfezamento nas espigas de milho. **A:** Enfezamento pálido (*corn stunt spiropasma*, CSS), FOTO: CABI, 2022. **B:** Enfezamento vermelho (*maize bushy stunt phytoplasma*, MBSP), Foto: Sabato et al. (2016). **C:** Aspecto geral dos danos por enfezamento, Foto: <https://www.opresente.com.br/parana/cigarrinha-do-milho-ameaca-segunda-safra-no-parana/>

Dalbulus maidis é considerada uma espécie tipicamente estrategista em função da sua rápida adaptação a novos ambientes; por apresentar um curto período geracional, tendo um rápido desenvolvimento de ovo a adulto (Figura 6) e pela sua alta taxa de crescimento, sendo capaz de produzir, no mínimo, duas gerações durante o ciclo do milho (NAULT, 1980, 1990; MDDEN, 1985; MADDEN et al., 1986; TODD et al., 1991). Quanto a sua biologia, a cigarrinha-do-milho apresenta uma vasta variação, que depende de fatores como temperatura, tipo de híbrido de milho, variações intra populacionais e outros (DAVIS, 1966; MARÍN, 1987; TSAI, 1988; WAQUIL et al., 1999; ZURITA et al., 2000).

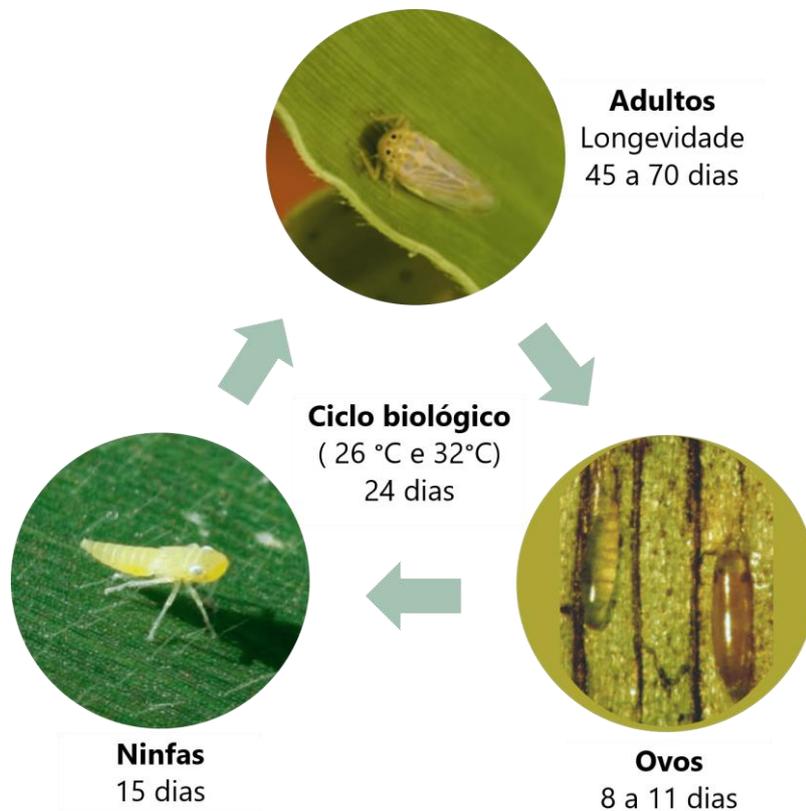


Figura 6. Representação do ciclo biológico de *Dalbulus maidis*. Foto: Embrapa Milho e Sorgo.

A cigarrinha-do-milho possui ovos de coloração branca e aspecto transparente que medem cerca de 1,3 mm. Estes são inseridos pelas fêmeas no tecido da planta, sob a camada epidérmica do limbo foliar, ou ainda, na nervura central da folha, em posição horizontal, de forma paralela as nervuras da folha (Figura 6). Os ovos podem ser depositados isoladamente, em pares, ou agrupados em cinco ou seis. O período embrionário pode variar de cinco a oito dias, em temperaturas de 20°C a 26°C (DAVIS, 1966; MARÍN, 1987; HEADY et al., 1985; NAULT, 1984; WAQUIL et al., 1999). As ninfas, que passam por cinco mudas, são de

coloração palha e possuem manchas escuras no abdômen. A duração desses estádios ninfais é influenciada principalmente pela temperatura, ou ainda, pelo híbrido de milho utilizado. Sob condições favoráveis, com temperaturas próximas de 26°C a 27°C, esse período varia de 14 a 16 dias (TSAI, 1988; WAQUIL et al., 1999). Os adultos medem cerca de 3,7mm a 4,3mm de comprimento, sendo as fêmeas maiores do que os machos e possuem manchas circulares negras bem marcadas na coroa, entre os olhos compostos (Figura 7), permitindo assim a sua fácil diferenciação de outras cigarrinhas encontradas na cultura do milho. Os machos possuem o abdome com coloração amarela, com a cabeça e o tórax mais opacos, enquanto que a fêmea possui uma coloração homogênea em todo o corpo. Os adultos possuem dois pares de asas transparentes e seu aparelho bucal é do tipo sugador. Enquanto as ninfas tendem a permanecer estáticas, alimentando-se na folha, os adultos são mais ativos e tendem a ficar localizados principalmente no interior do cartucho das plantas (MARÍN, 1987; WAQUIL, 2004) (Figura 8). Dentro de uma mesma população, a longevidade dos adultos é muito variável (WAQUIL et al., 1999). Marín (1987), relatou que para temperaturas em torno de 23,4°C e 83% de UR, a longevidade média para machos foi de 16,3 dias e para fêmeas 42,1 dias. Sob temperaturas variando em torno de 10°C, os insetos atingiram 66,6 dias, e a 32,2°C 15,7 dias (TSAI, 1988).



Figura 7. *Dalbulus maidis*, adultos com o detalhe das manchas circulares negras na frente (indicadas com as setas pretas) bem marcadas na região da coroa, na cabeça, entre os olhos compostos. Fonte: **A:** Oliveira (2020) – Banco de imagens, Embrapa Cerrados. **B:** Agroinovadores – Genica <https://i0.wp.com/agro.genica.com.br/wp-content/uploads/2020/02/ig2.jpg?fit=1000%2C1000&ssl=1>

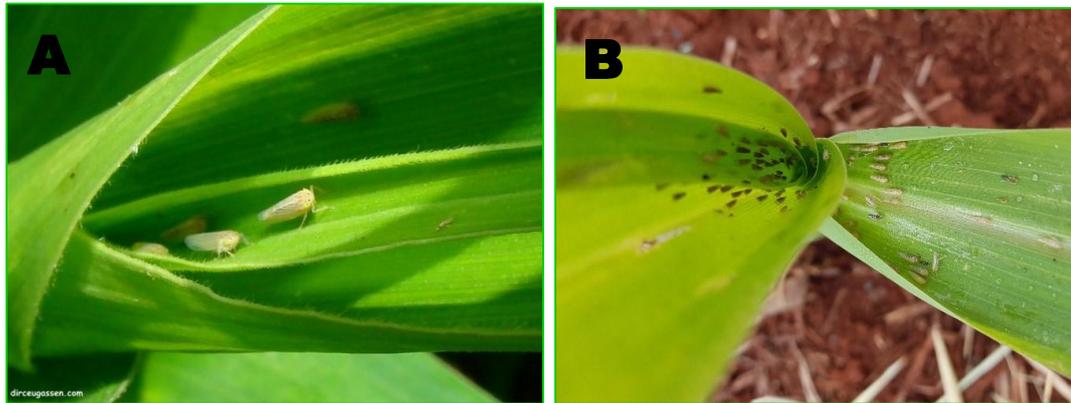


Figura 8. Cartucho do milho com infestação de ninfas e adultos da cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis*. **A:** Fonte: Dirceu Gassen <http://www.pragas.com/vc/wp-content/uploads/2021/02/WhatsApp-Imagem-2021-02-09-at-16.31.54.jpeg>. **B:** Fonte: Aristides Garcia, <https://assets.revistacultivar.com.br/webp/b3ee3e9c47abd66b03602a4443f8ba48.jpg>

Dalbulus maidis não apresenta diapausa, diferentemente de outras espécies deste gênero. A cigarrinha é considerada uma espécie monófaga, visto que sua gama de hospedeiros está restrita ao gênero *Zea* Linnaeus, incluindo as espécies anuais ou perenes de teosinto, *Zea mexicana* (Schrader) (IPNI, 2022). Assim, seu desenvolvimento e reprodução depende da disponibilidade de alimento, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, que possuem temperaturas médias bem elevadas (OLIVEIRA, C. M. & SABATO, E. DE O., 2018; WAQUIL, 2004).

O conhecimento do inseto-vetor, dos componentes relacionados ao seu ciclo de vida, comportamento, seleção de plantas hospedeiras, fitopatógenos associados, transmissibilidade, além dos fatores ecológicos favoráveis ao seu desenvolvimento, é de suma importância para elaborar estratégias eficientes de manejo e de controle dessa praga e das doenças por ela disseminadas.

4 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO

O estágio curricular obrigatório foi desenvolvido junto à Corteva Agriscience™, setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Laboratório de Entomologia, Insetário, localizado na Unidade de Planaltina, à Rodovia DF 250, km 20, lote 50 - Planaltina, Brasília - DF, 73310-970. Período de 16/08/2021 até 10/12/2021, com 17 semanas e um total 510 horas de atividades supervisionadas.

O estágio foi realizado em conformidade com o Regulamento de Estágio Obrigatório do curso de Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, FAV/UnB e de acordo com a Lei 11.788/08 de 25 de setembro de 2008, que dispõe sobre o estágio desenvolvido em ambiente de trabalho, visando a preparação do estudante para o mercado, além de estar definido como pré-requisito no projeto pedagógico do curso, estando entre as exigências para a aprovação e obtenção do diploma (§ 1º do art. 2º da Lei nº 11.788/2008) de graduação em Agronomia. O estágio obrigatório está condicionado a matrícula prévia na disciplina FAV0294-Estágio Supervisionado 1 e a celebração de um Termo de Compromisso de Estágio (TCE), que foi celebrado entre a Corteva e a FAV, UnB.

As atividades realizadas durante o estágio envolveram o acompanhamento dos processos de criação massal de lepidópteros, criação massal de cigarrinha-do-milho (*Dalbulos maidis*), a realização de bioensaios em laboratório e ensaios em casa-de-vegetação.

4.1 CRIAÇÃO MASSAL DE LEPIDÓPTEROS

A unidade de Planaltina (Figura 9) conta com um laboratório de entomologia para viabilizar a criação massal artificial dos insetos-praga. São criadas três espécies do gênero *Spodoptera*, cuja importância econômica para as culturas do milho e da soja é bastante significativa, sendo elas: *S. frugiperda*, *S. eridania* e *S. cosmioides*.



Figura 9. Corteva Agriscience™, unidade de Planaltina, Brasília – DF Fonte: Corteva Agriscience™

A espécie *S. frugiperda*, considerada a praga de maior importância para a cultura do milho, conta com uma população resistente de referência, criada há várias gerações no laboratório. Essa população apresenta resistência a diferentes proteínas inseticidas produzidas pela bactéria *Bt*, *Bacillus thuringiensis*, testadas, até então, no laboratório da Corteva. Além da população resistente, são mantidas no laboratório criações artificiais de outras seis populações, que são oriundas do campo: *S. frugiperda* BA; *S. frugiperda* PR; *S. frugiperda* GO; *S. eridania* BA; *S. eridania* MT e *S. cosmioides*.

As populações do campo são coletadas anualmente nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia e Paraná, e passam a ser criadas a base de uma dieta artificial no laboratório. O intuito é monitorar, nessas localidades, uma tecnologia *Bt* desenvolvida pela Corteva, verificando a resistência das lagartas. A atualização do conhecimento relativo ao cenário do campo é de suma importância para a realização de novos ensaios e atuação dos pesquisadores da empresa.

A seguir estão descritas as atividades realizadas no laboratório, desde as diferentes formas de coleta das espécies, instalação e acompanhamento dos ensaios, até as etapas necessárias para se manter a criação das populações de interesse.

4.1.1 DIETA ARTIFICIAL

O preparo da dieta artificial foi feito misturando-se os ingredientes em água, exceto o ágar, e batendo-os em liquidificador (Tabela 1). A dieta para *S. frugiperda* foi preparada conforme descrito por Kasten et al. (1978), com algumas adaptações. De acordo com as diferentes necessidades nutricionais de cada espécie, foram produzidas duas dietas, *i.e.*, Tipo 1 e Tipo 2. Na Tabela 1 estão discriminados os ingredientes utilizados na preparação das dietas. A diferença entre essas dietas foi, basicamente, a composição do MIX de farelos e a adição da proteína caseína na etapa final da produção. A dieta do Tipo 1 foi feita com o MIX de farelos 1 sem adição de caseína; já a dieta do tipo 2, foi feita com o MIX de farelos 2 e com a adição da proteína caseína.

A produção da dieta artificial passou por quatro etapas: 1) fervura do ágar e da mistura de feijão com o MIX de farelos, 2) resfriamento da dieta, 3) adição dos agentes antimicrobianos e vitaminas (Tabela 1), e 4) distribuição da dieta artificial nos recipientes de criação dos insetos.

Dois tipos de panelas foram utilizadas: panela comum de 5L, em fogão elétrico e; tacho de cozimento industrial de 20L, elétrico (Figura 10). Inicialmente, misturou-se água destilada

com ágar até a fervura. Separadamente, o feijão cozido, no dia anterior, foi triturado com água destilada em um liquidificador industrial. Em seguida, o MIX de farelos foi acrescentado no liquidificador e triturado juntamente com o feijão, até formar uma mistura homogênea. Essa mistura foi incorporada ao ágar e água em ebulição, permanecendo em fervura até atingir uma temperatura de 80-90 °C. A aferição foi constante e foi aferida com um termômetro tipo espeto.

Após a fervura, aguardou-se o resfriamento à 60-65°C para a adição dos agentes antimicrobianos (antibióticos e ácidos), as vitaminas e a caseína, em função da termossensibilidade desses componentes (PARRA, 2019). Para o resfriamento da dieta, foi feita a transferência para um recipiente de plástico, seguida da homogeneização e aferimento constante da temperatura até a temperatura ideal (60-65°C), quando a dieta foi transferida para o liquidificador e os componentes termossensíveis foram adicionados e misturados até a completa homogeneização. Os ácidos foram pré diluídos em 100 mL de água destilada e os antibióticos, as vitaminas e a caseína, no caso da dieta Tipo 2, foram adicionados diretamente à mistura.

Tabela 1 Composição das dietas artificiais utilizadas no Insetário (Corteva Agriscience™ Planaltina, DF) para a manutenção das populações de referência e de campo de *Spodoptera frugiperda*.

Componentes da dieta	Tipo 1	Tipo 2
Água	1200 mL	1200 mL
Ágar	22,5 g	22,5 g
Feijão carioca ou branco	75,0 g	75,0 g
Germe de trigo	60,0 g	60,0 g
Extrato de soja	30,0 g	30,0 g
Levedura de cerveja	37,5 g	37,5 g
Leite em pó	30,0 g	-
Caseína	-	30,0 g
Ácido ascórbico	3,96 g	3,96 g
Ácido sórbico	1,98 g	1,98 g
Nipagin	3,30 g	3,30 g
Tetraciclina	124,0 g	124,0 g
Folmaldeído 40%	4,18 mL	4,18 mL
Complexo vitamínico	9,90 mL	9,90 mL



Figura 10. Tacho elétrico de cozimento industrial de 20L. Fonte: Amanda Venâncio.

Em seguida, com o auxílio de uma jarra de plástico, a dieta foi despejada dentro de pissetas, utilizadas para distribuir a dieta em potes de 250mL e 500mL; ou ainda, em bandejas de criação, feitas de acrílico e contendo dezesseis células cada uma (Figura 11).

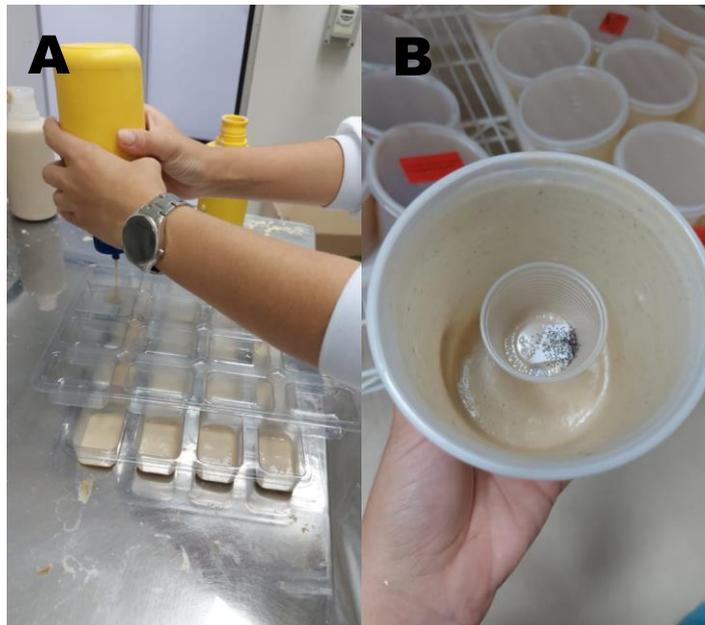


Figura 11. **A:** Distribuição da dieta artificial em bandejas utilizando pisseta. **B:** Pote de 250mL contendo dieta artificial e postura. Fonte: Amanda Venâncio.

Todos os recipientes utilizados para se fazer e acondicionar a dieta artificial (potes e/ou bandejas de criação) foram higienizados e esterilizados em uma cabine de segurança biológica com luz UV por aproximadamente 15 minutos (Figura 12).

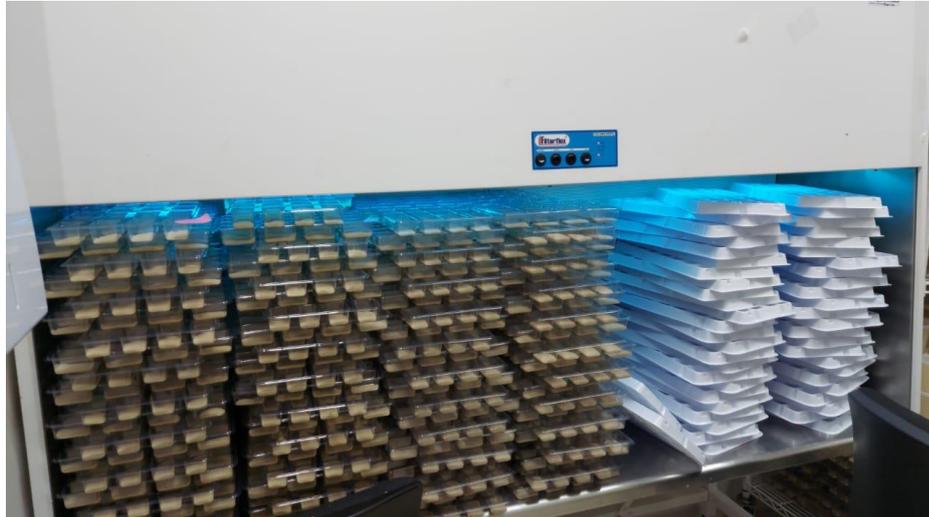


Figura 12. Esterilização de bandejas de criação e bandejas de coleta em cabine de segurança biológica com luz UV. Fonte: Amanda Venâncio.

4.1.2 MANIPULAÇÃO DAS POSTURAS, LAGARTAS E PUPAS

Cada recipiente contendo a dieta artificial, foi utilizado com uma finalidade diferente. Nos potes (Figura 11B) foram mantidas as oviposições dos adultos. Uma vez distribuídas as massas de ovos, os potes foram tampados e acondicionados em uma sala com temperatura e umidade controladas, variando entre 25°C e 27°C, 60%. As formas neonatas eclodiram nesses potes e, quando atingiram o segundo instar, foram transferidas para as bandejas de criação (Figura 13), sendo inoculada uma lagarta por célula. As bandejas de criação com as lagartas foram mantidas em uma sala de desenvolvimento e incubadas em ambiente controlado. A temperatura de incubação foi de aproximadamente 27°C, variando entre 26°C e 28,5°C, a depender das condições externas, e umidade relativa do ar variando em torno de 60%. O monitoramento dessas condições foi feito diariamente.



Figura 13. Transferência de formas neonatas para as bandejas de criação. Fonte: Amanda Venâncio.

A fase larval durou de 15 a 20 dias. Após o desenvolvimento das lagartas, as pupas foram cuidadosamente retiradas das bandejas de criação, com o auxílio de uma pinça entomológica de ponta arredondada, transferidas para bandejas de isopor (Figura 14A) e tratadas com uma solução descontaminante de sulfato de cobre a 1% por 5 minutos. Decorrido esse tempo as pupas foram transferidas para uma peneira até o completo escoamento da solução (Figura 14B). Uma vez secas, foram colocadas em uma nova bandeja de isopor, com a identificação das espécies e foram mantidas nas tocas até que a emergência dos adultos (Figura 15B).



Figura 14. A: Retirada de pupas com pinça entomológica. **B:** Pupas sendo escorridas na peneira após tratamento com solução desinfetante já separadas conforme a espécie. Fonte: Amanda Venâncio.

A dieta foi elaborada para se obter pupas vigorosas (Figura 14 A e B). A quantidade e qualidade do alimento consumido na fase larval afetam a taxa de crescimento, o tempo de desenvolvimento, o peso do corpo, a sobrevivência, bem como influenciam a fecundidade, a longevidade, a movimentação e a capacidade de competição de adultos. Larvas alimentadas inadequadamente levam a pupas e adultos de má qualidade, com deformações e pouco competitivos.

4.1.3 ADULTOS

As mariposas recém emergidas nas tocas, foram transferidas para as gaiolas (Figura 15 A e B) utilizadas para a oviposição dos adultos. As gaiolas foram confeccionadas com secções de canos de tubos de PVC em dois tamanhos, a saber: pequenos ou grandes. O tamanho foi definido antes da montagem e variou em função da quantidade de adultos transferidos para criação. Inicialmente a gaiola foi encapada internamente com um papel tipo sulfite, preso ao PVC com fita crepe. As fêmeas adultas depositam os ovos nesse papel. As extremidades superior e inferior da gaiola foram fechadas com um tecido tipo tule e uma liga de borracha, para evitar a fuga dos adultos. Dentro de cada gaiola foram colocados de 3 a 4 copos plásticos de 50mL com um algodão embebido em uma mistura de mel, cerveja sem álcool e água destilada, solução própria para a alimentação das mariposas.

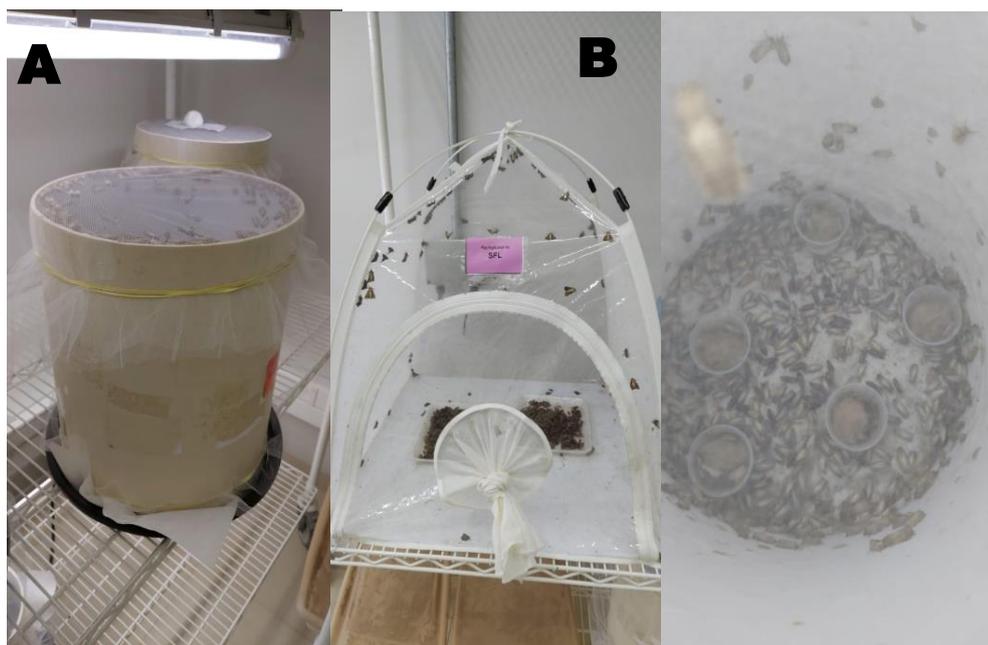


Figura 15. A: Gaiola de adultos de *Spodoptera* contendo solução para alimentação a base de mel. B: Toca de adultos. Fonte: Amanda Venâncio.

4.2 REALIZAÇÃO DE BIOENSAIOS

4.2.1 BIOENSAIO PARA A MANUTENÇÃO DAS CRIAÇÕES EM LABORATÓRIO

Todos os anos, o laboratório de entomologia em Planaltina- DF instala bioensaios para o monitoramento da efetividade da tecnologia *Bt* desenvolvida pela empresa. Os insetos utilizados nesses bioensaios provém de quatro estados, Bahia, Goiás, Mato Grosso e Paraná. Esses estados abrigam as maiores regiões produtoras de milho e soja do Brasil. As populações criadas foram coletadas no campo ou foram recebidas de outras unidades de criação da Corteva. Os dados de coleta, origem, data, planta hospedeira e coletor foram registrados para todas as populações para garantir rastreabilidade das informações e solidez dos resultados.

As coletas de insetos no campo aconteceram de três formas:

1^a - Em uma caixa de isopor grande ou em sacos plásticos foram colocadas as folhas de milho contendo as lagartas presentes na lavoura. O isopor ou sacos plásticos foram levados para o laboratório e as lagartas foram coletadas das folhas e transferidas uma a uma para as bandejas de criação contendo a dieta artificial. As bandejas de criação foram colocadas em uma sala com condições ambientais controladas para que os insetos completassem o estágio larval. Em seguida, as pupas foram retiradas e colocadas nas tocas até o momento da emergência dos adultos. Assim, gerações sucessivas de cada população de interesse foram criadas e mantidas no laboratório.

2^a - Outra possibilidade foi a coleta no campo, transferindo-se as lagartas diretamente das plantas para as bandejas de criação contendo a dieta artificial. As bandejas foram levadas ao laboratório e, como descrito anteriormente, mantidas em uma sala até as lagartas se transformarem em pupas, adultos, quando foram, então, incluídos na criação.

3^a - Coleta de indivíduos adultos com o auxílio de armadilhas luminosas instaladas no campo nos pontos de maior incidência da praga. O recipiente de coleta da armadilha luminosa foi retirado diariamente e inspecionado para a retirada dos adultos. Após a identificação morfológica, as espécies de interesse foram levadas para o laboratório transferidas para as gaiolas. As etapas seguintes seguiram o esquema descrito anteriormente.

4.2.2 BIOENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE LAGARTAS A PROTEÍNA *Bt*

Esse bioensaio objetivou avaliar a sobrevivência das populações de *Spodoptera* em tecido foliar de milho transgênico *Bt*. São ensaios para acompanhar o possível desenvolvimento de resistência dos insetos de campo a proteína *Bt*. Este ensaio foi realizado em condições de laboratório. Para tanto, foram utilizadas bandejas de 32 células, cada uma contendo cerca de 4 mL de solução 1% de ágar diluído em água destilada. As bandejas foram esterilizadas na cabine de segurança biológica com luz UV por aproximadamente 15 minutos.

Foram utilizados dois tipos de milho, um contendo a tecnologia Vipetra® e o outro convencional. Em quatro células da bandeja foi colocado um pedaço de tecido foliar de milho convencional, sem as nervuras, como forma de controle. As outras células receberam tecido foliar do milho *Bt*. Para formas neonatas o ensaio foi mantido com um pedaço de folha por célula, enquanto que para as lagartas de 2º e 3º instar, foram oferecidas três folhas por célula.

Nesses ensaios, procurou-se padronizar a idade das folhas de milho oferecidas, desta forma, foram utilizadas preferencialmente folhas de plantas em estágio V6 a V8. Para a constatação e confirmação da presença dos genes de interesse foram utilizadas fitas de detecção próprias para o diagnóstico de organismos geneticamente modificados, tipo *GMO strip test*, que constata a presença das toxinas expressas nas plantas modificadas. O teste consistiu em macerar uma pequena amostra da folha em um microtubo de 1,5 mL, tipo eppendorf, e adicionar água destilada. Depois, foi colocada a fita *strip test* no interior do microtubo e para testar a presença ou a ausência da proteína *Bt* (Figura 16). Tanto as plantas transgênicas, como as plantas controle foram amostradas

Assim, estando a população oriunda do campo já estabelecida no laboratório, conforme foi descrito no ensaio 1, após a emergência das formas neonatas, as folhas mantidas em ágar e água nas células das bandejas foram infestadas. O dia da infestação foi considerado o dia 0 e a avaliação final foi feita sete dias após a infestação (4 DAI). Para a avaliação final, os dados de mortalidade foram criteriosamente registrados



Figura 16. Fita tipo *GMO strip test* no interior de microtubos contendo folha e água destilada para testar a presença ou a ausência da proteína *Bt*. Fonte: Amanda Venâncio.

4.2.3 BIOENSAIO *F1 SCREEN*

O bioensaio *F1 screen*, para a seleção da geração *F1*, envolveu o cruzamento dos insetos coletados no campo, com os insetos da população resistente criada no laboratório, para estimar a frequência de alelos de resistência em populações de campo, tendo como base a metodologia proposta por Gould et al. (1997).

Os indivíduos coletados em campo com genótipo desconhecido (rr, rs ou ss) foram acasalados individualmente com indivíduos homocigotos resistentes (rr) virgens da população resistente mantida em dieta artificial no laboratório. Para o cruzamento entre as populações de campo e a linhagem resistente, as pupas foram sexadas (Capinera, 2000) sob o microscópio estereoscópio (Figura 17) e acondicionadas em bandejas plásticas recobertas com um tecido tipo voil. Após a emergência dos adultos, fêmeas e machos virgens da população resistente foram emparelhados individualmente com o sexo oposto da população de campo, acondicionados em um pote plástico de 500mL, contendo algodão embebido em solução açucarada para alimentação. Cada pote, contendo um casal, recebia uma identificação e uma numeração para monitoramento (Figura 18). Cada emparelhamento constituía uma família e as posturas dos casais foram transferidas para um novo pote até o momento da eclosão das neonatas que, posteriormente, foram testadas em milho transgênico.



Figura 17. Sexagem sob o microscópio estereoscópico de pupas de *Spodoptera*. Fonte: Amanda Venâncio.

Goud et al. (1997) destacou que quando um inseto do campo apresentou o mesmo alelo de resistência que o inseto resistente mantido em criações de laboratório, 50% da progênie foi homozigota resistente e, assim, esses indivíduos (homozigotos resistentes) poderiam sobreviver no F1 screen.



Figura 18 A: Potes com casais emparelhados para acasalamento. **B:** Casal emparelhado e posturas na tampa. Fonte: Amanda Venâncio.

A partir do teste F1 *screen*, as progênies identificadas como resistentes foram submetidas ao F2 *screen*, a fim de eliminar a possibilidade de serem progênies falso positivas. Desse modo, as lagartas de cada família detectada como resistente foram mantidas em dieta artificial até completarem seu ciclo. Em seguida, os adultos foram acasalados entre si, e sua descendência F2 foi testada para confirmar a presença dos alelos resistentes (GOULD ET AL., 1997).

Estudos anteriores conduzidos por Bernardi et al (2016) relataram que a resistência de *S. frugiperda* ao milho Bt foi autossômica, monogênica e recessiva. Sendo assim, a expectativa de mortalidade na concentração diagnóstica dependeu do genótipo dos indivíduos coletados em campo. Assim, se os indivíduos coletados no campo fossem homozigotos suscetíveis (ss) ao milho Bt, toda a progênie seria heterozigota (rs), o que resultaria em 100% da mortalidade desta população. Caso os indivíduos coletados no campo fossem heterozigotos (rs) e apresentassem o alelo de resistência da população resistente, a progênie seria 50% heterozigota (rs) e 50% homozigota resistente (rr), tendo assim 50% de mortalidade como resultado. Finalmente, se os indivíduos coletados em campo fossem homozigotos para a resistência (rr), toda a progênie seria resistente e, portanto, o esperado seria 100% de sobrevivência dos indivíduos (GOULD et al. 1997; MAHON et al. 2010; VELEZ et al. 2013; AMAYA 2014).

4.3 CRIAÇÃO MASSAL DE CIGARRINHA-DO-MILHO, *Dalbulus maidis*

A criação de insetos-vetores, especialmente os sugadores, necessita de material biológico vivo, visto que sua criação em dietas artificiais é muito difícil, quando se trata de estudos de transmissão de patógenos causadores de doenças às plantas. A manipulação e a manutenção das colônias desses insetos requerem uma infraestrutura específica. O sistema de criação utilizado pela Corteva foi adaptado de Oliveira & Sabato (2018) e seguiu as etapas descritas na Figura 19.

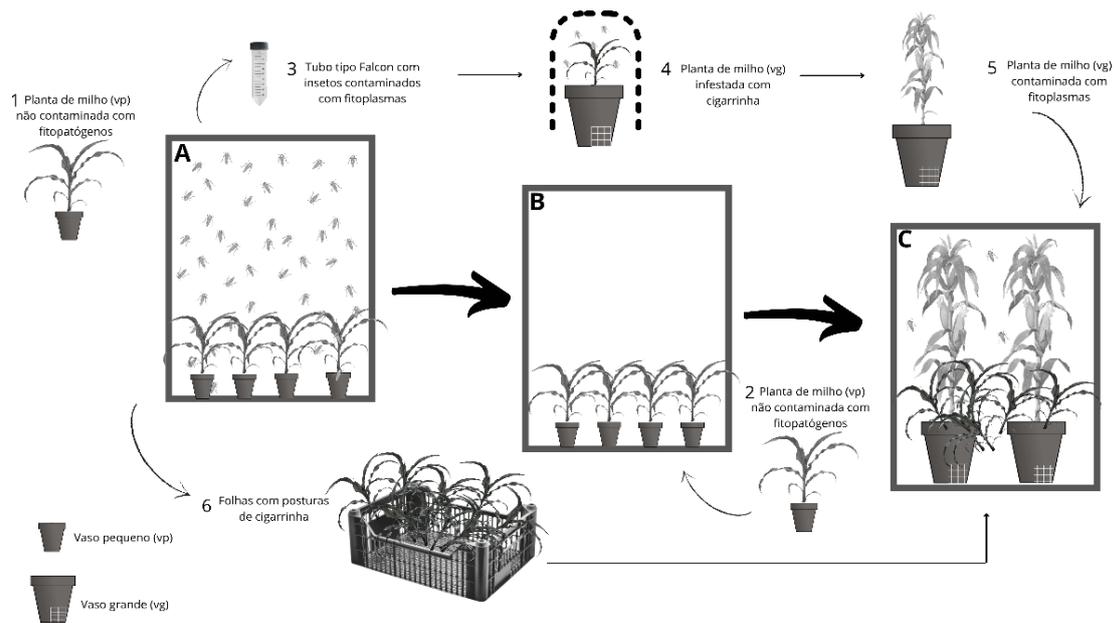


Figura 19. Etapas da criação de *Dalbulos maidis* e de obtenção e manutenção dos fitopatógenos. Fonte: Amanda Venâncio.

A criação da cigarrinha do milho foi mantida com o auxílio de gaiolas confeccionadas com armação de esquadrias de alumínio, com todos os lados vedados por um tecido tipo “voil”. O fundo da gaiola foi fechado com chapa de alumínio e na frente foi adaptada uma abertura circular e central de acrílico, como uma porta, recoberta pelo mesmo tecido utilizado para revestir as laterais da gaiola (Figura 20). A estrutura foi idealizada para evitar a fuga dos insetos da criação. Essas gaiolas de criação foram utilizadas tanto para a manutenção de colônias de cigarrinhas sadias, quanto para aquelas infectadas com os fitopatógenos.

Foram utilizados dois tipos de vasos de planta. Os vasos pequenos (vp) se prestavam para o plantio de milho utilizado para a manutenção das colônias. Já os vasos grandes (vg) foram usados como fonte de inóculo dos fitopatógenos. Dentro das gaiolas para a manutenção das populações foram colocados aproximadamente dez vasos pequenos com plantas de milho não contaminadas (1), no estágio v3, para a alimentação dos insetos.



Figura 20. Gaiolas para a criação de cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis*. Fonte: Amanda Venâncio.

Os insetos adultos de uma gaiola (A) contendo vasos pequenos de plantas de milho para alimentação permaneceram nesta por sete dias e, posteriormente, foram transferidos para uma outra gaiola (B), onde foram colocados novos vasos de plantas de milho não contaminados (2).

A transferência dos insetos para uma nova gaiola foi realizada em uma caixa de manipulação, feita de madeira, que possuía uma das laterais aberta voltada para o manipulador. Essa gaiola ficava sobre uma mesa a fim de facilitar a manipulação. Toda a estrutura ficava dentro de um contêiner completamente escuro e no fundo da caixa, atrás de uma chapa branca de acrílico, foram instaladas lâmpadas fluorescentes. Assim, a gaiola de criação foi posicionada dentro da caixa de manipulação e as cigarrinhas atraídas pela luminosidade, em função do seu fototropismo positivo, concentrando-se no fundo da gaiola e permitindo a abertura desta sem haver grandes perdas da população. Dentro da caixa de manipulação, as gaiolas A e B foram posicionadas uma frente a outra para que a população da gaiola A se movesse para a gaiola B.

A gaiola inicial (A), contendo a população de cigarrinhas contaminadas possibilitou a obtenção de dois produtos importantes: insetos para contaminação de plantas, coletados em um tubo tipo Falcon (3) e folhas com posturas (6). Para coletar os insetos no tubo tipo Falcon, foi utilizado um sugador e foram coletadas cerca de 10 cigarrinhas por tubo.

As cigarrinhas coletadas serviram para a contaminação de novas plantas de milho (4), que foram utilizadas como fonte de inoculo para outras cigarrinhas. Essa etapa é de suma importância, pois a cigarrinha-do-milho não possui transmissão vertical ou transovariana, ou seja, ao longo das gerações, os fitopatógenos não são transmitidos da mãe para a progênie pelos

ovos (GONZALES; GÁMES, 1974; ALIVIZATOS; MARKHAM,1986). Para a confirmação da presença dos fitopatógenos nas plantas inoculadas, foram coletadas as folhas bandeiras das plantas (primeira folha abaixo do pendão), e submetidas ao teste de PCR multiplex, para a detecção de fitoplasma e espiroplasma; e ao teste RT-PCR para a detecção de MRFV (OLIVEIRA et al., 2005; OLIVEIRA, C. M. & SABATO, E. DE O., 2018). Cada vaso foi recoberto com “sacos de confinamento”, em tecido tipo viole. Estes possuíam um zíper para possibilitar a introdução das cigarrinhas (Figura 21A).



Figura 21 A: Vasos recobertos com sacos de confinamento para contaminação de plantas de milho. **B:** Casa de vegetação para plantio de plantas de milho. Fonte: Amanda Venâncio.

As plantas de milho contaminadas (5), antes de atingirem a fase reprodutiva, foram colocadas em uma gaiola (C). Nesta mesma gaiola também foram colocadas as folhas que haviam sido separadas (6), contendo as posturas das cigarrinhas. Ao eclodirem, os insetos se alimentavam do milho contaminado colocado dentro da gaiola e, dessa forma, ficavam infectados com os fitopatógenos. Após sete dias, a população de adultos estabelecida na gaiola (C), foi transferida para uma nova gaiola, contendo novos vasos com plantas de milho para a manutenção dos adultos, reiniciando o ciclo.

Vale ressaltar ainda que as colônias da criação foram inspecionadas diariamente e sempre que plantas das gaiolas estavam mortas ou debilitadas, foi realizada a troca destas por plantas novas. A troca das plantas também foi feita em função da temperatura e do tamanho da população de cigarrinhas, visto que uma população numerosa e temperaturas elevadas encurtam o período de troca das plantas.

4.4 ENSAIO DE TRANSMISSÃO DE FITOPATÓGENOS PELA CIGARRINHA-DO-MILHO

Os ensaios para avaliação de transmissão necessitam de um planejamento prévio, para que haja uma sincronia entre a idade das plantas de milho, a disponibilidade de cigarrinhas infectadas e quantidade suficiente para o estudo (OLIVEIRA, C. M. & SABATO, E. DE O., 2018). Para o ensaio de transmissão de fitopatógenos foi calculada a data de plantio com base na criação do vetor. Neste trabalho, as plantas foram inoculadas quinze dias após a emergência. Recomenda-se que as plantas sejam inoculadas de forma precoce, visto que assim a severidade de sintomas nas plantas será maior (KHRUSKA; PERALTA, 1997; MASSOLA JÚNIOR et al., 1999; FERNANDES; OLIVEIRA, 2000). É preconizado que o plantio do milho seja realizado entre 7 e 17 dias antes do final do período latente (OLIVEIRA, C. M.; SABATO, E. DE O., 2018).

O ensaio foi realizado em uma casa-de-vegetação e foram utilizados materiais regulados e não regulados para avaliar a susceptibilidade destes aos mollicutes transmitidos pela cigarrinha-do-milho. Para a inoculação, foram colocadas sobre as plantas de milho gaiolas de confinamento (Figura 22) e dentro de cada uma foram colocadas 5 cigarrinhas infectadas, coletadas previamente, da criação. Estudos demonstraram que uma única cigarrinha é capaz de transmitir os fitopatógenos de forma eficiente (OLIVEIRA et al., 2001), entretanto, para garantir a contaminação, foram colocadas três a cinco cigarrinhas por planta, uma vez que pode ocorrer a morte de alguns insetos no processo de manipulação e transferência.



Figura 22. Inoculação de *Dalbulus maidis* em plantas de milho recobertas com sacos de confinamento em casa de vegetação. Fonte: Amanda Venâncio.

As avaliações para transmissão de fitopatógenos pela cigarrinha-do-milho podem variar conforme a finalidade de cada ensaio. Oliveira et al., (2018) citaram que a avaliação de sintomas foliares (avermelhamento, amarelecimento, seca foliar e estrias esbranquiçadas), realizados com 30, 60 e 100 dias, são os mais comuns. Para tanto, uma escala de notas de quatro níveis pode ser utilizada, sendo 0 a ausência de sintomas; 1 baixa severidade (uma folha com sintomas); 2, média severidade (aproximadamente 50% das folhas da planta com sintomas); e 3, alta severidade (100% da planta com sintomas ou início de morte precoce). Os autores ressaltaram, ainda, que além dos sintomas foliares, também é possível realizar o registro de algumas variáveis, como: altura das plantas, número de perfilhos basais e axilares, peso fresco e peso seco da planta, peso fresco e peso seco dos grãos, peso e número de espigas, peso seco de 1000 grãos, número de grãos por fileira na espiga, tamanho de grãos, e outras.

5. ANÁLISE CRÍTICA

Apresento essa reflexão a respeito da experiência com a submissão do processo de Estágio Supervisionado Obrigatório com o intuito de auxiliar o aprimoramento para os futuros estudantes.

Registro que contei com o apoio e o empenho da responsável pelo setor de estágio na FAV/UnB, entretanto, encontrei inúmeras dificuldades junto à Coordenação de Estágios da Graduação – CESH, que faz parte da Diretoria de Acompanhamento e Integração Acadêmica (DAIA), do Decanato de Ensino de Graduação (DEG); responsável pela formalização de convênios entre a Universidade e empresas, instituições e entidades que ofertam vagas de estágio.

A tramitação do Termo de Estágio Obrigatório demorou sobremaneira extrapolando os prazos estipulados. O processo de assinatura, realizado via SEI, precisou ser cadastrado duas vezes gerando insegurança em relação a possibilidade de realização do estágio. Houve a oportunidade de renovação do período de estágio na CORTEVA e enfrentei as mesmas dificuldades encontradas no processo inicial e, pelo não cumprimento do prazo estabelecido pela integradora junto à empresa na renovação do Termo, acabei sendo desligada do programa de estágio da Corteva.

Como sugestão, seria muito importante a CESH envidar esforços no andamento dos trâmites dos Termos de Estágio e acordos de cooperação, buscando a agilidade necessária para otimização de tempo e qualidade no atendimento das demandas apresentadas pela comunidade discente e evitar os problemas como os registrados aqui.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Participar das atividades desenvolvidas no Laboratório de Entomologia na empresa Corteva Agriscience™, possibilitou a compreensão de práticas realizadas em uma área diferente daquelas vivenciadas nas aulas teóricas e práticas ao longo do curso de Agronomia. A intensa rotina de um laboratório de criação de insetos requer disposição e atenção a cada tarefa desenvolvida, exigindo um “olhar clínico” aos menores sinais de alteração nas criações para se evitar problemas nas rotinas de fornecimento de insetos para os ensaios de resistência e avaliação das variedades de milho *Bt*, bem como na avaliação dos resultados.

O estágio permitiu aprender a lidar com dificuldades, enfrentar situações inusitadas, e assumir compromissos que envolvem o trabalho em equipe. O relacionamento com os profissionais, a percepção da postura e atitudes diante de circunstâncias diversas, a possibilidade de participar de reuniões de trabalho trouxe experiências importantes para a futura vida profissional.

A oportunidade de acompanhar novas tecnologias como as descritas nesse relatório trouxe a visão de que a atualização técnica constante é um requisito para a formação contínua do profissional. Foi uma forma diferente de colocar em prática o conhecimento teórico aprendido durante a vida acadêmica e um período rico de auto avaliação das habilidades adquiridas.

Em vista do relatório apresentado, cabe destacar e registrar que o Estágio Obrigatório foi um período de suma importância na graduação, dado que proporcionou a aquisição de conhecimentos e habilidades de grande notoriedade não só na construção da carreira profissional, mas também no desenvolvimento pessoal.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIVIZATOS, A. S.; MARKHAM, P. G. Acquisition and transmission of corn stunt spiroplasma by its leafhopper vector *Dalbulus maidis*. **Annals of Applied Biology**, v. 108, p. 535-544, 1986.

BERGER, R. S. Laboratory techniques for rearing *Heliothis* species on artificial medium. **USDA: Entomology Research Division**. 4 p. 1963.

BERNARDI, O. et al. Manejo da Resistência de Insetos a Plantas Bt. **Edição. PROMIP– Manejo Integrado de Pragas, Engenheiro Coelho, SP, Brasil**, 2016.

BERNARDI, O. et al. Selection and characterization of resistance to the Vip3Aa20 protein from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda*. **Pest management science**, 2016

BLACK, R. J. **Complexo soja: fundamentos, situação atual e perspectiva**. In: CÂMARA, G. M. S. (Ed.). Soja: tecnologia de produção II. Piracicaba: ESALQ, p.1- 18, 2000.

BOGDANOV, E. A. Über das Ablängigkeit des Wachstums der Fliegenlarven von Bakterien und Fermenten und über Variabilität und Vererbung bei den Fleischfliegen. **Archives of Anatomy Physiology**, p. 173-200, 1908

BONETTI, L. P. **Distribuição da soja no mundo: origem, história e distribuição**. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Ed.). A soja no Brasil. Campinas: ITAL, p. 1-6, 1981.

BULL, D. L.; ADKISSON, P. L. Certain factors influencing diapause in the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella*. **Journal of Economic Entomology**, v. 53, n. 5, p. 793-798, 1960.

CABI, Invasive Species Compendium. 2002. *Spiroplasma kunkelii* (corn stunt spiroplasma). Disponível em: <<https://www.cabi.org/isc/datasheet/50978>>. Acesso em: 21/04/2022.

CAPINERA, J. L. Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). **The University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences**, p. 6, 2000.

COHEN, A. C. Insect diets: science and technology. **Boca Raton**, 324p. 2004

CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira. Grãos Safra 2021/22. 6º Levantamento. CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília. 2017

CONTINI, E. et al. **Milho: caracterização e desafios tecnológicos**. 2019, 45 p. Brasília, DF: Embrapa. Desafios do Agronegócio Brasileiro (NT2)

CORTEVA. Multinacional celebra um ano de lançamento da marca e tem Brasil como peça-chave para crescer, 2019. Disponível em: <<http://patrocinados.estadao.com.br/corteva/2019/03/22/multinacional-celebra-um-ano-de-lancamento-da-marca-e-tem-brasil-como-peca-chave-para-crescer/>>. Acesso em: 25 de abril de 2022

CORTEVA. Nossa história. Disponível em: <<https://www.corteva.com.br/quem-somos/nossa-fusao.html>>. Acesso em: 25 de abril de 2022

COTO, D. et al. **Plagas invertebradas de cultivos tropicales com énfasis en América Central - Un inventario**. CATIE, Turrialba: Centro Agronomico tropical de inverstigacion y enseñanza, 1995, 200p. (Manual Técnico 12)

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas, MG: Embrapa/CNPMS, 1995, 63p. (Circular Técnica 21).

DA ROSA, A. P. S. A.; BARCELOS, H. T. Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho. Pelotas, RS: **Embrapa Clima Temperado**, 2012 (Documentos 344).

DAVIS, R. Biology of the leafhopper *Dalbulus maidis* at selected temperatures. **Jornal of Economic Entomology**, v. 59, n. 3, p. 766, 1966.

EMBRAPA. Sistemas de Produção Embrapa. **Cultivo do Milho**. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_lgalceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&r_p_-76293187_sistemaProducaoId=7905&p_r_p_-996514994_topicoId=8659>. Acesso em: 25 de abril 2022.

ESPIRITO SANTO, B. R. do; DAMASO, O. R.; NASSAR, A. M. Evolução e perspectivas econômicas da produção de milho no Brasil. **Revista de Política Agrícola**, v. 3, n. 4, p. 14-32, 1994.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. USDA.gov - **United States Department of Agriculture**. Disponível em: < <https://www.usda.gov/>>. Acesso em: 25 de abril 2002.

FIRRAO, G. et al. *Candidatus Phytoplasma'*, a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 54, n. 4, p. 1243-1255, 2004.

FREITAS, Márcio. A cultura da soja no Brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, 2011.

GARCIA, J. C. et al. **Aspectos econômicos da produção e utilização do milho**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2006, 12p. (Circular Técnica 74).

GONZALES, V.; GÁMEZ, R. Recherches expérimentales sur la vie aseptique et le développement d'un organism *Drosophila ampelophila*, en fonction du milieu. **Turrialba**, v. 24, n. 1, P. 51-57, 1974.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. **Annul Review Entomology**, v. 43, p. 701-726, 1998.

GUYÉNOT, É. et al. Recherches expérimentales sur la vie aseptique et le développement d'un organism *Drosophila ampelophila*, en fonction du milieu. 1917.

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

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina, PR: Embrapa Soja. 2014, 70p. (Circular Técnica 349).

KASTEN J. P.; PRECETTI, A. A. C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista Agricultura, Piracicaba**, v, 53, p. 68-78, 1978.

MADDEN, L. V.; NAULT, L. R.; HEADY, S. E; STYER, W. E. Effect of temperature on the population dynamics of three *Dalbulus leafhoppers* species. **Annals of Applied Biology**, v. 108, p. 475-485, 1986.

MAHON, R. J.; DOWNES, S.; JAMES, W.; PARKER, T. Why do F1 screens estimate higher frequencies of Cry2Ab resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) than do F2 screens?. **Journal economic Entomology**, v. 103, p. 472-481, 2010.

MARIN, R. Biología y comportamiento de *Dalbulus maidis* (Homoptera. Cicadellidae). **Revista Peruana de Entomologia**, v. 30, p. 113-117, 1987.

MONTEZANO, D.G. et al. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**. p. 286-300

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

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

NAULT, L. R.; DELONG, D. M. Evidence for co-evolution of leafhoppers in the genus *Dalbulus* (Cicadellidae: Homoptera) with maize and its ancestors. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 73, p. 349-353, 1980.

OLIVEIRA, C. M. de; LOPES, João Roberto Spotti. Cigarrinha-do-milho: aspectos taxonômicos e ecológicos, sobrevivência na entressafra. In: *Doenças em milho: mollicutes, virus, vetores, mancha por Phaeosphaeria*[S.l: s.n.], 2004.

OLIVEIRA, C. M.; SABATO, E. DE O. Doenças em milho, Insetos-vetores, Mollicutes e Vírus. 1. ed. Brasília: EMBRAPA, 2018. 610 p.

OLIVEIRA, E; OLIVEIRA, C. M.; MAGALHÃES, P. C.; ANDRADE, C. L. T; HOGENHOUT, A. S. Spiroplasma and phytoplasma infection reduce kernel production, and nutriente and water contents of several but not all maize cultivars. **Maydica**, v. 50, n. 2, p. 171-178, 2005.

PANIZZI A. R.; PARRA, J. R.P. **Bioecologia e nutrição de insetos Base para o manejo integrado de pragas**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA, 2013. 1600 p.

PARRA, J. R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S. B. (Ed.). Controle microbiano de insetos. **Piracicaba: Fealq**, p. 1015-1038, 1998.

PARRA, J. R. P. **Dietas Artificiais para Criação de Insetos**. Praticaba: USP/ESALQ. 2019. 174p.

PIONEER. DuPont Pioneer no Brasil. Disponível em: <<https://www.pioneersementes.com.br/institucional/duPont-pioneer-no-brasil>>. Acesso em: 25 de abril de 2022

POGUE, M. G. A word Revision of the Genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae): Memoirs of the American Entomological Society Number 43. Philadelphia: American Entomological Society, 2002. 212 p.

POOLE, R. W. Noctuidae. In: J. B. HEPPNER (Ed.). **Lepidopterorum Catalogus**. New York: Brill, vol. 2, 1989. 1314 p.

SALVADORI, J. R.; PARRA, J. R. P. Seleção de dietas artificiais para *Pseudaletia sequax* (Lep.: Noctuidae). **Pesq. agropec. Bras**, p 1701-1713, 1990

TEODORO, A. V. et al. *Spodoptera cosmioide* (Walker) e *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera : Noctuidae) : novas pragas de cultivos da região. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2013, 7p. (Comunicado Técnico 131).

The International Plant Names Index and World Checklist of Selected Plant Families 2022. Disponível em: <<http://www.ipni.org> and <http://apps.kew.org/wcsp/>>. Acesso em: 21/04/2022.

TODD, J.L.; MADDEN, L. V.; NAULT, L. R. Comparative growth and spatial distribution of *Dalbulus leafhoppers* populations (Homoptera: Cicadellidae) in relation to maize phenology. **Environmental Entomology**, v. 20, n. 2, p. 556- 564, 1991.

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: Springer-Verlag, p. 209-221, 1988

VELEZ, A.M.; SPENCER, T.A.; ALVES, A.P.; Moellenbeck, D. MEAGHER, R.L.; CHIRAKKAL, H.; SIEGFRIED, B.D. Inheritance of Cry1Fa resistance, cross-resistance and frequency of resistant alleles in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin of Entomology Research**, v. 103, p. 700-713, 2013.

VIEIRA, M.C de S. et al. **Criação de *Helicoverpa armigera* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae: Heliathinae) em condições de laboratório utilizando dietas artificial e natural.** Dourados, MS: Embrapa Agropecuária Oeste, 2018, 17p. (Circular Técnica 46).

VIEIRA, P. V. M. V; BONFIN, F. A. D; SPECHT, A. Criação de representantes do gênero *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) de maior importância agrícola para diferenciação interespecífica nos estágios imaturos. In: Encontro de Iniciação Científica da Embrapa Cerrados, Jovens Talentos, 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355008/55255117/09_paulo_poster.pdf/7ebe4a56-7cad-d35a-f050-541677d585e6>. Acesso em: 25 de abril de 2022

WAQUIL, J. M. VIANA, P. A.; CRUZ, I.; SANTOS, J. P. Aspectos da biologia da cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, V. 28, n. 3, p. 413-420,1999.

ZURITA, Y. A.; ANJOS, N.; WAQUIL, J. M. Aspectos biológicos de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) em Híbridos de Milho (*Zea mays* L.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 2. p. 347-352, 2000.