

**TÍTULO: Estudos epidemiológicos do complexo de enfezamentos do milho  
no oeste do Paraná**

**LETTÍCIA ALVARENGA**  
Bióloga

URUTAÍ – GOIÁS  
2025

**LETTÍCIA ALVARENGA**

**TÍTULO: ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS DO COMPLEXO DE  
ENFEZAMENTOS DO MILHO NO OESTE DO PARANÁ**

Orientadora: Prof. Dra. Mônica Alves de Macedo

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas para obtenção do título de MESTRE.

URUTAÍ- GOIÁS  
2025

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do  
Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF Goiano - SIBI**

Alvarenga, Letticia  
A473e      Estudos epidemiológicos do complexo de enfezamentos do milho  
no oeste do Paraná / Letticia Alvarenga. Urutai 2025.  
30f. il.  
Orientadora: Profª. Dra. Mônica Alves de Macedo.  
Tese (Mestre) - Instituto Federal Goiano, curso de 0133054 -  
Mestrado Profissional em Proteção de Plantas - Urutai (Campus  
Urutai).  
1. Complexo de enfezamentos. 2. *Dalbulus maidis*. 3.  
*Spiroplasma kunkelii*. 4. *maize rayado fino virus*. 5. *Maize bushy  
stunt phytoplasma*. I. Título.

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

### IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- Tese (doutorado)  Artigo científico  
 Dissertação (mestrado)  Capítulo de livro  
 Monografia (especialização)  Livro  
 TCC (graduação)  Trabalho apresentado em evento

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:  
Leticia Alvarenga

Matrícula:  
2024101330540021

Título do trabalho:  
Estudos epidemiológicos do complexo de enfezamentos do milho no oeste do Paraná

### RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 17 /12 /2025

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

### DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Urutai

19 /12 /2025

Local

Data

Documento assinado digitalmente

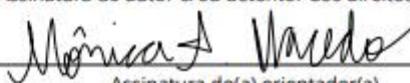
LETTICIA ALVARENGA

Data: 19/12/2025 13:06:52-0300

Verifique em <https://validar.ifi.gov.br>

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)



Documento 769991

## PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO

### BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos vinte dias de outubro de dois mil e vinte e cinco às oito horas, reuniram-se por videoconferência os componentes da banca examinadora, para procederem à avaliação da defesa de dissertação em nível de mestrado, de autoria de **Leticia Alvarenga**, discente do Programa de Pós-Graduação em **Proteção de Plantas** do Instituto Federal Goiano - Campus Urutai, com trabalho intitulado **Estudos epidemiológicos do complexo de enfezamentos do milho no Oeste do Paraná**. A sessão foi aberta pela presidente da banca examinadora, Profº. Drº. Mônica Alves Macedo, que fez a apresentação formal dos membros da banca. A palavra, a seguir, foi concedida ao autor da dissertação para, em até 30 minutos, proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu o candidato, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, o candidato foi considerado **APROVADO**, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de **MESTRE EM PROTEÇÃO DE PLANTAS**, na área de concentração em **Fitossanidade**, pelo Instituto Federal Goiano – Campus Urutai. A conclusão do curso dar-se-á mediante ao depósito da dissertação definitiva no Repositório Institucional do IF Goiano, com as devidas correções. Assim sendo, a defesa perderá a validade se não cumprida essa condição, em até **60 (sessenta) dias** da sua ocorrência. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de dissertação de mestrado, e para constar, foi lavrada a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada eletronicamente pelos membros da banca examinadora.

Membros da Banca Examinadora:

Nome	Instituição	Situação no Programa
Profº. Drº. Mônica Alves Macedo	IF Brasília	Presidente
Dr. André Cirilo de Sousa Almeida	IF Goiano	Membro Interno
Prof. Dr. Dirceu Macagman	Instituto Federal de Brasília	Membro Externo

Documento assinado digitalmente  
MONICA ALVES DE MACEDO  
Data: 08/12/2025 16:53:15-0300  
Verifique em <https://validar.ifg.gov.br>

Documento assinado digitalmente  
DIRCEU MACAGMAN  
Data: 08/12/2025 17:07:38-0300  
Verifique em <https://validar.ifg.gov.br>

Documento assinado digitalmente  
ANDRE CIRILO DE SOUSA ALMEIDA  
Data: 08/12/2025 17:16:29-0300  
Verifique em <https://validar.ifg.gov.br>

INSTITUTO FEDERAL GOIANO



## FOLHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

**Título da dissertação:** Estudos epidemiológicos do complexo de enfezamentos do milho no Oeste do Paraná.

**Autor:** Letícia Alvarenga

**Orientadora:** Profª. Drª. Mônica Alves Macedo

Dissertação de Mestrado Profissional **APROVADA** em 03 de 12 de 2025, como parte das exigências para obtenção do título de **MESTRE EM PROTEÇÃO DE PLANTAS**, pela Banca Examinadora especificada a seguir:

Profª. Drª. Mônica Alves Macedo

IF Brasília

Prof. Dr. André Cirilo de Sousa  
Almeida

IF Goiano

Prof. Dr. Dirceu Macagman

IF Brasília

Documento assinado digitalmente

gov.br

MONICA ALVES DE MACEDO  
Data: 06/12/2025 16:53:15-0300  
Verifique em <https://validar.itb.gov.br>

Documento assinado digitalmente

gov.br

DIRCEU MACAGMAN  
Data: 06/12/2025 17:07:38-0300  
Verifique em <https://validar.itb.gov.br>

Documento assinado digitalmente

gov.br

ANDRE CIRILO DE SOUSA ALMEIDA  
Data: 06/12/2025 17:16:29-0300  
Verifique em <https://validar.itb.gov.br>

## DEDICATÓRIA

Primeiramente a Deus e à Nossa Senhora Aparecida, que foram minha fortaleza espiritual nos momentos de dificuldade e renovaram minha fé em cada etapa desta jornada.

Ao meu esposo, Marcelo Willy Polster, meu maior incentivador, que esteve ao meu lado com amor, apoio incondicional e palavras de encorajamento nos momentos mais desafiadores dessa caminhada. Ao meu filho de quatro patas, Zezinho, que esteve presente em cada ida a campo e em todos os dias longos e silenciosos de escrita, sua presença me trouxe conforto e leveza.

Aos meus pais, Celeida E. Alvarenga e Mauro J. Alvarenga, que sempre acreditaram no meu potencial e se orgulham genuinamente de cada conquista minha. Aos meus irmãos, Priscilla Alvarenga e Mauro Alvarenga, que sempre estiveram ao meu lado. Em especial à minha irmã Priscilla, que com suas palavras de encorajamento e fé renovada, foi fonte constante de fortaleza para que eu seguisse em frente, mesmo nos momentos mais difíceis.

E, com muito amor e carinho, dedico este título tão importante na minha vida aos meus sobrinhos Heitor, Sophia e Mariah, que me inspiram a ser exemplo e motivo de orgulho.

## AGRADECIMENTOS

Após tantas idas e vindas, cheguei a pensar que este dia jamais chegaria... mas, enfim, chegou! E tenho muito a agradecer por isso.

Agradeço a Deus pela vida, saúde, pela minha família e pelas oportunidades renovadas a cada dia.

Agradeço a minha família Marido, Filho de quatro patas, Pais, Irmãos, Sobrinhos pelo grande apoio e nunca desistirem de mim.

Em especial ao meu esposo Marcelo Willy Polster, por não deixar eu desistir e ajudando ativamente na implementação e nas avaliações do projeto de mestrado, e sempre acreditando no meu potencial.

Dedico este título à memória dos meus avós Prudenciana Alvarenga e Osvaldo Euzébio, que já partiram, mas deixaram lembranças carregadas de amor e saudade, e que sempre cuidaram de mim com dedicação e ternura.

Agradeço, em especial, aos meus tios Adair Euzébio, Clarisse Aparecida, Amarildo Euzébio e Marluce Ferreira, e à minha querida vozinha, Maria José Alvarenga, que, desde a minha infância, me acolhe com carinho e cuidado, sempre torcendo pelo meu sucesso.

Aos amigos que estiveram ao meu lado, incentivando-me e nunca permitindo que eu desistisse: são muitos para citar, mas destaco com carinho Ayza Camargo, Jacieli Machado, Andressa Rossi, Manoeli Hoffmann, Camila Santos, Thais Morais, Serena, Nathália Barbosa e Nilceli Gonçavez. Também agradeço às primas Jéssica M. Ferreira, Pâmela M. Alvarenga e Polyane Alvarenga, pelo apoio e incentivo constantes, sempre trazendo muitas palavras de aconchego e carinho.

Agradeço a Ana Paula Machado que me ajudou e confiou no meu trabalho, e que me apresentou aos produtores rurais que esses gentilmente me receberam em suas propriedades, sempre com atenção, paciência e incentivo, permitindo que eu realizasse meu trabalho com dedicação e confiança, acreditando que a pesquisa faz a diferença hoje no mundo, em especial: Joarez Bottega, Fernando José Prati, Odair Machado, Valmor Stofela, Bruna Cristina de Andrade (Agrícola Andrez), Leon Grigio, Andressa Rossi e Haroldo Billibio.

Minha gratidão à minha orientadora, profa. Dra. Mônica Alves de Macedo, que foi mais que uma orientadora, foi uma grande incentivadora. Sei que fez muito além do esperado, sempre me motivando e jamais permitindo que eu desistisse, dedicando-se intensamente para que eu

pudesse chegar até aqui, puxando a minha orelha e me instruindo para fazer o melhor no desenvolvimento do projeto. Meu reconhecimento e eterna gratidão.

Ao Professor e Coordenador André Cirilo de Sousa Almeida, que sempre estava de prontidão em me ajudar e tirar as minhas dúvidas, me incentivando para finalização do meu mestrado.

Agradeço ao Instituto Federal Goiano, Campus Urutá (GO), e a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, que sempre estiveram presentes, oferecendo orientação e atenção às necessidades de cada aluno, em especial aos professores Nadson Pontes e Marcos Antônio Freitas, pelo incentivo fundamental na retomada e continuidade do mestrado.

A minha banca de qualificação e defesa que contribuíram de forma positiva e significativa para meu trabalho e meu desenvolvimento acadêmico.

Agradeço ao Pesquisador Dr. Euclides Vilanova da Esalq, pela sua disponibilidade e suporte no presente trabalho.

Sou grata a todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte dessa trajetória, mesmo que seus nomes não estejam aqui mencionados, meu sincero muito obrigada!

“E não somente isso, mas também nos gloriamos nas tribulações; sabendo que a tribulação produz perseverança, a perseverança produz um caráter aprovado, e o caráter aprovado, a esperança.”

(Romanos 5:3-4)

“Deus retribuirá a cada um conforme o seu procedimento. Ele dará vida eterna aos que, persistindo em fazer o bem, buscam glória, honra e imortalidade.”

(Romanos 2:6-7)

## SUMÁRIO

RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vi
LISTA DE TABELAS .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	viii
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	6
OBJETIVO GERAL:.....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	6
MATERIAL E MÉTODOS .....	7
RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	14
CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIA .....	26

## RESUMO

O complexo de enfezamentos do milho representa um desafio fitossanitário crescente no Brasil, incluindo a região Oeste do Paraná, onde se tem observado uma crescente pressão do vetor e aumento na severidade da doença. Este estudo teve como objetivo avaliar a incidência de doenças causadas por *Spiroplasma kunkelii*, maize bushy stunt phytoplasma e maize rayado fino virus (MRFV), monitorar a infestação da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) e realizar a detecção molecular desses patógenos em cultivos de primeira e segunda safra no Oeste do Paraná. Para isso, foram monitoradas 16 áreas agrícolas, utilizando armadilhas adesivas para captura do vetor, inspeções visuais das plantas e análises moleculares para detecção dos patógenos. A maior densidade populacional de *D. maidis* foi observada na segunda safra, especialmente nos municípios de Cascavel e Santa Helena. No entanto, a detecção molecular dos patógenos e a incidência de plantas sintomáticas foram mais elevadas na primeira safra, especialmente em Santa Helena, onde 43% das plantas avaliadas apresentaram sintomas típicos do complexo. *S. kunkelii* foi o patógeno mais frequentemente detectado na primeira safra, enquanto o MRFV predominou nas amostras da segunda safra. Os dados revelaram variações espaciais e temporais expressivas na infestação do vetor entre os municípios, com tendência de aumento ao longo do ciclo da cultura, atingindo picos nas últimas avaliações. Apesar da elevada infestação em diversas áreas, a ocorrência de sintomas não foi uniforme, e não se observou correlação direta entre a densidade de cigarrinhas e a incidência da doença. Esses resultados indicam que a ocorrência do complexo de enfezamentos é influenciada por múltiplos fatores, como a pressão de inóculo, a tolerância dos híbridos cultivados e as estratégias de manejo adotadas localmente. A integração entre o monitoramento da infestação do vetor, a avaliação visual de sintomas e o diagnóstico molecular mostrou-se essencial para compreender a dinâmica do complexo de enfezamentos do milho em nível local, além de ser fundamental para o direcionamento de estratégias de manejo regionalizadas e sustentáveis.

**Palavras-chave:** Zea mays, *Dalbulus maidis*, *Spiroplasma kunkelii*, maize rayado fino virus, Maize bushy stunt phytoplasma.

## ABSTRACT

The corn stunt complex represents a growing phytosanitary challenge in Brazil, including the western region of Paraná, where increasing vector pressure and disease severity have been observed. This study aimed to assess the incidence of diseases caused by *Spiroplasma kunkelii*, maize bushy stunt phytoplasma and maize rayado fino virus (MRFV), monitor the infestation of the corn leafhopper (*Dalbulus maidis*), and perform molecular detection of these pathogens in summer and off-season corn crops in western Paraná. Sixteen agricultural areas were monitored using yellow sticky traps for vector capture, visual inspections of plants, and molecular analyses for pathogen detection. The highest infestation of *D. maidis* was observed during the second growing season, particularly in the municipalities of Cascavel and Santa Helena. However, the molecular detection of pathogens and the incidence of symptomatic plants were higher during the first season, especially in Santa Helena, where 43% of the evaluated plants exhibited typical symptoms of the complex. *S. kunkelii* was the most frequently detected pathogen in the first season, while MRFV predominated in samples. The data revealed significant spatial and temporal variation in vector infestation among municipalities, with a tendency for increasing populations throughout the crop cycle, peaking during the final evaluations. Despite the high infestation levels in several areas, symptom occurrence was uneven, and no direct correlation between leafhopper density and disease incidence was observed. These findings indicate that the occurrence of the maize stunting complex is influenced by multiple factors, such as inoculum pressure, hybrid tolerance, and locally adopted management strategies. Integration of vector population monitoring, visual symptom assessment, and molecular diagnosis proved essential for understanding the local dynamics of the maize stunting complex, as well as for guiding regionally adapted and sustainable management strategies.

**Key words:** *Zea mays*, *Dalbulus maidis*, *Spiroplasma kunkelii*, maize rayado fino virus, maize bushy stunt phytoplasma

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
<b>Tabela 1.</b> Localização geográfica dos municípios avaliados no estado do Paraná.....	8
<b>Tabela 2.</b> Susceptibilidade dos híbridos de milho ao complexo de enfezamento utilizados nas propriedades monitoradas na safra 2024/2025.....	8
<b>Tabela 3.</b> Primers e sondas utilizadas nas reações de RT-qPCR para detecção de maize rayado fino vírus (MRFV), <i>Spiroplasma kunkelii</i> e maize bushy stunt phytoplasma (MBSP).....	11

## LISTA DE FIGURAS

### Páginas

<b>Figura 1.</b> Mapa de localização dos pontos de monitoramento no Oeste do Paraná. As cores dos marcadores representam o período de cultivo do milho: azul indica primeira safra, vermelho indica cultivo no período primeira/segunda safra, e verde representa a segunda safra. Imagem elaborada a partir de dados geográficos coletados em campo e sobrepostos a uma imagem de satélite obtida no Google Earth. ....	7
<b>Figura 2.</b> Número médio de adultos de cigarrinha do milho ( <i>Dalbulus maidis</i> ) capturados em armadilhas amarelas em diferentes municípios do Oeste do Paraná na primeira e segunda safra. Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre épocas (Safra e Safrinha) dentro de cada município, enquanto letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre municípios dentro de cada época (modelo linear generalizado – GLM, família Poisson, comparações por EMMeans com ajuste de Tukey, $p < 0,05$ ).* indica que o município foi avaliado	
apenas em uma das duas safras.....	14
<b>Figura 3.</b> Evolução temporal do número de cigarrinhas do milho ( <i>Dalbulus maidis</i> ) em diferentes municípios do Oeste do Paraná durante a primeira safra.....	
<b>Figura 4.</b> Mapa de calor gerado na plataforma Looker Studio, representando o número médio de cigarrinhas do milho ( <i>Dalbulus maidis</i> ) capturadas por armadilha amarela em diferentes municípios do Oeste do Paraná, durante as épocas de cultivo: primeira (A) e segunda safra (B). O contorno verde indica a área de influência, e a intensidade da coloração (verde ao vermelho) reflete a concentração do inseto vetor, com base nos dados obtidos por meio do monitoramento em campo.....	
<b>Figura 5.</b> Evolução temporal do número de cigarrinhas do milho ( <i>Dalbulus maidis</i> ) em diferentes municípios do Oeste do Paraná durante a segunda safra.....	
<b>Figura 6.</b> Porcentagem de plantas com sintomas característicos de enfezamento do milho em diferentes municípios do Oeste do Paraná na primeira e segunda safra. Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre épocas (Safra e Safrinha) dentro de cada	

município, enquanto letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre municípios dentro de cada época (modelo linear generalizado – GLM, família binomial, comparações por EMMeans com ajuste de Tukey,  $p < 0,05$ ). \* indica que o município foi avaliado apenas em uma das duas safras.....19

**Figura 7.** Mapas de calor gerados na plataforma Looker Studio, representando a intensidade da incidência do completo do enfezamento do milho em diferentes municípios do Oeste do Paraná, durante a primeira (A) e segunda safra (B). O contorno verde indica a área de influência e a intensidade da coloração (verde ao vermelho) reflete a quantidade de plantas sintomáticas.....22

**Figura 8.** Porcentagem de áreas com detecção molecular de maize rayado virus (MRFV), *Spiroplasma kunkelii* e maize bushy stunt phytoplasma (MBSP) em amostras vegetais e de insetos coletados durante a primeira e a segunda safra, em diferentes municípios do Oeste do Paraná. Os valores representam a frequência de detecção por localidade, com base nos resultados obtidos por meio de diagnóstico molecular.....23

## INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) é uma das principais culturas agrícolas do Brasil, destacando-se por sua versatilidade e importância estratégica. Atua como importante fonte de energia e proteína para a alimentação humana e animal, além de ser amplamente utilizada como matéria-prima na produção de etanol, contribuindo para a diversificação e sustentabilidade da matriz energética. Suas aplicações vão desde produtos alimentícios até rações e silagens destinadas à pecuária. Essa ampla utilização consolida o milho como elemento central da agricultura nacional, posicionando-o como um dos pilares da segurança alimentar e energética do país, com impacto significativo nos mercados interno e externo. Originário da América Central, este cereal é cultivado em mais de 70 países (DOWSWELL et al., 2019; GUIMARÃES, 2024).

O Brasil ocupa a terceira posição entre os maiores produtores mundiais de milho, com uma produção de 114,953 milhões de toneladas no ano agrícola de 2024, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China. Esses três países também se destacam como os principais exportadores globais. No caso do Brasil, a participação no mercado internacional tem crescido de forma significativa, impulsionada sobretudo pela expansão e consolidação da produção da segunda safra (safra de inverno) (IBGE, 2024; USDA, 2024).

Embora o Brasil figure entre os maiores produtores mundiais de milho, sendo essa uma das culturas de maior relevância econômica e estratégica para o agronegócio nacional, a produtividade ainda é significativamente afetada por diversos desafios fitossanitários. Dentre esses, destaca-se o complexo de enfezamentos do milho, considerado um dos principais fatores limitantes da produção nas principais regiões produtoras do país, em função das reduções expressivas de rendimento e do impacto sobre a qualidade dos grãos. Os enfezamentos causados por molicutes e as viroses do milho aumentaram em incidência, causando prejuízos significativos na produção de sementes desse cereal (OLIVEIRA et al., 1998; 2003). O complexo de enfezamento do milho é composto por doenças vasculares e sistêmicas causadas por dois molicutes — *Spiroplasma kunkelii*, agente etiológico do enfezamento pálido (DAVIS et al., 1973; WHITCOMB et al., 1986), e maize bushy stunt phytoplasma (MBSP) responsável pelo enfezamento vermelho (NAULT, 1980), e por dois vírus, o maize rayado fino virus (MRFV, *Marafivirus maydis*), causador do raiado fino (GÁMEZ, 1969; NAULT et al., 1989), e virose do mosaico estriado do milho (maize striate mosaic virus – MSMV) (VILANOVA et al., 2022).

Esses patógenos são transmitidos pela cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) (DeLong

& Woicott) (Hemiptera: Cicadellidae) um inseto vetor amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais das Américas que utiliza o milho e os teosintos como seu hospedeiro para reprodução (BRADFUTE et al., 1981; GÁMEZ, 1969; HRUSKA et al., 1996; KUNKEL, 1948; OLIVEIRA et al., 2020; 2022; 1998). A infecção pode ocorrer de forma isolada ou simultânea, dificultando o diagnóstico visual, uma vez que os sintomas variam de acordo com fatores ambientais, estádio fenológico da planta e suscetibilidade da cultivar utilizada (GALVÃO et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2023).

O MRFV induz pontos cloróticos nas nervuras secundárias e terciárias, que coalescem em riscas esbranquiçadas, visíveis quando a folha é observada contra a luz. Os sintomas causados pelo MRFV costumam surgir por volta do estádio vegetativo V4 e tendem a se agravar na fase reprodutiva. O período de incubação é de aproximadamente 14 dias, durante os quais a planta permanece assintomática (GÁMEZ, 1969, 1973; GONZATTO et al., 2023; POZEBON et al., 2022). O enfezamento pálido caracteriza-se por estrias cloróticas esbranquiçadas ou pálidas que se estendem da base ao ápice das folhas, acompanhadas de clorose, avermelhamento das margens, encurtamento de entrenós, redução da altura da planta e formação de espigas pequenas. Já o enfezamento vermelho manifesta-se por avermelhamento intenso, por vezes com tonalidade púrpura nas folhas mais velhas, além da proliferação de perfilhos e brotações axilares, encurtamento de entrenós e espigas malformadas (NAULT, 1980; SABATO et al., 2018).

Os molicutes são bactérias desprovidas de parede celular, característica que lhes confere morfologia pleomórfica e elevada capacidade adaptativa. Após a inoculação no floema pela alimentação da cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*), esses patógenos colonizam sistemicamente os tecidos floemáticos da planta hospedeira. Durante o período de latência, multiplicam-se e, posteriormente, obstruem os vasos condutores, comprometendo a translocação de fotoassimilados (NAULT, 1980). Essa obstrução interfere diretamente na distribuição de água, nutrientes e açúcares, resultando em desequilíbrios metabólicos, acúmulo de açúcares nas folhas, alterações hormonais e toxicidade celular. Como consequência, a planta degrada a clorofila, reduz sua taxa fotossintética e manifesta sintomas característicos do complexo de enfezamentos, como amarelecimento e avermelhamento foliar, encurtamento de entrenós, proliferação de espigas, superbrotamento e desenvolvimento de espigas improdutivas (NAULT, 1980; SABATO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2022).

Além disso, a infecção compromete o crescimento da planta, reduz a inserção e o enchimento das espigas e diminui significativamente o potencial produtivo. Plantas afetadas também se tornam mais vulneráveis a infecções secundárias, como podridões de colmo e

espiga, o que agrava os prejuízos agronômicos e pode resultar em morte prematura, fragilidade do colmo e maior suscetibilidade a fungos oportunistas. O tombamento de plantas e a perda de espigas em campo favorecem o surgimento de plantas voluntárias (tigueras) na safra seguinte, contribuindo para a perpetuação dos patógenos e de seu vetor, dificultando o controle da doença (SABATO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2022; OLIVEIRA et al., 2005, 2002 b).

A cigarrinha do milho dissemelha os patógenos ao migrar de lavouras adultas infectadas para áreas recém-plantadas com plântulas sadias (OLIVEIRA et al., 2002 a). Os adultos apresentam coloração amarelo-palha, com duas manchas circulares escuras na cabeça, sendo comumente encontrados nos cartuchos das plântulas (TRIPLEHORN et al., 1985; WAQUIL et al., 1999). A transmissão dos molicutes (*S. kunkelii* e MBSP) ocorre de forma persistente e propagativa, ou seja, após o inseto vetor, *D. maidis*, alimentar-se de uma planta infectada (período de aquisição), os patógenos atravessam o canal alimentar e se multiplicam em diferentes órgãos internos, principalmente nas glândulas salivares (ALIVIZATOS et al., 1986; NAULT, 1980). Após o período de latência, o inseto torna-se permanentemente infectivo, sendo capaz de transmitir os patógenos por toda a sua vida. Esse processo inclui quatro fases principais: (1) período de aquisição, (2) período de latência, (3) período de acesso à inoculação e (4) fase de retenção (MOYA-RAYGOZA et al., 1998; NAULT, 1997, 1980). Em contraste, o MRFV apresenta modo de transmissão classificado como persistente circulativo não propagativo. Após a aquisição, o vírus atravessa o intestino do inseto e circula pela hemolinfa até atingir as glândulas salivares, sem se multiplicar no organismo do vetor (GÁMEZ, 1969; PANIAGUA et al., 1976).

A biologia de *Dalbulus maidis* contribui substancialmente para sua eficiência como vetor dos patógenos associados ao complexo de enfezamentos do milho. Essa espécie apresenta alta taxa de reprodução e ampla capacidade de dispersão, o que favorece a manutenção e disseminação dos patógenos em diferentes regiões produtoras. Além disso, seu comportamento alimentar especializado, com preferência por tecidos floemáticos, possibilita a aquisição e a inoculação eficiente de molicutes e vírus durante a alimentação. A longevidade do inseto e a capacidade de reter os patógenos por toda a vida aumentam ainda mais o potencial de transmissão e o impacto epidemiológico dessa espécie nas lavouras de milho (Nault, 1980; Oliveira et al., 2023; 2022). Trata-se de um inseto hemimetábolo, que passa pelos estágios de ovo, ninfa e adultos (NAULT, 1980). As fêmeas realizam oviposição endofítica, inserindo os ovos no interior das folhas do milho, onde permanecem protegidos. As ninfas, desenvolvem-se no cartucho da planta, alimentando-se da seiva. Os adultos apresentam coloração amarelo-palha e comprimento variando entre 3,7 mm e 4,3 mm, sendo as fêmeas geralmente maiores que os

machos. Morfologicamente, distinguem-se por possuírem quatro fileiras longitudinais de espinhos nas tibias posteriores e duas manchas circulares escuras na cabeça, características úteis para identificação em campo (OLIVEIRA, et al. 2018 b; TRIPLEHORN et al., 1985; WAQUIL et al., 1999).

A dispersão de *Dalbulus maidis* pode ocorrer tanto por voo ativo quanto de forma passiva, por meio de correntes de vento, sendo também favorecida pela proximidade entre áreas cultivadas. Durante a entressafra, o inseto pode sobreviver em plantas voluntárias de milho (tigueras) e utilizar a braquiária e outras gramíneas como plantas abrigo temporárias; contudo, apenas o milho permite a conclusão completa de seu ciclo biológico (NAULT, 1990; 1980; OLIVEIRA et al., 2020; 2013; 2002 a; 2002 b).

No Brasil, a cigarrinha foi registrada pela primeira vez em 1930. Entretanto, a partir da safra 1980, a expansão dos cultivos de milho denominados segunda safra, associada posteriormente ao uso de sistemas de irrigação, como o pivô, possibilitou a manutenção da cultura no campo durante praticamente todo o ano e em extensas áreas de produção. Essa alteração no calendário e na disponibilidade contínua de hospedeiros promoveu mudanças significativas na dinâmica de diferentes patossistemas, sobretudo aqueles mediados por insetos vetores. Como consequência, registrou-se um aumento expressivo na incidência de doenças, inicialmente em estados como Minas Gerais, Goiás e São Paulo, com posterior avanço para as regiões Sul do país (OLIVEIRA et al., 1998; 2003 a; SABATO, 2018).

Desde a safra 2013/2014, o Brasil enfrenta uma epidemia persistente do complexo de enfezamentos do milho, intensificada por fatores agronômicos como a expansão da segunda safra, o cultivo de milho em sucessão à soja, a ausência de um vazio sanitário e a presença recorrente de plantas voluntárias de milho (tigueras) nas lavouras (HRUSKA et al., 1996; POZEBON et al., 2022; VIRLA et al., 2010). A manifestação da doença está relacionada à interação entre os três patógenos envolvidos cuja composição específica pode variar de uma região para outra. Os danos provocados às plantas não seguem um padrão uniforme, sendo influenciados pelo agente predominante, pelo estádio fenológico no momento da infecção e pela suscetibilidade genética do híbrido utilizado (OLIVEIRA et al., 2022; TOFFANELLI et al., 2002).

A infecção por patógenos do complexo de enfezamento, sobretudo em estádios vegetativos iniciais, pode resultar em perdas expressivas de produtividade (SABATO et al., 2018 a). Em regiões como o Oeste do Paraná, onde a incidência dessas doenças tem se intensificado, torna-se fundamental adotar práticas agrícolas sustentáveis, integradas ao monitoramento populacional da cigarrinha do milho e ao uso de ferramentas epidemiológicas.

Essa abordagem é essencial para reduzir os impactos econômicos causados pelo complexo de enfezamentos (OLIVEIRA et al., 2003).

Para o monitoramento e a compreensão da distribuição dos patógenos, técnicas laboratoriais têm se mostrado ferramentas valiosas para detecção em plantas de milho e em vetores. Entre os métodos utilizados, destacam-se a reação em cadeia da polimerase (PCR), para a detecção do DNA dos molicutes (*S. kunkelii* e MBSP), testes sorológicos, microscopia eletrônica e RT-PCR, empregados na identificação do MRFV (DOYLE, 1991; HARRISON et al., 1996; LEE et al., 1993). Essas abordagens laboratoriais permitem não apenas confirmar a presença dos agentes etiológicos, mas também mapear sua ocorrência em diferentes regiões, subsidiando estratégias de controle mais direcionadas.

O manejo eficaz do complexo de enfezamento requer a adoção integrada de boas práticas agrícolas, como a escolha de híbridos com resistência genética, o tratamento químico de sementes, a definição de épocas adequadas para o plantio, o controle rigoroso das infestações do vetor, a eliminação de plantas voluntárias e a colheita em tempo adequado. A implementação combinada dessas medidas é essencial para a mitigação dos danos causados pelas doenças associadas ao complexo de enfezamentos do milho (ALVES et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2022).

Diante da crescente relevância do complexo de enfezamentos no Brasil, torna-se essencial compreender seus aspectos epidemiológicos em diferentes regiões, incluindo a dinâmica populacional da cigarrinha do milho e a incidência das doenças ao longo das safras de verão e inverno. Nesse contexto, este estudo tem como objetivo gerar subsídios técnicos e científicos que apoiem o aperfeiçoamento das práticas de manejo, promovendo maior sustentabilidade e eficiência na produção de milho ao longo de todo o ciclo da cultura.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL:**

Estudar os aspectos epidemiológicos do complexo de enfezamento do milho em cultivo de primeira e segunda safra no Oeste do Paraná.

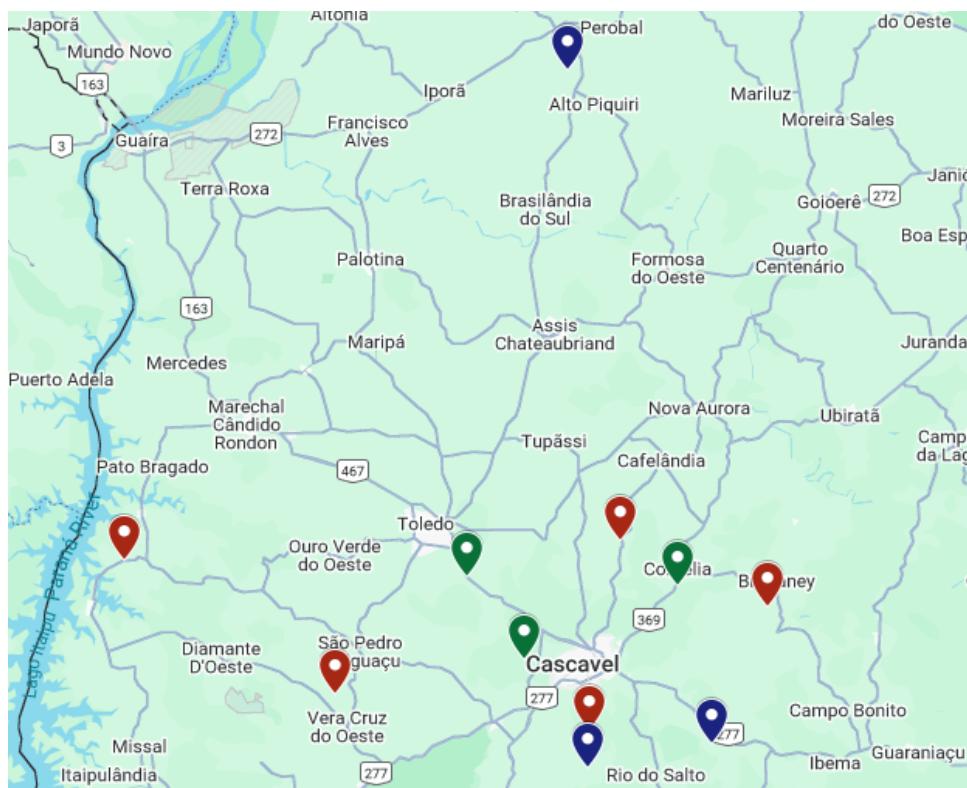
### **OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

1. Avaliar a incidência do complexo de enfezamento do milho em propriedades rurais no Oeste do Paraná, nos cultivos de primeira e segunda safra.
2. Determinar o nível de infestação da cigarrinha do milho em propriedades rurais no Oeste do Paraná, nos cultivos de primeira e segunda safra.
3. Estimar a prevalência regional dos patógenos associados ao complexo de enfezamento do milho durante os períodos da primeira e segunda safra no Oeste do Paraná.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1.1. Áreas selecionadas e híbridos de milho avaliados

A incidência de doenças associadas a molicutes e ao MRFV em cultivos de milho, bem como o monitoramento da infestação de adultos da cigarrinha do milho, foram avaliados em parcelas experimentais distribuídas em oito propriedades rurais localizadas na região Oeste do estado do Paraná. O estudo foi conduzido em dois períodos distintos de cultivo: primeira safra (plantios realizados entre setembro e outubro) e segunda safra (plantios estabelecidos entre janeiro e fevereiro). Ao todo, foram monitorados oito locais durante a primeira safra e oito locais durante a segunda safra, sendo que algumas áreas apresentaram sobreposição espacial, ou seja, foram utilizadas nos dois períodos de cultivo (Figura 1; Tabela 1) (GOOGLE EARTH, 2025).



**Figura 1.** Mapa de localização dos pontos de monitoramento no Oeste do Paraná.

As cores dos marcadores representam o período de cultivo do milho: azul indica primeira safra, vermelho indica cultivo no período primeira/segunda safra, e verde representa a segunda safra.

Imagen elaborada a partir de dados geográficos coletados em campo e sobrepostos a uma

imagem de satélite obtida no Google Earth.

**Tabela 1.** Localização geográfica dos municípios avaliados no estado do Paraná.

Municípios	Primeira Safra		Segunda Safra	
	Latitude	Longitude	Latitude	Longitude
Alto Piquiri	-23.915798	-53.505495		
Braganey	-24.859583	-53.137944	-24.859583	-53.137944
Cafelândia	-24.700463	-53.395632	-24.700463	-53.395632
Cascavel	-24.901205	-53.563173	-24.901205	-53.563173
Km408	-25.086528	-53.236417		
Rio da Paz	-25.14297	-53.52333		
Santa Helena	-24.81519	-54.33222	-24.81519	-54.33222
Toledo			-24.808888	-53.670391
Vera Cruz	-25.02443	-53.87628	-25.02443	-53.87628
Corbélia			-24.849167	-53.325000
Santa Tereza do Oeste			-24.808880	-53.670391

Nas áreas monitoradas, foi realizado o levantamento do histórico de cultivo com ênfase nos híbridos de milho utilizados em cada propriedade, com o objetivo de caracterizar o perfil genético dos materiais utilizados durante os dois períodos de avaliação. Para tal, foram obtidas informações junto a produtores e técnicos responsáveis pelo manejo das áreas, referentes aos híbridos implantados na primeira e segunda safra do ano agrícola 2024/2025. Posteriormente, os híbridos foram classificados quanto ao seu nível de resistência ao complexo de enfezamentos do milho, com base em informações técnicas fornecidas pelas empresas detentoras do germoplasma. As categorias fitossanitárias adotadas seguiram quatro níveis de resposta: Tolerante (T), Moderadamente Resistente (MR), Moderadamente Suscetível (MS) e suscetível (S) (Tabela 1).

**Tabela 2.** Susceptibilidade dos híbridos de milho ao complexo de enfezamento utilizados nas propriedades monitoradas na safra 2024/2025

Regiões	Híbridos/Classificação ao complexo de enfezamento	
	Primeira safra	Segunda safra
Alto Piquiri	SX7341VIP3 (MS)	---
Braganey	SHS7990PRO2 (MS)	SHS7990PRO2 (MS)
Cafelândia	P3016VYHR (MS)	P3322PWU (MR)
Cascavel	B2782 (MS)	P3322PWU (MR)
Km408	P3707VYH (MR)	---
Rio da Paz	P3016VYHR (MS)	---
Santa Helena	KWS7510VIP3 (MS)	KWS7510VIP3 (MS)
Toledo	---	AS1800PRO3 (MS)
Vera Cruz	MG593PWU (MR)	MG593PWU (MR)
Corbélia	---	P3322PWU (MR)
Santa Tereza do Oeste	---	B2702VYHR (MR)

Tolerante (T), moderadamente resistente (MR), moderadamente suscetível (MS) e suscetível (S).

## **1.2. Monitoramento da cigarrinha do milho**

Durante o experimento, foi instalado um suporte fixo e ajustável em altura para o monitoramento da cigarrinha do milho. Esse suporte foi instalado a 10 metros da borda do talhão, no mesmo dia da semeadura.

O monitoramento foi realizado por meio de armadilhas entomológicas amarelas do modelo Colortrap ( $30 \times 10$  cm), cuja coloração é atrativa para insetos vetores. A superfície da armadilha é recoberta com cola entomológica, responsável pela retenção dos insetos capturados.

As armadilhas foram substituídas a cada 15 dias. Em cada troca, a altura do suporte foi ajustada para manter a armadilha adesiva próxima às folhas jovens das plantas de milho, locais onde se observa maior presença do vetor. O número de cigarrinhas capturadas foi contado com o auxílio de uma lupa de mão, permitindo estimar a infestação do vetor na área monitorada. A contagem foi realizada em todos os quadrantes da armadilha, considerando ambos os lados.

## **1.3. Avaliação de incidência da doença**

Durante o ano agrícola de 2024/2025, foram realizadas avaliações da incidência de doenças em plantas de milho por meio de inspeções visuais dos sintomas associados ao complexo de enfezamento do milho. Em cada propriedade agrícola monitorada, foram demarcados quatro pontos amostrais próximos ao suporte de monitoramento da cigarrinha do milho, constituídos por parcelas com cinco linhas de cultivo, cada uma contendo 20 plantas.

Assim, cada repetição foi composta por 100 plantas, totalizando quatro repetições por local e um total de 400 plantas avaliadas por propriedade. As avaliações foram realizadas em três períodos distintos: aos 30, 60 e 90 dias após o plantio.

Para a avaliação da incidência, foram consideradas sintomáticas as plantas que apresentavam sinais característicos de enfezamento pálido, enfezamento vermelho, raiado fino ou a combinação entre essas doenças. Os sintomas típicos do enfezamento pálido incluem clorose generalizada, estrias esbranquiçadas que se estendem da base ao ápice das folhas, encurtamento de entrenós e redução no porte da planta. O enfezamento vermelho manifesta-se principalmente por avermelhamento intenso das folhas mais velhas, proliferação de perfilhos e brotações axilares, além de espigas pequenas e malformadas. O raiado fino, por sua vez, caracteriza-se pela indução de pontuações cloróticas nas nervuras secundárias e terciárias, que

evoluem para estrias esbranquiçadas (NAULT, 1980; SABATO et al., 2018).

Devido à similaridade e sobreposição dos sintomas no campo, não foi possível distinguir entre as três doenças. Assim, a presença de qualquer um desses sintomas, isoladamente ou em combinação, foi considerada indicativa de infecção pelo complexo de enfezamentos do milho.

A incidência foi calculada como a proporção entre o número de plantas sintomáticas e o total de plantas avaliadas, sendo expressa em porcentagem.

#### **1.4. Coleta de amostra foliar e cigarrinha do milho**

Durante a última avaliação de incidência, realizada aos 90 dias após o plantio, foram coletadas amostras para confirmação dos diagnósticos em campo. Nas áreas que apresentaram plantas sintomáticas, coletaram-se três folhas com bainha da parte superior das plantas, incluindo tanto folhas com presença de sintoma quanto regiões assintomáticas. Essas amostras foram acondicionadas em sacos de papel e encaminhadas ao laboratório logo após a coleta para a realização de análises moleculares. Em cada propriedade, a amostragem foi realizada em três a quatro pontos distintos, totalizando 10 folhas por local avaliado.

Nas propriedades onde não foram observados sintomas característicos da doença e cuja avaliação de incidência foi igual a zero, coletaram-se 10 indivíduos de cigarrinhas, que foram conservados em álcool absoluto para posterior análise. Ao total, foram realizadas oito análises de amostras referentes à primeira e à segunda safra (SILVA et al., 2021).

#### **1.5. Análise molecular**

As amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório Agronômica, localizado em Porto Alegre/RS, para a realização das análises moleculares.

As extrações do RNA total e DNA total para detecção dos três patógenos foram realizadas conforme o protocolo de Doyle (1991), com modificações.

Para a análise vegetal (folha), foi formada uma amostra composta por 10 folhas, sendo retirado um disco de aproximadamente 3 mm da nervura central de cada folha, com o auxílio de um furador de papel. As amostras foram transferidas para microtubos de 1,5 mL contendo 600  $\mu$ L de tampão de extração à base de fosfato (pH 7,4), composto por dietanolamina (Dieca) e polivinilpirrolidona (PVP). O material foi macerado com pistilo esterilizado. Em seguida, 200  $\mu$ L do macerado foram transferidos para microtubos estéreis para a extração de ácidos nucleicos. Nessa etapa, as amostras foram novamente maceradas em 700  $\mu$ L de tampão

CTAB, composto por 2% de CTAB, 2% de PVP, 1,4 M de NaCl, 100 mM de Tris-HCl (pH 8,0) e 50 mM de EDTA, em tubos de 2 mL. Esse tampão promove a lise celular, inativa nucleases e complexa polifenóis, contribuindo para a integridade do DNA. Após maceração, os tubos foram agitados em vórtex e incubados por 15 minutos a 65 °C. Em seguida, adicionaram-se 520 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), com nova agitação em vórtex por 1 minuto e centrifugação a 13.000 rpm por 5 minutos.

O sobrenadante (500 µL) foi transferido para outro tubo, ao qual se adicionaram 500 µL de isopropanol e 250 µL de acetato de amônio 7,5 M. A mistura foi homogeneizada por inversão e incubada a -20 °C por 15 minutos. Após centrifugação a 13.000 rpm por 5 minutos, o sobrenadante foi descartado, e o pellet lavado com 1 mL de etanol a 70%, seguido de nova centrifugação a 13.000 rpm por 2 minutos. O etanol foi descartado, os tubos foram secos ao ar, e o pellet ressuspensionado em 50 µL de água ultrapura. As amostras foram armazenadas a -20 °C até o uso.

As reações de RT-qPCR foram conduzidas visando a detecção específica dos patógenos associados ao complexo de enfezamentos do milho. A detecção do MRFV foi realizada utilizando oligonucleotídeos específicos direcionados à região codificadora da proteína do capsídeo (CP). Para os molicutes, a identificação do MBSP e do *S. kunkelii* foi realizada com primers e sondas específicos previamente descritos na literatura (Tabela 2).

**Tabela 3.** Primers e sondas utilizadas nas reações de RT-qPCR para detecção de maize rayado fino virus (MRFV), *Spiroplasma kunkelii* e maize bushy stunt phytoplasma (MBSP).

Patógeno	Oligonucleotídeo	Sequência (5'-3')	Fluoróforo
maize rayado fino virus (MRFV)	MRFV-CP FW*	TCG GAT CTT CGA CGT GAA GC	–
	MRFV-CP RV*	GCG CAA TGG AGT GTG ATT CT	–
	MRFV-CP Probe	TET-TGC AAG CTT TGC TCG CTT TGG C-BHQ1**	TET
Maize bushy stunt phytoplasma (MBSP)	CPN60-FW	GCC ATC TTA GCT GGT GGT AA	–
	CPN60-RV	CTT GAG TGC CAA CGT GTC TT	–

Patógeno	Oligonucleotídeo	Sequência (5'-3')	Fluoróforo
	CPN60-Probe	FAM-TGC CGG CTT GAG GAG TTG TGG T-BHQ1	FAM
<i>Spiroplasma kunkelii</i> (SK)	SPIRALIN-FW	GAA GAA ACT GGG TGG CAA TGC	—
	SPIRALIN-RV	GTA CGG TCC TTA GCG TTG GAT	—
	SPIRALIN- Probe	JUN-CTT GGC TGG TTC GAG GAG TTC TTC G-BHQ1	JUN

\*FW = primer senso; RV = primer antissenso/ \*\*BHQ1 = Black Hole Quencher 1.

As reações foram realizadas conforme protocolos otimizados previamente, com parâmetros específicos de temperatura e tempo de amplificação.

As reações foram realizadas em volume final de 20 µL, utilizando o GoTaq® Enviro RT-qPCR System (Promega, Madison, EUA), em termociclador StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, EUA). A análise foi feita com o StepOne™ Software v2.6.0, adotando-se como critério de positividade os valores de Cq inferiores a 40 ciclos. Para as amostras de cigarrinhas do milho, três indivíduos foram macerados diretamente no tampão de extração, seguindo os mesmos procedimentos posteriores aplicados ao material foliar.

## 1.6. Análise estatística

As análises estatísticas foram conduzidas no software R (R: THE R PROJECT FOR STATISTICAL COMPUTING, 2025). Foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de plantas com sintomas de enfezamento e número de cigarrinhas do milho para as épocas de cultivo de primeira e segunda safra.

Os dados foram ajustados por meio de Modelos Lineares Generalizados (GLMs), com a escolha da distribuição estatística apropriada para cada tipo de variável. Os dados de infestação do vetor foram modelados pela distribuição de Poisson, enquanto os dados de incidência foram ajustados com a distribuição Binomial (AGRESTI et al., 2025; DOBSON et al., 2018).

A seleção dos modelos considerou critérios de qualidade de ajuste, incluindo a

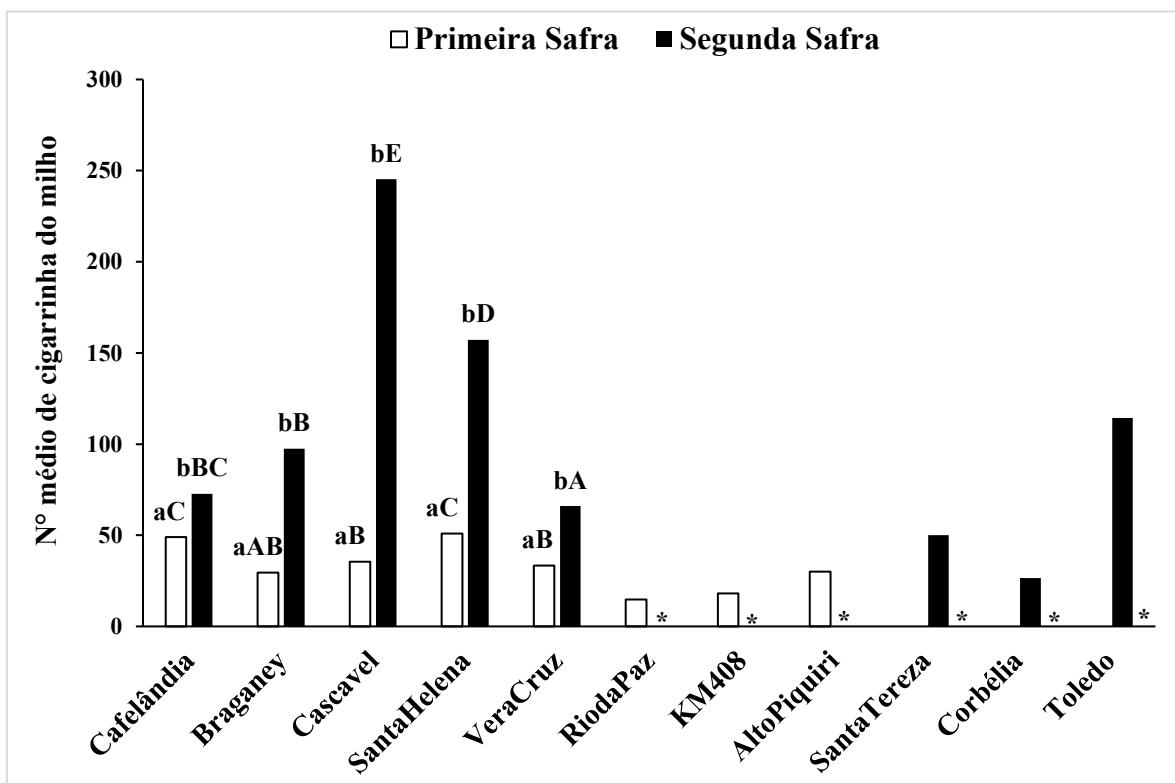
inspeção dos resíduos e a análise do Critério de Informação de Akaike (AIC). A significância estatística dos efeitos foi determinada por meio de testes de razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio Test*), adotando-se um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

As comparações múltiplas entre tratamentos e localidades foram realizadas com o auxílio dos pacotes emmeans, multcomp e multcompView. O pacote emmeans foi utilizado para a estimativa das médias marginais ajustadas (médias esperadas) e suas respectivas comparações; o multcomp forneceu ferramentas para testar hipóteses lineares generalizadas; e o multcompView foi empregado para gerar os agrupamentos de médias com base em letras, permitindo a visualização das diferenças significativas entre os tratamentos.

Para a apresentação dos dados referentes ao monitoramento da infestação do vetor, incidência dos patógenos e resultados da diagnose molecular, foram elaborados gráficos de barras no Microsoft Excel, possibilitando uma análise comparativa entre as épocas de cultivo e entre os diferentes agentes etiológicos detectados nas áreas avaliadas. Complementarmente, foi construído um mapa de calor por meio da plataforma Google Looker Studio (LOOKER STUDIO, 2025), representando espacialmente a distribuição da infestação de *D. maidis* e a incidência dos fitopatógenos associados ao complexo de enfezamento do milho nas localidades monitoradas. Os contornos verdes dispostos no mapa representam raios gerados a partir dos pontos de coleta, utilizados com o intuito de indicar a área geográfica aproximada associada a cada amostragem. A coloração interna desses círculos varia do verde ao vermelho e reflete a densidade relativa de infestação do vetor *D. maidis* e a porcentagem de incidência dos fitopatógenos, sendo que os tons mais próximos ao vermelho indicam maior concentração de indivíduos e maior incidência da doença nas localidades avaliadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados obtidos neste trabalho evidenciaram variações expressivas na infestação da cigarrinha do milho entre os municípios monitorados no Oeste do Paraná durante a primeira e a segunda safra do ano agrícola 2024/2025 (Figura 2). Conforme esperado, as menores infestações foram observadas na primeira safra (Figura 2), resultado atribuído à menor disponibilidade de plantas hospedeiras durante o período de entressafra. Um padrão semelhante também foi observado em um período de dois anos no estado de Minas Gerais, onde as infestações de cigarrinha do milho foram maiores na segunda safra de milho em comparação com o milho de verão (OLIVERIA et al., 2015).



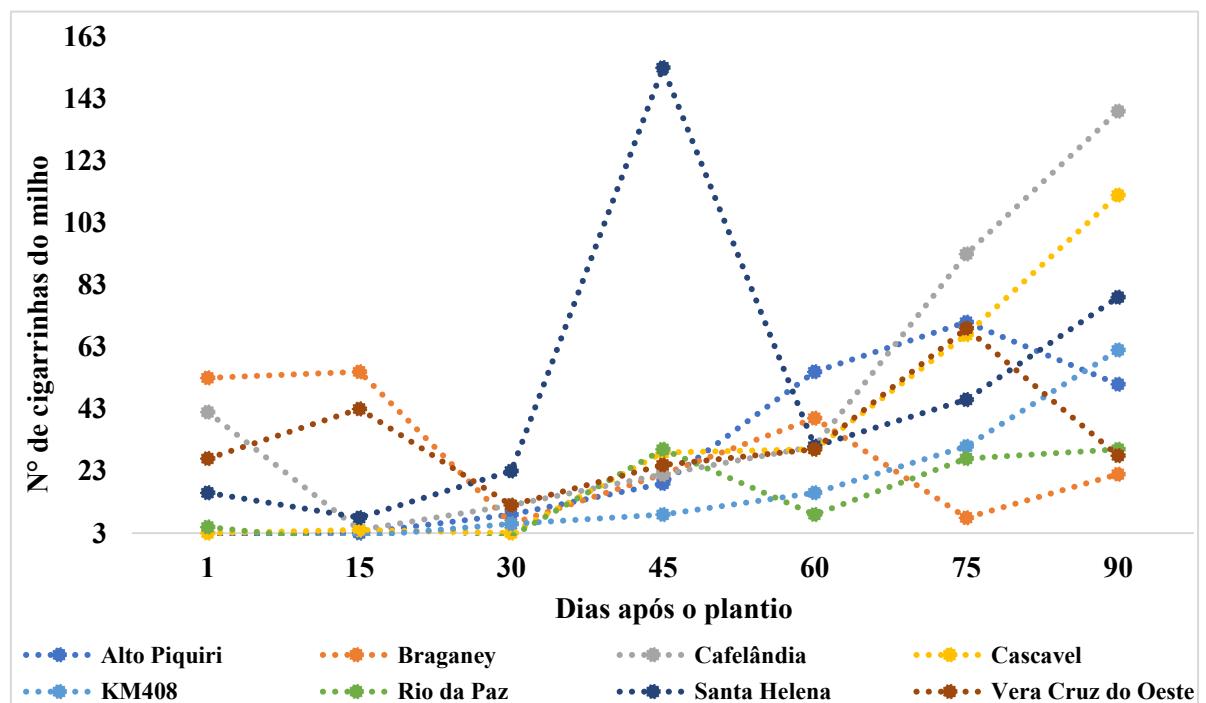
**Figura 2.** Número médio de adultos de cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) capturados em armadilhas amarelas em diferentes municípios do Oeste do Paraná na primeira e segunda safra. Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre épocas (primeira e segunda safra) dentro de cada município, enquanto letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre municípios dentro de cada época (modelo linear generalizado – GLM, família Poisson, comparações por EMMeans com ajuste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

\* indica que o município foi avaliado apenas em uma das duas safras.

Uma tendência de aumento progressivo na infestação da cigarrinha foi observada ao longo das avaliações na primeira safra, sendo os maiores valores totais registrados na última coleta na maioria das localidades (Figura 2). As maiores médias de infestação foram registradas em Santa Helena ( $50,9 \pm 7,4$ ) e Cafelândia ( $49,0 \pm 7,3$ ), que diferiram estatisticamente das demais localidades. Por outro lado, as menores médias foram observadas em Rio da Paz ( $14,7 \pm 4,0$ ) e Km408 ( $18,1 \pm 4,5$ ). Considerando-se apenas as médias dessas regiões extremas, verifica-se que a infestação de cigarrinhas em Santa Helena e Cafelândia foi aproximadamente três vezes superior à observada em Rio da Paz e Km408 (Figura 2).

Na localidade de Santa Helena na primeira safra (Figura 3), foi registrado um pico de infestação de cigarrinha do milho aos 45 dias após o transplantio, padrão que divergiu do observado nas demais regiões avaliadas. Embora não haja uma explicação para esse comportamento, é possível que fatores como falhas ou escapes no manejo regional na área tenham contribuído para o aumento pontual na infestação do inseto vetor.

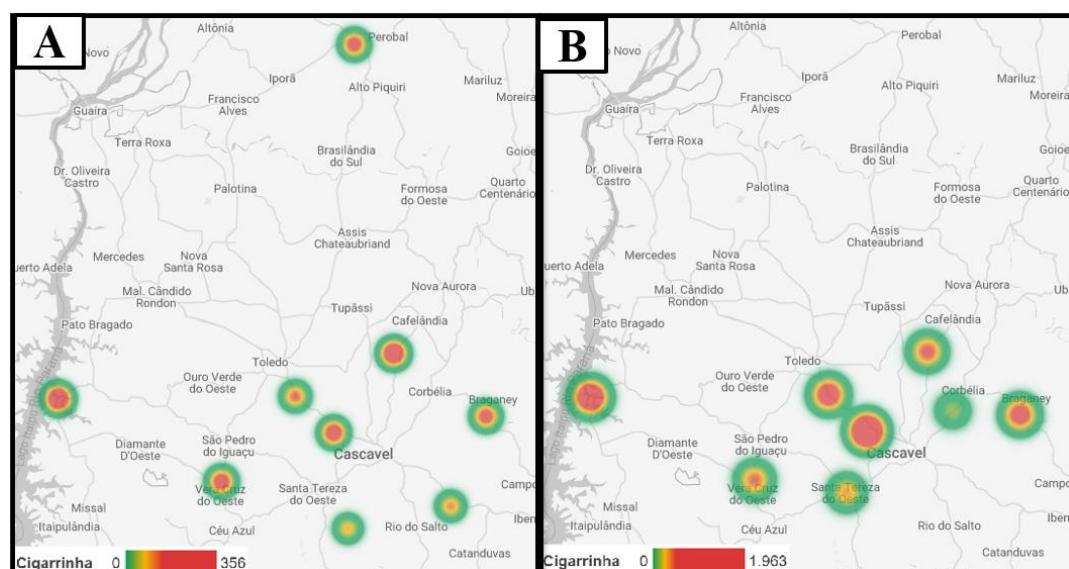
Na primeira safra, os maiores valores totais de adultos capturados ao longo do ciclo da cultura foram registrados nos municípios de Santa Helena (356 indivíduos) e Cafelândia (343 indivíduos), indicando elevada infestação do vetor nessas regiões. Em contrapartida, os menores totais foram observados no município de Rio da Paz (103 indivíduos), o que sugere baixa infestação do inseto nesse local durante o período avaliado (Figura 4 A).



**Figura 3.** Evolução temporal do número de cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) em diferentes municípios do Oeste do Paraná durante a primeira safra.

Na segunda safra, também foram observadas variações significativas na infestação da cigarrinha do milho entre os municípios monitorados. A soma total de indivíduos capturados ao longo do ciclo da cultura revelou maiores infestações nos municípios de Cascavel (1.963 indivíduos) e Santa Helena (1.258 indivíduos), ambos se destacando em relação às demais localidades. Em contraste, o município de Corbélia apresentou baixa infestação, com apenas 212 indivíduos capturados, indicando reduzida pressão do vetor nessa região (Figura 4 B).

Com base nos dados de infestação obtidos nas duas safras, foram elaborados mapas de calor por meio da plataforma Looker Studio, possibilitando a visualização espacial da distribuição da cigarrinha do milho entre os diferentes municípios e épocas de cultivo (Figura 4 A e B).



**Figura 4.** Mapa de calor gerado na plataforma Looker Studio, representando o número médio de cigarrinhas do milho (*Dalbulus maidis*) capturadas por armadilha amarela em diferentes municípios do Oeste do Paraná, durante as épocas de cultivo de primeira (A) e de segunda safra (B). O contorno verde indica a localização geográfica, e a intensidade da coloração (verde ao vermelho) reflete a concentração do inseto vetor, com base nos dados obtidos por meio do monitoramento em campo.

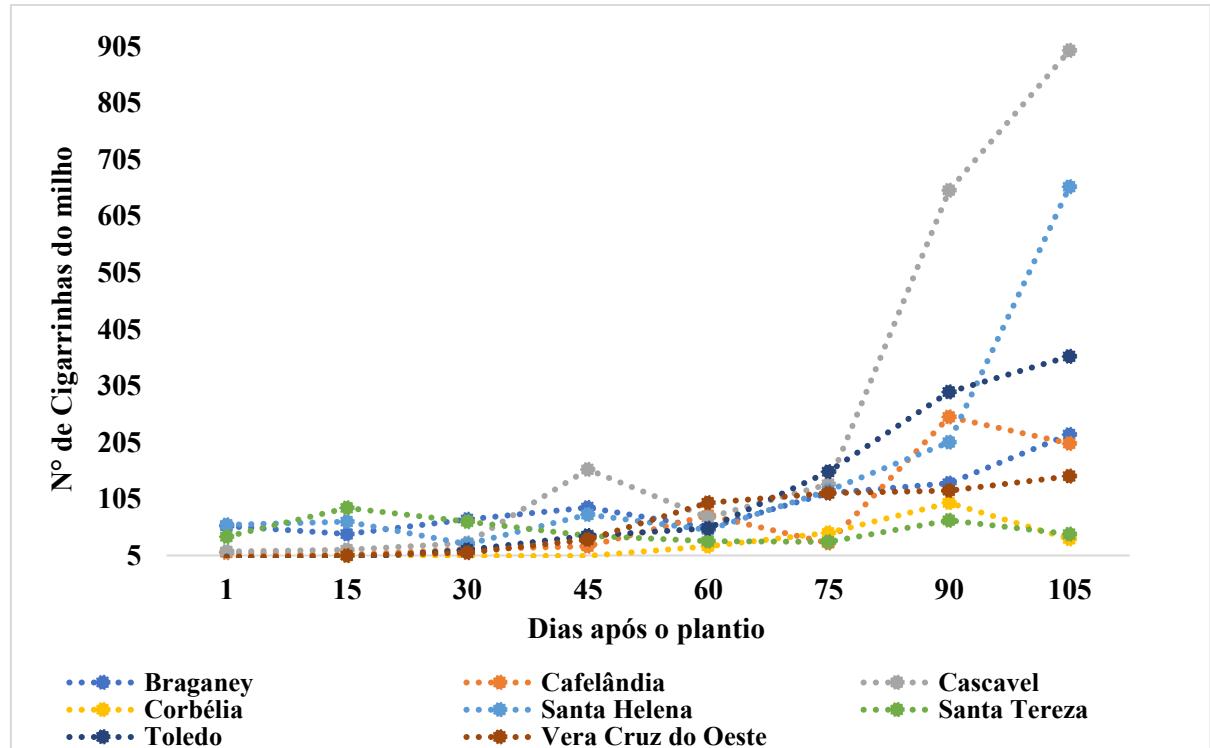
Uma tendência semelhante à observada na segunda safra foi registrada ao longo do

ciclo, com aumento progressivo na infestação e pico na última avaliação (Figura 5). A maior média de infestação foi observada em Cascavel ( $245,4 \pm 15,1$ ), valor estatisticamente superior ao das demais regiões (Figura 2). Por outro lado, Corbélia apresentou a menor média ( $26,5 \pm 5,0$ ), correspondendo a uma infestação aproximadamente nove vezes inferior à verificada em Cascavel (Figura 2). Essa variação espacial da infestação do vetor pode estar relacionada a diferentes fatores, como as condições meteorológicas locais, uma vez que microclimas com maior umidade relativa do ar são considerados desfavoráveis ao desenvolvimento da cigarrinha do milho, conforme relatado por Meneses et al., 2016.

Conforme relatado por Santana et al., (2019) a temperatura desempenha papel determinante nas projeções da distribuição espacial da cigarrinha do milho, sendo responsável por 86,1% da variação explicada no modelo de *D. maidis* (importância de permutação). Em consonância, estudos prévios sugerem que a espécie apresenta maior afinidade por ambientes com invernos relativamente quentes, precipitação anual moderada a baixa e estações de chuva e seca bem definidas. De acordo com Van Nieuwenhove et al., (2016), a faixa ótima de temperatura para a cigarrinha do milho situa-se entre 20 e 30 °C, o que contribui para explicar o aumento das infestações da praga.

Além disso, mudanças no sistema de produção de milho no Brasil ao longo das últimas décadas, como a expansão de áreas irrigadas, têm proporcionado aos agricultores o cultivo sucessivo de milho ao longo do ano onde favorece o aumento da infestação do vetor, uma vez que seus hospedeiros permanecem continuamente disponíveis, proporcionando condições para sua sobrevivência, permanência e multiplicação em ambientes favoráveis durante todo o ciclo anual (FORESTI et al., 2022). Portanto, a irrigação possibilita a manutenção de plantas hospedeiras mesmo em períodos de escassez hídrica, favorecendo a continuidade do ciclo biológico do inseto (FORESTI et al., 2022).

A presença de plantas abrigo, como gramíneas e espécies vegetais espontâneas ou cultivadas no entorno das lavouras, representa um fator relevante por atuarem como fontes secundárias de alimento e abrigo para a cigarrinha do milho, além de potenciais reservatórios temporários dos fitopatógenos associados ao complexo de enfezamentos. Essas plantas contribuem para a manutenção do vetor durante a entressafra, elevando a pressão de inóculo entre os ciclos produtivos do milho (FORESTI et al., 2022).

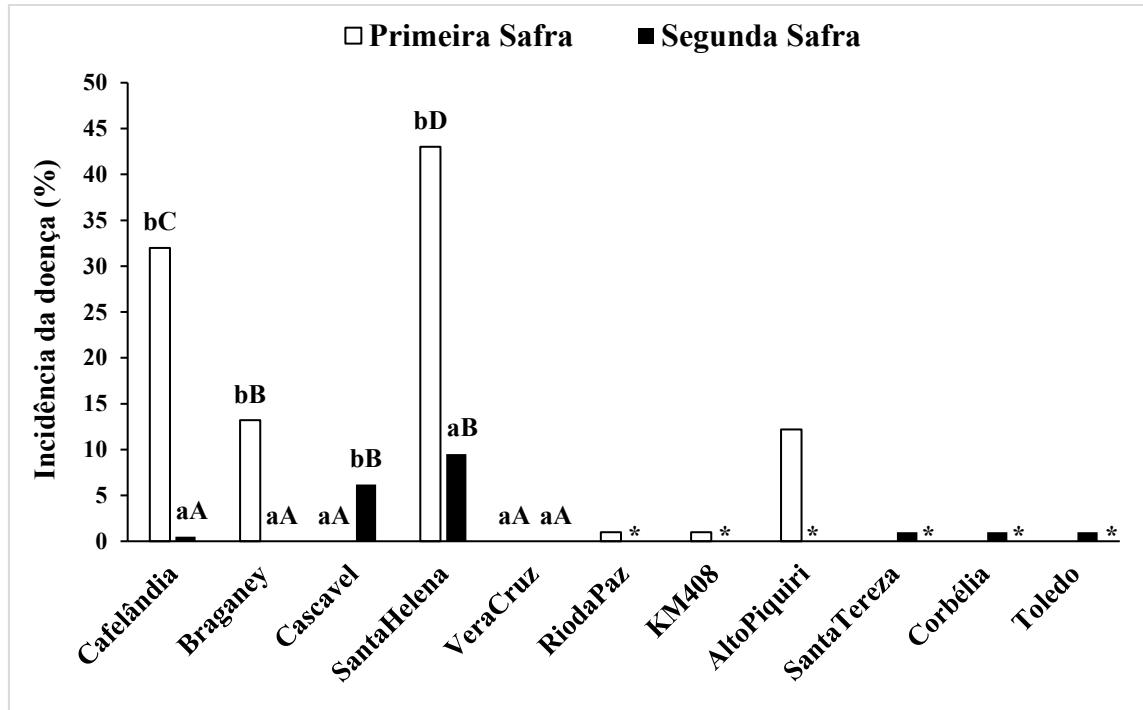


**Figura 5.** Evolução temporal do número de cigarrinhas do milho (*Dalbulus maidis*) em diferentes municípios do Oeste do Paraná durante a segunda safra.

Na primeira e segunda safra, foram realizadas avaliações de incidência aos 30, 60 e 90 dias após o plantio (DAP). No entanto, os dados referentes às avaliações realizadas aos 30 e 60 dias foram desconsiderados na análise final, por apresentarem incidência igual a zero ou muito baixa. Esse resultado pode estar relacionado à biologia dos patógenos envolvidos no complexo de enfezamentos, considerando-se o tempo necessário para a multiplicação do agente causal no interior da planta e a manifestação visual dos sintomas, que ocorre de forma mais evidente a partir dos estádios reprodutivos da cultura (OLIVEIRA et al., 2020; POZEBON et al., 2022).

Portanto, conforme os resultados de Oliveira et al. (2023) é fundamental evitar elevadas populações de cigarrinhas no cultivo de milho, especialmente durante os estádios vegetativos. O atraso nas medidas de controle do vetor, com consequente incremento populacional, pode resultar em perdas expressivas na produção do cereal em função das doenças associadas.

A incidência de complexo dos enfezamentos do milho apresentou variações expressivas entre as localidades avaliadas nas duas épocas de cultivo durante o ano agrícola de 2024/2025, na região Oeste do Paraná (Figura 6).



**Figura 6.** Porcentagem de plantas com sintomas característicos de enfezamento do milho em diferentes municípios do Oeste do Paraná na primeira e segunda safra. Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre épocas (primeira e segunda safra) dentro de cada município, enquanto letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre municípios dentro de cada época (modelo linear generalizado – GLM, família binomial, comparações por EMMeans com ajuste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

\* indica que o município foi avaliado apenas em uma das duas safras.

A maior incidência de sintomas de enfezamento em plantas de milho foi registrada na localidade de Santa Helena, com  $43,0 \pm 6,8\%$ , diferindo significativamente das demais regiões avaliadas. Nas localidades de Cascavel, KM408, Rio da Paz e Vera Cruz do Oeste, não foram observados sintomas da doença (Figura 6). É importante considerar que a área de Santa Helena, localizada às margens de um lago, apresentou condições ambientais favoráveis à proliferação do vetor e ao desenvolvimento da doença, destacando-se as temperaturas elevadas. Essa foi a única área com cultivo de milho de verão na região, o que pode ter favorecido o aumento da infestação de cigarrinha do milho. Em Cafelândia, as condições climáticas também se mostraram favoráveis, com temperaturas elevadas e chuvas regulares, propiciando o desenvolvimento dos patógenos e do vetor. Além disso, cabe ressaltar que Cafelândia foi a última região a iniciar o cultivo do milho, o que possivelmente favoreceu a

migração do vetor de áreas com cultivo mais tardio para áreas recém semeadas.

Na segunda safra, a incidência de enfezamento do milho foi menor em comparação à primeira safra. Apenas os municípios de Cafelândia, Cascavel e Santa Helena apresentaram plantas com sintomas da doença. Os maiores percentuais de plantas sintomáticas foram observados nos municípios de Santa Helena ( $9,5 \pm 4,0\%$ ) e Cascavel ( $6,2 \pm 3,3\%$ ), diferindo estatisticamente das demais regiões avaliadas, exceto Cafelândia, que apresentou uma incidência de  $0,5 \pm 0,9\%$ ; as demais localidades não apresentaram plantas sintomáticas (Figura 6).

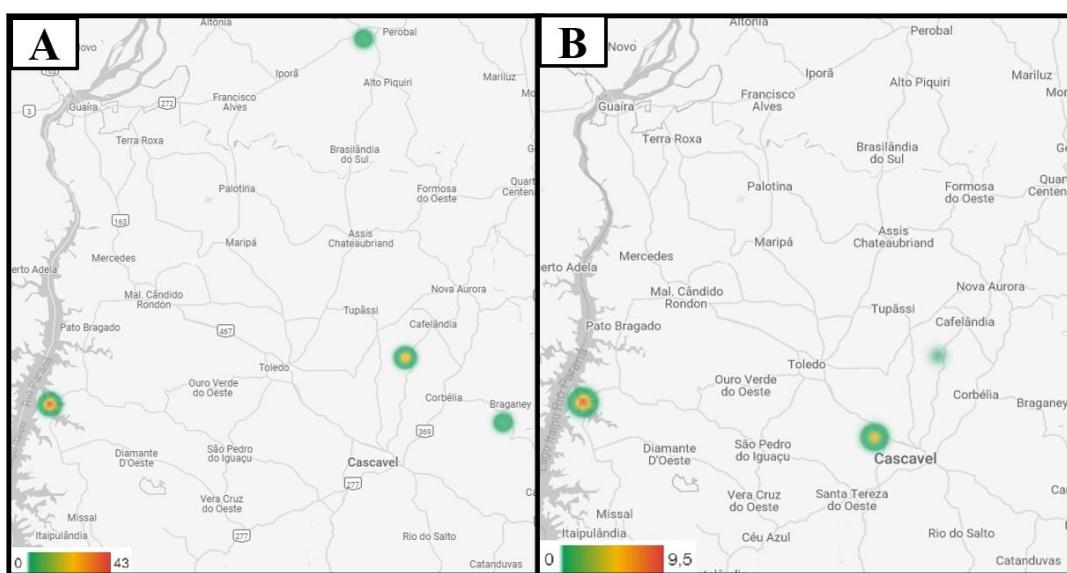
Ao analisar os dados de infestação da cigarrinha do milho no mesmo período (Figura 2), observou-se a maior média de indivíduos em Cascavel ( $245 \pm 15,1$ ), seguida por Santa Helena ( $157,2 \pm 12,1$ ), ambas significativamente superiores aos demais municípios (Figura 2). Embora não haja uma relação direta entre a infestação de cigarrinhas e a incidência do complexo de enfezamento do milho, conforme também relatado por Oliveira et al. (2023), a permanência prolongada das plantas no campo pode favorecer o aumento da população do vetor, que encontra condições ambientais propícias, como temperatura adequada e disponibilidade contínua de hospedeiros, elevando a probabilidade de aquisição e transmissão dos patógenos (MENESES et al., 2016; SABATO et al., 2018). Esse cenário pode estar relacionado a variações climáticas e a práticas de manejo na segunda safra, que influenciam diretamente a sobrevivência, dispersão e incidência da doença (SABATO et al., 2018; SANTANA et al., 2019). De acordo com os dados observados por Istchuk (2025), a frequência e a severidade dos sintomas de enfezamento nas plantas não apresentam relação direta com o número de cigarrinhas coletadas ao longo do ciclo da cultura. Além disso, a incidência e a gravidade do complexo de enfezamento do milho demonstram variabilidade entre diferentes safras, refletindo a influência de fatores ambientais e agronômicos sobre a dinâmica da doença.

Na segunda safra, cuja semeadura ocorreu entre o final de janeiro e meados de fevereiro de 2025, houve maior investimento em práticas de manejo preventivo. Os produtores priorizaram a utilização de híbridos com maior tolerância ao complexo de enfezamentos, realizaram o tratamento de sementes com inseticidas e fungicidas e adotaram esquemas calendarizados de aplicação de defensivos. Em média, foram realizadas de duas a três aplicações de fungicidas e inseticidas, sendo que em áreas com maior pressão de cigarrinha do milho foram registradas até cinco aplicações de inseticidas (Lannate® BR CI e Connect) e uma aplicação de produto biológico (Beauveria SR) com ação inseticida. Aproximadamente 70% dos produtores acompanhados no projeto adotaram esse pacote de

manejo integrado, o que resultou em lavouras visualmente sadias. Mesmo com a captura expressiva de vetores nas armadilhas, não foram observados sintomas típicos do complexo de enfezamentos do milho, como cloroses, avermelhamentos, encurtamento de entrenós ou nanismo.

A elevada infestação da cigarrinha do milho registrada nas áreas monitoradas reforça a importância da continuidade do monitoramento e da manutenção de estratégias de manejo preventivo, mesmo em safras consideradas com baixa pressão de insetos vetores (AVILA et al., 2022; GONZATTO et al., 2023). Entretanto, a ausência de sintomas não deve ser interpretada como ausência de risco epidemiológico (OLIVEIRA et al., 2003).

Esses dados foram representados em mapas de calor, referentes à primeira e à segunda safra, permitindo uma análise comparativa da distribuição espacial da intensidade de incidência do complexo de enfezamentos do milho entre as duas épocas nas áreas monitoradas (Figura 7 A e B).



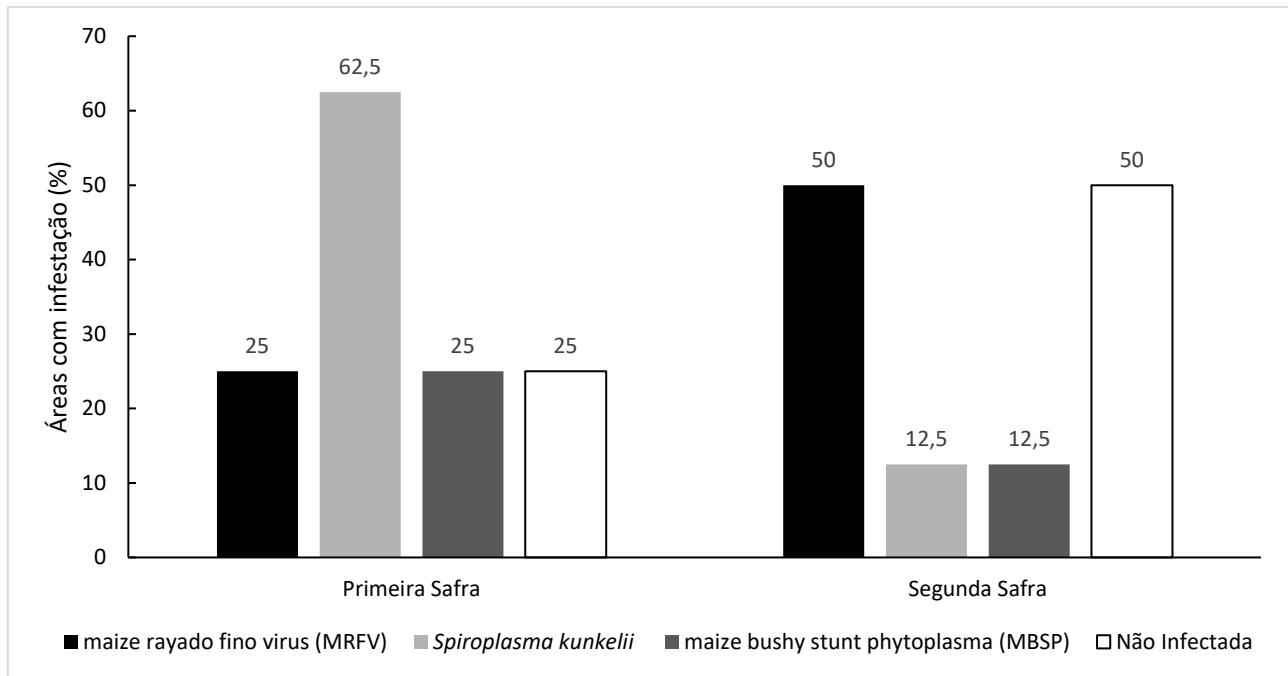
**Figura 7.** Mapas de calor gerados na plataforma Looker Studio, representando a intensidade da incidência do complexo do enfezamento do milho em diferentes municípios do Oeste do Paraná, durante a primeira (A) e segunda safra (B). O contorno verde indica a localização geográfica e a intensidade da coloração (verde ao vermelho) reflete a quantidade de plantas sintomáticas.

Além da avaliação visual dos sintomas, foi realizada a detecção molecular dos patógenos associados ao complexo de enfezamentos do milho em amostras compostas por folhas e insetos coletados nas áreas monitoradas. Na primeira safra, a ausência de plantas

sintomáticas em cinco das oito localidades avaliadas impossibilitou o envio de amostras vegetais, sendo necessário encaminhar exclusivamente insetos adultos para análise. Ressalta-se que, na localidade de Santa Helena, as amostras foliares coletadas não se mantiveram viáveis durante o transporte, exigindo que a análise fosse realizada a partir dos insetos. Somente nas localidades de Braganey e Alto Piquiri, nas quais foi possível enviar amostras foliares, constatou-se a presença do patógeno *S. kunkelii*.

Durante as duas épocas de cultivo avaliadas, observou-se variação na frequência de detecção molecular dos patógenos associados ao complexo de enfezamentos do milho (Figura 8). Na primeira safra, o *S. kunkelii* foi o patógeno mais frequentemente detectado, com ocorrência em cinco localidades: Cafelândia, Cascavel, KM408, Santa Helena e Alto Piquiri. Dentre essas, nas localidades de KM408 e Santa Helena foram identificadas detecções simultâneas de dois patógenos: *S. kunkelii* e MBSP em KM408, e *S. kunkelii* e MRFV em Santa Helena. O MRFV foi identificado isoladamente em Rio da Paz e em associação com o MBSP na mesma localidade. Por outro lado, nas localidades de Braganey e Vera Cruz do Oeste, todas as amostras analisadas apresentaram resultado negativo para os patógenos avaliados (Figura 8).

Na segunda safra, todas as amostras analisadas foram compostas exclusivamente por insetos coletados em campo. O MRFV apresentou a maior frequência de detecção, sendo identificado em quatro das oito localidades avaliadas: Braganey, Santa Tereza do Oeste, Santa Helena e Toledo. A detecção simultânea de MRFV, *S. kunkelii* e MBSP foi observada apenas na localidade de Santa Tereza do Oeste. Nas demais localidades (Corbélia, Cascavel, Cafelândia e Vera Cruz do Oeste) todas as amostras analisadas apresentaram resultado negativo para os patógenos avaliados (Figura 8).



**Figura 8.** Porcentagem de áreas com detecção molecular de maize rayado fino virus (MRFV), *Spiroplasma kunkelii* e maize bushy stunt phytoplasma (MBSP) em amostras vegetais e de insetos coletados durante a primeira e a segunda safra, em diferentes municípios do Oeste do Paraná. Os valores representam a frequência de detecção por localidade, com base nos resultados obtidos por meio de diagnóstico molecular. A primeira safra, foram analisadas amostras de insetos provenientes de seis localidades e amostras foliares de duas localidades (Braganey e Alto Piquiri). Na segunda safra, todas as amostras analisadas foram compostas exclusivamente por insetos.

Esses resultados corroboram o trabalho de (COTA et al., 2020), que também identificaram o *S. kunkelii* como o agente causal predominante nas amostras de folhas coletadas durante a safrinha de 2019 no estado do Paraná, com ausência de detecção de MBSP em localidades de baixa altitude. Ainda segundo Cota et al. (2020), em 50% das amostras analisadas não foi detectada a presença de fitoplasmas ou espiroplasmas, o que reforça a necessidade do uso de métodos moleculares sensíveis e complementares para diagnóstico da doença. Os resultados do presente trabalho também apresentam consonância com os achados de Toloy et al. (2024), os quais evidenciaram a dinâmica temporal da doença do enfezamento do milho e a infecção natural por *S. kunkelii* em hospedeiros alternativos no bioma Cerrado, destacando a complexidade envolvida na persistência e dispersão do patógeno em condições de campo.

Adicionalmente, os resultados desse trabalho corroboram com as conclusões de Oliveira et al. (2023), que indicam que a incidência das doenças não se relaciona exclusivamente à abundância do vetor *D. maidis*, mas também à eficiência na aquisição e transmissão dos patógenos, à suscetibilidade dos híbridos cultivados e ao momento da infecção. Conforme discutido por (OLIVEIRA et al., 2023; 2022) a exposição das plantas a um maior número de insetos vetores pode incrementar a probabilidade de transmissão; entretanto, condições ambientais menos favoráveis durante a segunda safra decorrentes de variações climáticas e manejos diferenciados também podem modular a dispersão dos vetores e patógenos.

Ademais, a distribuição desuniforme dos molicutes nos tecidos vegetais, relacionada à idade da planta no momento da infecção, pode limitar a detecção dos patógenos nas amostras vegetais, o que reforça a necessidade da integração entre o monitoramento do vetor, a observação dos sintomas em campo e a análise molecular dos patógenos, conforme apontado por Oliveira et al. (2020). Essa abordagem integrada permite compreender a complexa interação entre patógeno, vetor, planta e ambiente, facilitando o direcionamento de estratégias de manejo mais eficazes para a cultura do milho.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos evidenciam que todas as áreas avaliadas apresentaram níveis expressivos de infestação pela cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*), com maior intensidade observada na segunda safra. Verificou-se uma tendência de incremento progressivo da infestação do vetor ao longo das coletas, culminando nos maiores valores na última avaliação. A ocorrência de sobreposição entre as safras, observada em algumas áreas, possivelmente favoreceu o aumento das infestações do inseto, atuando como fator de continuidade para o ciclo do vetor e, consequentemente, para a disseminação dos patógenos associados. No entanto, a presença do inseto não se refletiu proporcionalmente na incidência da doença, uma vez que nem todas as localidades com alta infestação apresentaram plantas sintomáticas. A maior frequência de sintomas de enfezamento foi registrada na primeira safra, indicando que fatores epidemiológicos adicionais, como condições ambientais e suscetibilidade dos híbridos, podem influenciar a manifestação da doença.

A detecção molecular confirmou a presença dos três patógenos associados ao complexo de enfezamentos do milho em ambas as safras, com predominância de *S. kunkelii* na primeira e de MRFV na segunda safra.

Como medidas de manejo, recomenda-se a eliminação de plantas tigueras, a utilização de híbridos tolerantes, a adoção de semeadura concentrada para evitar o plantio escalonado e o uso de produtos biológicos voltados ao controle de ninfas. Tais práticas podem contribuir para a redução da pressão de inóculo e da população do vetor, minimizando o impacto do complexo de enfezamentos sobre a cultura do milho.

## REFERÊNCIA

AGRESTI A; KATERI M. **Categorical data analysis**. Heidelberg: Springer, Berlin, Heidelberg, 2025.

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, n. 3, p. 535–544, 1986.

ALVES, A. P. *et al.* **Guia de boas práticas Para o manejo dos enfezamentos e da cigarrinha-do-milho**. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1129511>>. Acesso em: 30 ago. 2025.

AVILA C *et al.* **Documentos 149: Cigarrinha-do-milho: desafios ao manejo de enfezamentos e viroses na cultura do milho**. Dourados/MS: [S.n.].

BRADFUTE O. E; TSAI J. H; GORDON D.T. Corn Stunt Spiroplasma and Viruses Associated with a Maize Disease Epidemic in Southern Florida. **Plant Disease**, v. 65, n. 10, p. 837–841, 1981.

COTA, L. *et al.* **Boletim 204: Detecção de Patógenos Causadores de Enfezamentos no Estado do Paraná na Safrinha 2019**Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas: [S.n.]. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1121325>>. Acesso em: 2 set. 2025.

DAVIS, R. E.; WORLEY, J. F. SPIROPLASMA Motile, helical microorganism associated with corn stunt disease. **Phytopathology**, v. 63, n. 3, p. 403–408, 1973.

DOBSON, A. J.; BARNETT, A. G. **An introduction to generalized linear models**. 4th Edition ed. New York: [S.n.].

DOWSWELL, C. R.; PALIWAL, R. L.; CANTRELL, R. P. **Maize In The Third World**. 1st ed. ed. [S.l.]: CRC Press, 2019.

DOYLE, Jeffrey. DNA protocols for plants: CTAB total DNA isolation. **Molecular Techniques in Taxonomy**, v. 57, p. 283–293, 1991.

FORESTI, Josemar *et al.* Spatial-temporal distribution of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and factors affecting its abundance in Brazil corn. **Pest Management Science**, v. 78, n. 6, p. 2196–2203, 1 jun. 2022.

GALVÃO, Sarah R.; SABATO, E. O.; BEDENDO, Ivan P. Occurrence and distribution of single or mixed infection of phytoplasma and spiroplasma causing corn stunting in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 46, n. 2, p. 152–155, 1 abr. 2021.

GÁMEZ, R. A new leafhopper-borne virus of Corn in Central America. **Plant Disease Reporter**, v. 53, n. 12, p. 929–932, 1969.

GÁMEZ, R. Transmission of rayado fino virus of maize (*Zea mays*) by *Dalbulus maidis*.

**Annals of Applied Biology**, v. 73, n. 3, p. 285–292, 1973.

GONZATTO, F. *et al.* Maneja da cigarrinha- do- milho *Dalbulus maidis*. **Revista Inovação**, v. 2, p. 144–168, 2023.

GOOGLE EARTH. **Google Earth**. Disponível em: <<https://www.google.com.br/earth/index.html>>. Acesso em: 30 jun. 2025.

GOOGLE LOOKER STUDIO. **Looker Studio**. Disponível em: <<https://lookerstudio.google.com/navigation/reporting>>. Acesso em: 30 jun. 2025.

GUIMARÃES, L. J. M. **Artigo: Dia Nacional do Milho - A Importância do Milho para o Agronegócio Brasileiro**. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/89583335/artigo-dia-nacional-do-milho---a-importancia-do-milho-para-o-agronegocio-brasileiro>>. Acesso em: 4 set. 2025.

HARRISON, N. A. *et al.* PCR Assay for detection of the Phytoplasma associated with maize bushy stund disease. v. 80, n. 3, p. 263–269, 1996.

HRUSKA, A. J.; GLADSTONE, S. M.; OBANDO, R. Epidemic Roller Coaster: Maize Stunt Disease in Nicaragua. **American Entomologist**, v. 42, n. 4, p. 248–252, 1996.

IBGE. **Produção de Milho em grão no Brasil | IBGE**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/milho-em-grao/br>>. Acesso em: 23 nov. 2025.

ISTCHUK, A. N. **População de *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) e severidade do complexo de enfezamento em função de doses de nitrogênio e potássio em milho**. Marechal Cândido Rondon/PR: UNIOESTE, 2025.

KUNKEL, L. O. Studies on a New Corn Virus Disease. **Archiv fur die gesamte Virusforschung**, v. 4, n. 1, p. 24–46, 1948.

LEE, I. M. *et al.* Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of Mycoplasmalike organisms. **Phytopathology**, v. 83, n. 8, p. 834–842, 1993.

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

MOYA-RAYGOZA, G.; NAULT, L. R. Transmission biology of maize bushy stunt phytoplasma by the corn leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 91, n. 5, p. 668–676, set. 1998.

NAULT, L. R. Evolution of an insect pest: maize and the corn leafhopper, a case study. **Maydica**, v. 35, n. 2, p. 165–175, 1990.

NAULT, L. R.; DESOUKY A, El. Leafhopper and Planthopper transmission of plant viruses. v. 34, n. 1, p. 503–529, 1989.

NAULT, Lowell R. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annals Entomological Society of America*, v. 90, n. 5, p. 521–541, 1997.

NAULT, LR. Maize Bushy and corn stunt A comparison of diseases symptoms, pathogen host ranges and vectors. *Phytopathology*, v. 70, n. 7, p. 659–662, 1980.

OLIVEIRA, C. M. *et al.* Disseminação de molicutes do milho a longas distâncias por *Dalbulus maidis* (hemiptera: Cicadellidae). *Fitopatologia Brasileira*, v. 27, n. 1, p. 091–095, 2002a.

OLIVEIRA, C. M.; FRIZZAS, M. R.; OLIVEIRA, E. Overwintering plants for *Dalbulus maidis* (DeLong and Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) adults during the maize off-season in central Brazil. *Journal of Tropical Insect Science*, v. 40, n. 4, p. 1105–1111, 2020.

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

OLIVEIRA, C. M.; OLIVEIRA, E. S.; BARROS, B. A. Natural infectivity of *Dalbulus maidis* populations and incidence of corn stunt and virus diseases in maize over time. *Tropical Plant Pathology*, v. 48, n. 5, p. 575–580, 1 out. 2023.

OLIVEIRA, C. M.; SABATO, E. O. **DOENÇAS EM MILHO Insetos-vetores, molicutes e vírus.** Embrapa ed. Sete Lagoas/MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2018. v. 1

OLIVEIRA CM; FRIZZAS MR. **Eight Decades of *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera, Cicadellidae) in Brazil: What We Know and What We Need to Know.** *Neotropical Entomology* Springer, , 1 fev. 2022.

OLIVEIRA, E. *et al.* “Enfezamento Pálido” e “Enfezamento Vermelho” na cultura do milho no Brasil central. *Fitopatologia Brasileira*, v. 23, n. 1, p. 44–47, 1998.

OLIVEIRA, E. *et al.* Spiroplasma and phytoplasma infection reduce kernel production, and Nutrient and water contents of several but not all maize cultivars. *Maydica*, v. 50, n. 2, p. 171–178, 2005.

OLIVEIRA, E. D. *et al.* Enfezamentos em milho: expressão de sintomas foliares, detecção dos molicutes e interações com genótipos. *Rev. Bras. de Milho e Sorgo*, v. 1, n. 1, p. 53–62, 2002b.

OLIVEIRA, E. D. *et al.* Incidência de viroses e enfezamentos e estimativa de perdas causadas por molicutes em milho no Paraná (1). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, n. 1, p. 19–25, 2003.

OLIVERIA, E. *et al.* Abundance of the insect vector of two different Mollicutes plant pathogens in the vegetative maize cycle. *Phytopathogenic Mollicutes*, v. 5, n. 1s, p. S117–S118, 2015.

PANIAGUA, R.; GÁMEZ, RODRIGO. El virus del rayado fino del maíz estudios adicionales

sobre la relación del virus y su insecto vector. **Turrialba**, v. 26, n. 1, 1976.

POZEBON, H.; STÜRMER, G. R.; ARNEMANN, J. A. **Corn Stunt Pathosystem and Its Leafhopper Vector in Brazil. Journal of Economic Entomology** Oxford University Press, , 1 dez. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jee/toac147>>. Acesso em: 30 ago. 2025

R: THE R PROJECT FOR STATISTICAL. **R: The R Project for Statistical Computing**. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 4 jul. 2025.

**SABATO, E. O. Comunicado Técnico 226: Manejo do Risco de Enfezamentos e da Cigarrinha do Milho.** Sete Lagoas, MG: [S.n.].

**SABATO, E. O.; KARAM, D.; OLIVEIRA, C. M. Boletim de Pesquisa e desenvolvimento 175: Sobrevida da Cigarrinha *Dalbulus maidis* (Hemiptera Cicadellidae) em Espécies de Plantas da Família PoaceaeEmbrapa Milho e Sorgo.** Sete Lagoas/MG: [S.n.]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes>>.

SANTANA, P. A. *et al.* Assessing the impact of climate change on the worldwide distribution of *Dalbulus maidis* (DeLong) using MaxEnt. **Pest management science**, v. 75, n. 10, p. 2706–2715, 1 out. 2019.

**SILVA, D. D. et al. Cartilha Protocolos para experimentação, identificação, coleta e envio de amostras da cigarrinha *Dalbulus maidis* e de plantas com enfezamentos em milho.** Sete Lagoas/MG: [S.n.].

TOFFANELLI, C. M.; BEDENDO, I. P. Efeito da população inefetiva de *Dalbulus maidis* na produção de grãos e no desenvolvimento de sintomas do enfezamento vermelho do milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 082–086, 2002.

TOLOY, Rodrigo S. *et al.* Exploring Natural Infection in Alternative Hosts of Corn Stunt Spiroplasma and Tracking the Temporal Dynamics of Corn Stunt Disease in the Brazilian Cerrado Biome. **Agronomy**, v. 14, n. 10, p. 2341, 1 out. 2024.

**TRIPLEHORN, B. W.; NAULT, L. R. Phylogenetic Classification of the Genus *Dalbulus* (Homoptera: Cicadellidae), and Notes on the Phylogeny of the Macrostelini. Annals of the Entomological Society of America**, v. 78, n. 3, p. 291–315, 1 maio 1985.

**USDA. United States Department of Agriculture, Production - Corn.** Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/production/commodity/0440000>>. Acesso em: 8 set. 2025.

VAN NIEUWENHOVE, G. A.; FRÍAS, E. A.; VIRLA, E. G. Effects of temperature on the development, performance and fitness of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong)(Hemiptera: Cicadellidae): implications on its distribution under climate change. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 18, n. 1, p. 1–10, 1 fev. 2016.

VILANOVA, Euclides S. *et al.* First Report of a Mastrevirus (Geminiviridae) Transmitted by the Corn Leafhopper. **Plant Disease**, v. 106, n. 5, p. 1330–1333, 1 maio 2022.

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

**Protection**, v. 29, n. 6, p. 635–638, jun. 2010.

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

WHITCOMB, T. F. *et al.* Spiroplasma kunkelii sp. nov.: Characterization of the Etiological Agent of Corn Stunt Disease. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY**, v. 36, n. 2, p. 170–178, abr. 1986.