



**CARLA APARECIDA CARVALHO ANTONIO**

**O USO DO PRODUTO BIO-IMUNE® NA RESISTÊNCIA  
DE PLANTAS DE MILHO (*Zea mays* L.) CONTRA  
INSETOS-PRAGA**

**LAVRAS - MG  
2021**

**CARLA APARECIDA CARVALHO ANTONIO**

**O USO DO PRODUTO BIO-IMUNE® NA RESISTÊNCIA DE PLANTAS DE  
MILHO (*Zea mays* L.) CONTRA INSETOS-PRAGA**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

Ms. Patrícia Pereira

**Coorientadora**

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Fernanda G. V. Peñaflores

**Orientadora**

**LAVRAS - MG  
2021**

**CARLA APARECIDA CARVALHO ANTONIO**

**O USO DO PRODUTO BIO-IMUNE® NA RESISTÊNCIA DE PLANTAS DE  
MILHO (*Zea mays* L.) CONTRA INSETOS-PRAGA**

**USE OF THE BIO-IMUNE® PRODUCT IN THE RESISTANCE OF CORN  
CROP (*Zea mays* L.) AGAINST PEST INSECTS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 17 de novembro de 2021.

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Fernanda G. V. Peñaflores UFLA

Patrícia Pereira UFLA

Lívia Aparecida de Souza UFLA

Lara Sales UFLA

**LAVRAS - MG  
2021**

“Fia, se suncê precisa é só pensar no vovô que ele vem te ajudar”

Ao meu amado Vô Bento, dedico.

À Deus, pela minha vida, e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo do curso.

À professora Dra. Maria Fernanda G. V. Peñaflores, por ter sido minha orientadora e ter desempenhado tal função com dedicação e amizade.

À Lara, Marina, Livia e Patricia que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

A todos do laboratório de Ecologia Química das Interações inseto-planta, pela amizade e pela troca de experiências que me permitiram crescer não só como pessoa, mas também como formanda.

À minha mãe e meus avós Vicentina e Sebastião (em memória), que sempre estiveram ao meu lado, que me incentivaram nos momentos difíceis, que muito contribuíram para minha educação e a realização deste trabalho.

Ao meu pai e minhas irmãs pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Ao José Guilherme pelo apoio, carinho, paciência e por todo o companheirismo ao longo deste percurso.

Agradeço à minha ancestralidade, e a todas as mulheres que vieram antes de mim.

## **GRATIDÃO.**

## RESUMO

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e o pulgão do milho, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae) são importantes pragas da cultura do milho, ocasionando sérios prejuízos às lavouras. O controle destas pragas vem sendo cada vez mais difícil e trazem muitas preocupações aos produtores. Em meio a esse desafio, o uso constante de inseticidas é utilizado buscando minimizar as perdas nas lavouras, porém, ocasionando resistência aos insetos, além de grandes impactos ambientais. Uma das estratégias viáveis e promissoras para o controle de pragas agrícolas, tem sido o uso do controle biológico por meio de produtos microbiológicos. O produto Bio-Imune® (cepa *Bacillus subtilis* BV – 02) da empresa Biovalens Biotecnologia, tem sido uma alternativa eficiente utilizada na resistência na planta de milho contra patógenos. Desta maneira, é possível que as vias de sinalização da resistência ativadas pela colonização de *B. subtilis* atuem também contra insetos pragas. Neste trabalho, foi observado a indução de resistência de plantas de milho tratadas com o produto Bio-imune® contra *S. frugiperda* e *R. maidis*. Foi avaliado a mortalidade e ganho de peso de lagartas *S. frugiperda* neonatas e de 3º instar, em dois ensaios sem chance de escolha. Já para o pulgão, foi avaliado o crescimento colonial nas plantas tratadas com Bio-imune® e controle. Também foi avaliado características fitotécnicas das plantas de milho. Houve maior mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* em plantas tratadas com Bio-imune®. Os afídeos tiveram melhor desempenho em plantas tratadas com Bio-imune®. Não houve diferença significativa para os testes de ganho de peso de lagartas de *S. frugiperda* e taxa de germinação. Já para os parâmetros fitotécnicos massa seca e altura, foram 1,25 e 1,6 vezes, respectivamente maiores em plantas tratadas com Bio-imune® em relação àquelas não tratadas.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho, Pulgão-do-milho, Controle biológico.

## ABSTRACT

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) and the corn aphid *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae) are important pests of the corn crop, causing serious damage to crops. The control of these pests has been increasingly difficult and brings many concerns to producers. In the midst of this challenge, the constant use of insecticides is used to minimize crop losses, however, causing resistance to insects, in addition to major environmental impacts. One of the viable and promising strategies for the control of agricultural pests has been the use of biological control through microbiological products. The Bio-Immune® product (strain *Bacillus subtilis* BV – 02) from the company Biovalens Biotecnologia has been an efficient alternative used in the resistance of maize plants against pathogens. Thus, it is possible that the resistance signaling pathways activated by the colonization of *B. subtilis* also act against pest insects. In this work, the induction of resistance of corn plants treated with the Bio-immune® product against *S. frugiperda* and *R. maidis* was observed. Mortality and weight gain of *S. frugiperda* neonata and 3rd instar caterpillars, in 3rd instar, was evaluated. two no-choice trials. As for the aphid, the colonial growth in plants treated with Bio-immune® and control was evaluated. Phytotechnical characteristics of maize plants were also evaluated. There was a higher mortality of *S. frugiperda* caterpillars in plants treated with Bio-immune®. Aphids performed better on Bio-immune® treated plants. There was no significant difference for the weight gain tests of *S. frugiperda* caterpillars and germination rate. As for the phytotechnical parameters, dry mass and height, they were 1.25 and 1.6 times, respectively, higher in plants treated with Bio-immune® compared to those not treated.

Keywords: Cartridge caterpillar, Corn aphid, Biological control.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Cultivo de plantas de milho .....	19
Figura 2 – Lagartas de <i>S. frugiperda</i> .....	21
Figura 3 – Planta tratada com Bio-imune® e planta não tratada .....	21
Figura 4 – Lagartas de <i>S. frugiperda</i> no colmo do milho .....	21
Figura 5 – Ganho de massa de lagartas de <i>S. frugiperda</i> .....	22
Figura 6 – Plântulas de milho.....	23
Figura 7 – Mortalidade de lagartas de <i>S. frugiperda</i> .....	25
Figura 8 – Ganho de massa de lagartas de <i>S. frugiperda</i> .....	26
Figura 9 – Desempenho de <i>R. maidis</i> .....	27
Figura 10 – Taxa de germinação .....	27
Figura 11 – Massa seca .....	28
Figura 12 – Altura da planta .....	29
Figura 13 – Temperaturas diárias, máximas e mínimas, no mês de junho de 2021 em Lavras – MG .....	31



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
2.1 Objetivo Geral .....	12
2.2 Objetivo Específico .....	12
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>13</b>
3.1 A cultura do milho .....	13
3.2 Pragas da cultura do milho .....	13
3.3 Mecanismos de defesa das plantas .....	15
3.4 O uso de bioestimulantes na defesa contra insetos praga .....	15
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
4.1 Cultivo das plantas .....	17
4.2 Criação de <i>R. maidis</i> .....	20
4.3 Criação de <i>S. frugiperda</i> .....	18
4.4 Tratamentos .....	21
4.5 Mortalidade de lagarta de 1º instar de <i>S. frugiperda</i> .....	22
4.6 Ganho de massa de lagartas de 3º instar de <i>S. frugiperda</i> .....	23
4.7 Desempenho biológico de <i>R. maidis</i> .....	23
4.8 Taxa de germinação, massa seca e altura da parte aérea .....	24
4.10 Análise estatística .....	25
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>26</b>
<b>6 DISCUSSÕES .....</b>	<b>30</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>34</b>
<b>8 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>35</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) se encontra entre os cereais mais cultivados mundialmente, sendo uma espécie amplamente estudada. Essa *commodity* tem bastante relevância na cadeia agroindustrial fornecedora de alimentos, gerando empregos e também como principal insumo para diversas demandas, como para os criadores de aves, suínos, bovinos e outros animais, compondo parcela majoritária das rações. Segundo a *United States Department of Agriculture* (USDA) (2020), sua importância para o mercado agrícola mundial tem levado a um crescimento da sua produção nos últimos anos, sendo que o Brasil ocupa o terceiro lugar.

A posição do Brasil nesse *ranking* se dá principalmente pelo uso de tecnologias que promoveram um aumento de 140% na produção e na ampliação de áreas de cultivo em 11,7% nos últimos 20 anos (CONAB, 2020). Entretanto, apesar desse panorama positivo, há uma elevada ocorrência de pragas na cultura do milho, onde se destaca a lagarta militar ou lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e o pulgão-do-milho *Rhopalosiphum maidis* (FITCH, 1856) (Homoptera: Aphididae).

A *S. frugiperda* é motivo de preocupação aos produtores em relação ao seu manejo, visto que causa diversos prejuízos econômicos em várias culturas. No milho, ela é classificada como a mais importante no continente americano inteiro (SILVA et al., 2010). A lagarta-do-cartucho danifica a lavoura entrando pela base da planta e alimentando-se do interior do colmo pouco desenvolvido, gerando o sintoma chamado de “coração morto”. Apesar do uso de técnicas recentes de controles para evitá-la, o que ainda predomina é o controle químico, gerando altos custos que passa de meio bilhão de dólares por ano (SOBER, 2010).

Outra praga frequente nessa cultura é o pulgão-do-milho (*R. maidis*). Esse afídeo, que antes era considerado praga secundária do milho, se tornou praga primária, afetando a cultura com bastante intensidade e frequência e se tornando um problema real para os produtores em diversas regiões do país, principalmente na região Sul do Brasil (COTRISOJA, 2007). Os danos gerados pelo pulgão-do-milho estão associados com a sucção contínua da seiva das plantas, que em períodos de estiagem demonstram sérias consequências, além de ser vetor de viroses, transmitindo o vírus do mosaico comum do milho. Geralmente, as populações desse pulgão são mantidas naturalmente controladas devido à existência de diversos inimigos naturais relacionados a esta praga,

contudo são usados também outras táticas de manejo, como o controle químico (PEREIRA et al., 2006).

Devido aos prejuízos que a lagarta-do-cartucho e o pulgão-do-milho têm causado na cultura do milho, diversos estudos acerca de como combater essas pragas de forma mais acessível, ecológica e eficiente vem sido intensificada. O uso de biopesticidas tem sido bastante incitado por ser uma possibilidade mais promissora do que os defensivos químicos (SANTOS, 2011). Um dos inseticidas biológicos de natureza microbiana recente é o Bio-imune® que faz uso da bactéria *Bacillus subtilis*.

Com isso, o objetivo desse trabalho foi analisar a resistência de plantas de milho, usando o produto Bio-imune® (cepa *B. subtilis* BV-02) da Biovalens Biotecnologia, contra insetos pragas que acarretam prejuízos graves na cultura, como a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda* e o pulgão-do-milho *R. maidis*. Assim, os resultados atingidos nesse trabalho poderão propiciar informações não só para a literatura, como também para o desenvolvimento de técnicas de manejo mais sustentáveis para a cultura do milho.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

O objetivo do trabalho foi avaliar a resistência das plantas de milho *Z. mays*, induzida pelo uso do produto Bio-Imune® (cepa *B. subtilis* BV-02) da empresa Biovalens Biotecnologia contra os insetos pragas *S. frugiperda* e o pulgão-do-milho *R. maidis* e os seus efeitos nas características fitotécnicas

### **2.2 Objetivos específicos**

- i) Verificar a taxa de mortalidade de lagartas *S. frugiperda* em plantas tratadas com Bio-imune® e não tratadas;
- ii) Avaliar o ganho de peso de lagartas *S. frugiperda* alimentadas com plantas tratadas com Bio-imune® e não tratadas;
- iii) Avaliar o desempenho biológico de pulgões *R. maidis* em plantas tratadas com Bio-imune® e não tratadas
- iv) Analisar a taxa de germinação, massa seca e altura da parte aérea de plantas tratadas com Bio-imune® e não tratadas.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 A cultura do milho

O milho pertence à família Poaceae, e atualmente é o cereal mais produzido em escala mundial, sendo que a produção estimada para 2020/21 é de 1,154 bilhão de toneladas (USDA, 2021). A área cultivada para esse ano, deverá ultrapassar os 250 milhões de hectares, apresentando um aumento significativo em relação a área cultivada no ano 2019/20 de 198 milhões de hectares (USDA, 2020). Basicamente essa alta produção de milho se concentra em três países: Estados Unidos, China e Brasil.

No Brasil, a produção vem apresentando um crescimento expressivo no decorrer dos anos, fazendo com que o país tenha estoque tanto para consumo interno como para a exportação do produto (SEAB, 2018). Dos estados que se destacam na produção dessa *commodity*, temos Mato Grosso, Paraná, Mato Grosso do Sul, Goiás e São Paulo, respectivamente (CONAB, 2020). Esse crescimento, de acordo com Nais (2019), é devido ao fato de o milho ser considerado uma das mais importantes culturas para as necessidades atuais de uma sociedade moderna, devido ao seu amplo uso como fornecedor de matéria-prima, biocombustível, insumo para alimentação humana e animal na forma de silagem.

Sua importância para o avanço qualitativo e quantitativo do consumo de alimento no Brasil e no mundo, acontece de acordo com as interações dos diversos elos da cadeia produtiva. Esses elos são formados pelos produtos rurais, os empreendedores e a grande competição na agroindústria (FANCELLI; DOURADO, 2018). Com isso, é importante frisar que essa cultura é de extrema importância para o setor agropecuário, pois é um dos principais insumos do complexo agroindustrial, por causa da sua grande aplicabilidade, assumindo um papel socioeconômico importante.

#### 3.2 Pragas da cultura do milho

As pragas que afetam a cultura do milho são classificadas em pragas de raízes, do colmo, das folhas e as da espiga, referindo-se ao local onde os danos acontecem na planta (GALLO et al., 2002). Dentre as pragas-chaves, estão presentes nessa cultura a lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda*), pulgão-do-milho (*R. maidis*), lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea*) (HÜBNER, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), lagarta elasm (*Elasmopalpus lignosellus*) (ZELLER, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae), broca do colmo (*Diatraea saccharalis*) (FABRICIUS, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e lagarta rosca

(*Agrotis ipsilon*) (HUFNAGEL, 1767) (Lepidoptera: Noctuidae) (GRIGOLLI et al., 2016). Entretanto, a lagarta-do-cartucho e o pulgão-do-milho são considerados as mais importantes pragas relacionadas a essa planta, onde estão presente em mais de 90% das lavouras (MARTIN et al., 2011).

A *S. frugiperda*, conhecida popularmente como lagarta-do-cartucho, é uma praga polífaga e voraz, apresentando alto potencial destrutivo (BUZZI, 2013). Uma das principais características dessa lagarta é sua coloração, que vai do cinza escuro, marrom a esverdeada, com uma faixa dorsal com pontos pretos, além da presença de um Y invertido na sua cabeça (CAPINERA, 2002; POGUE, 2002; ROSA, 2019). Normalmente, encontra-se somente uma lagarta na planta, ocasionado pelo hábito canibal dessa espécie.

O principal dano é causado pela raspagem dessa lagarta, que acontece somente de um lado da folha e, ao se desenvolverem, são capazes de furar as folhas até danificá-las por completo resultando na completa destruição do cartucho (LIMA; ASSMAN, 2015). Elas penetram o colmo levando à prejuízos no ponto de crescimento da planta, chamado “coração morto”, ou chegam nas espigas, atacando-a e gerando má formação ou impedindo a formação completa dos grãos (HELLWIG et al., 2016). Além disso, esse inseto gera danos indiretos à cultura fazendo diversos orifícios que se tornam passagens para microrganismos como bactérias e fungos (WANGEN et al., 2015). Vale lembrar que esta é uma praga de difícil controle e segundo estudos de Rosa (2019), os prejuízos anuais no Brasil causados pela *S. frugiperda* já passam de 500 milhões de dólares, e dependendo da época do ataque, a praga reduz a produção em até 60%.

Já o *R. maidis* é cosmopolita, podendo atacar mais de 30 espécies de gramíneas (BLACKMAN; EASTOP, 2000). Sua reprodução é através da partenogênese, logo todos os indivíduos da população são fêmeas. Possuem corpo alongado medindo aproximadamente 1,5 mm de comprimento, com coloração amarelo-esverdeado indo até um azul-esverdeado, e vários pontos pretos no entorno do sifúnculo (GALLO et al., 2002). A formação de asas em alguns indivíduos é observada quando a população está excedida, fazendo com que a fonte de alimento comece a ficar escassa ou quando as condições ambientais passam a ficar desfavoráveis para a colônia (PEREIRA; SALVADORI, 2006).

Normalmente, esse afídeo se encontra no interior dos cartuchos do milho e se alimentam de folhas mais novas consumindo praticamente toda a planta. Além dos prejuízos causados pela sucção da planta, geralmente os danos ocorrem de forma

indireta, através da transmissão do vírus do mosaico, que é realizada de maneira não persistente pelo inseto (CRUZ et al., 2012). Apesar dos danos, o controle biológico é um método eficiente e ajudam a controlar a população na planta, entretanto, em situações em que as infestações são altas, é recomendado o controle químico, escolhendo produtos seletivos (WAQUIL et al., 2014).

### **3.3 Mecanismos de defesa das plantas**

Por si só, as plantas são capazes de elaborar mecanismos de defesa que as possibilitam enfrentar ataques de pragas e doenças. As plantas reagem aos estresses abióticos e bióticos através de várias vias fisiológicas do seu metabolismo primário e secundário, onde a comunicação é feita através de compostos químicos que são essenciais na resistência das plantas (ALMEIDA-CORTEZ, 2005; DICKE, 2009).

Essas defesas podem ocorrer de forma constitutiva e/ou induzida, direta ou indireta sobre os herbívoros (BEZEMER; VAN DAM, 2005). As respostas constitutivas são aquelas que já estão presentes nas plantas, porém em níveis baixos, e a resposta induzida ocorre após o ataque (BITTEL; ROBATZEK, 2007). A ação direta afeta diretamente o comportamento ou fisiologia da praga, já a indireta ocorre através da atração dos inimigos naturais, principalmente pela emissão de voláteis de plantas induzidos pela herbivoria (HIPVs) (PARÉ; TUMLINSON, 1999).

Quando as plantas são atacadas pelos insetos, elas conseguem detectar a praga através do contato da secreção oral e o tipo de dano mecânico que acontece na membrana das células (ALBORN et al., 2007; CARROLL et al., 2008). Elas regulam sua resposta através de três fitohormônios principais: ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS) e etileno (ET). Os insetos mastigadores geralmente acionam a rota de defesa do AJ, já os sugadores acionam a rota de defesa mediada pelo AS (DICKE; VAN LOON; SOLER, 2009; PINTO-ZEVALLOS et al, 2013). Contudo, os insetos conseguem perceber os compostos que são produzidos pela planta em respostas aos ataques e criar estratégias para se protegerem (HAN; CHEN, 2002; NINKOVIC et al., 2001).

### **3.4 O uso de bioestimulantes na defesa contra insetos pragas**

Uma alternativa que vem ganhando destaque para uma agricultura mais sustentável é o uso de bioestimulantes. Ele é definido por possuir uma ou mais substâncias e/ou microrganismos, que além de promoverem o crescimento das plantas,

podem melhorar seu processo fisiológico, contribuir para a absorção de nutrientes e induzir a tolerância a diversos estresses, atuando diretamente no seu metabolismo (DE VASCONCELOS et al., 2009; CALVO et al., 2014; VAN OOSTEN et al., 2017).

De acordo com Brown e Saa (2015), os bioestimulantes fazem a interação da fisiologia da planta com os níveis hormonais, ativando sua resistência que ocorre através da indução sistêmica. Essa resistência faz com que haja ativação do sistema de defesa natural da planta e ela responda mais rápido aos ataques de pragas e doenças, promovendo amplo espectro de proteção (JUNG et al., 2009).

Um exemplo de bioestimulante comercial que tem sido utilizado por alguns produtores para melhorar a qualidade das plantas é o Bio-Imune® (cepa *B. subtilis* BV-02) da empresa Biovalens Biotecnologia. Já é comprovado que esse produto, composto por bactericida microbiológico é altamente eficaz no manejo de doenças da parte aérea de algumas plantas, protegendo-a por completo, estimulando seu crescimento e melhorando a sanidade e qualidade da lavoura. Além da excelente ação de controle, também proporciona diversos outros benefícios às plantas (MELO et al., 2021). Entretanto, pouco se sabe a respeito da possível ação desse produto no controle de pragas.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Ecologia Química das Interações Inseto-Planta (LEQIIP), localizado no Departamento de Entomologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

### 4.1 Cultivo das plantas

Sementes de milho do híbrido convencional BM207 (Biomatrix) foram cultivadas em vasos de polietileno (2 L de capacidade) contendo 1,5 Kg de solo (latossolo vermelho escuro) na proporção de 2:1 de solo e esterco animal, também foi adicionado 5 g de NPK (08:24:12) para adubação. Para a semeadura, cada vaso recebeu duas sementes de milho e, cinco dias após a emergência das plântulas (estádio fenológico V2), foi feito o desbaste, restando apenas uma plântula por vaso.

As plantas foram mantidas e cultivadas em casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras – UFLA, sendo irrigadas em dias intercalados até o desenvolvimento da sétima folha (estádio fenológico V7), quando foram usadas nos experimentos. (Figura 1). Plantas de milho de mesmo híbrido, foram cultivadas em vasos de polietileno (2 L de capacidade) contendo 1,5 Kg de solo (latossolo vermelho escuro), contendo uma semente por vaso, para a manutenção da criação de *R. maidis*.

Figura 1 – Cultivo de plantas de milho



Fonte: Carla A. C. Antonio (2021)

#### 4.2 Criação de *R. maidis*

Uma população de pulgões foi coletada em cultivo de milho localizado no campus experimental da UFLA, e usados para dar início a criação sob condições controladas (temperatura  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ ; UR  $70\pm 10\%$ ; e fotofase de 12 horas). A criação dos afídeos foi mantida utilizando a metodologia adaptada de Cabette (1992).

#### 4.3 Criação de *S. frugiperda*

As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas nos bioensaios foram providas da criação estabelecida no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos (UFLA, Lavras, MG, Brasil) (Figura 2). A metodologia de criação deste inseto foi descrita em Parra (2001). De forma sucinta, as lagartas foram colocadas, em potes de plástico (50 mL), em condições de temperatura  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa 60-70% até empupar. Em seguida, as pupas eram transferidas para uma placa de Petri aberta (9,0 cm x 1,5 cm) colocadas no interior de um tubo de policloreto de vinila (PVC) (1570 mL). A superfície interna deste tubo era forrada com papel sulfite branco e as aberturas cobertas com tecido *voile*. Após a emergência dos adultos, eram adicionados algodão umedecido com água e mel para a alimentação das mariposas. Ao se observar posturas no papel e no tecido, estes eram retirados, substituídos por outro papel, recortados e acondicionados em um recipiente plástico com 12 cm de diâmetro x 7,5 cm de altura até a emergência das lagartas neonatas. Em seguida, estas lagartas eram individualizadas em potes plástico, contendo dieta artificial (PARRA, 1991).

Figura 2 – Lagartas de *S. frugiperda*



Fonte: Carla A. C. Antonio (2021)

#### 4.4 Tratamentos

As plantas tratadas com o fungicida microbiológico Bio-imune® (Biovalens – Biotecnologia TT) (cepa *B. subtilis* BV-02) preparado em uma solução de acordo com a recomendação do produto foi pulverizado, na dosagem de 1,0 L/ha, homoganeamente nas folhas da planta de milho no estágio fenológico V6. As plantas não tratadas (Controle) foram pulverizadas de modo semelhante, porém apenas com água. (Figura 3) Após 5 dias do tratamento foram realizados os bioensaios.

Figura 3 – Planta tratada com Bio-imune® e planta não tratada



Fonte: Carla A. C. Antonio (2021)

#### 4.5 Mortalidade de lagarta de 1º instar de *S. frugiperda*

Neste bioensaio, 20 lagartas de 1º instar foram liberadas dentro do cartucho de cada planta de milho, tratadas e não tratadas com Bio-imune®, e envolvida com uma gaiola de tecido *voile* para evitar o escape dos insetos. (Figura 4). Após um intervalo de 48 h, com o auxílio de um pincel, as lagartas foram retiradas das plantas e o número de lagartas mortas foi estimado por meio da subtração do número inicial de lagartas pelo número de lagartas recuperadas em cada planta. Plantas de ambos tratamentos foram dispostas aleatoriamente no interior do laboratório ( $25 \pm 2$  °C, UR  $60 \pm 10$  %, e fotofase de 12h), totalizando 15 repetições com delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Figura 4 – Lagartas de *S. frugiperda* no cartucho do milho



Fonte: Livia Souza (2021)

#### **4.6 Ganho de peso de lagartas de 3º instar de *S. frugiperda***

No segundo ensaio, as plantas de milho foram individualmente infestadas com uma lagarta de *S. frugiperda* de 3º instar, que permaneceram no cartucho da planta por 48h. (Figura 5). Antes de iniciar o bioensaio as lagartas permaneceram em jejum por 24h e foram pesadas individualmente para a obtenção do peso inicial. Após 48h da liberação das lagartas nas plantas, elas foram novamente pesadas. A obtenção do ganho de peso foi realizada através da subtração do valor da massa final com o valor da massa inicial. O ensaio foi conduzido em sala climatizada ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $60\pm 10\%$ , e fotofase de 12h). Foram realizadas 15 repetições de cada tratamento com delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Figura 5 – Ganho de massa de lagarta de *S. frugiperda*



Fonte: Livia Souza (2021)

#### **4.7 Desempenho biológico de *R. maidis***

Avaliamos a resistência das plantas tratadas com Bio-imune ao pulgão-do-milho *R. maidis*, por meio do seu crescimento colonial na planta. Plantas de milho (tratadas com Bio-imune e não tratadas) foram infestadas com 10 ninfas de *R. maidis* e cobertas individualmente com tecido *voile*. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação por 14 dias (aproximadamente 2 gerações de pulgões) e posteriormente avaliamos o número total de afídeos em cada uma. Foram realizadas 15 repetições de cada tratamento com delineamento inteiramente casualizado (DIC).

#### **4.8 Análise de parâmetros fitotécnicos**

Para avaliar se a colonização da bactéria promove aumento desses parâmetros em plantas de milho, foram utilizadas plântulas tratadas com Bio-imune® e não tratadas. Foram colocadas uma semente por célula em bandeja de produção de mudas contendo 72 células. Cada bandeja consistiu em uma repetição e foram realizadas um total de quatro bandejas por tratamento. 45 dias após o plantio, quando as plântulas

apresentaram dois pares de folhas, foram contabilizados o número de plântulas em cada bandeja. (Figura 6). Para avaliar a massa seca, foram coletadas todas as plântulas de cada tratamento das bandejas de germinação e cortadas na base da raiz, individualizadas em sacos de papel (7 cm x 10 cm) e colocadas em estufa a 60° por 48h para secagem. Posteriormente, cada plântula foi pesada individualmente em balança analítica (Marte AY220) (Marte balanças e aparelhos de precisão Ltda., Santa Rita do Sapucaí, MG, Brasil) para obtenção da massa seca. Já a altura das plantas foi realizada com plantas em estágio V6, através da medida da superfície do solo até a ponta da folha bandeira com auxílio de fita métrica. Foram realizadas 15 repetições de cada tratamento, utilizando delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Figura 6 – Plântulas de milho



Fonte: Carla A. C. Antonio (2021)

#### 4.9 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos aos testes Shapiro-Wilk e Bartlett para verificação dos pressupostos de normalidade e homocedasticidade, respectivamente. As médias obtidas no experimento de mortalidade ganho de peso das lagartas e a altura das plantas foram comparadas pelo teste t de Student. Os dados de, desempenho de *R. maidis*, massa seca e taxa de germinação das plantas foram analisados por modelos lineares generalizados (*generalized linear models – glm*) com distribuição *Quasipoisson* e gamma, As análises foram realizadas no software estatístico R (versão 3.4.0) (Vienna, Austria) (R Core Team, 2019).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Mortalidade de lagartas de 1º instar de *S. frugiperda*

A mortalidade de lagartas de 1º instar de *S. frugiperda*, após um período de 48 h, foi cerca de 1,25 vezes maior em plantas tratadas com Bio-imune® em comparação com plantas não tratadas (Figura 7, teste t,  $P = 0,02$ ).

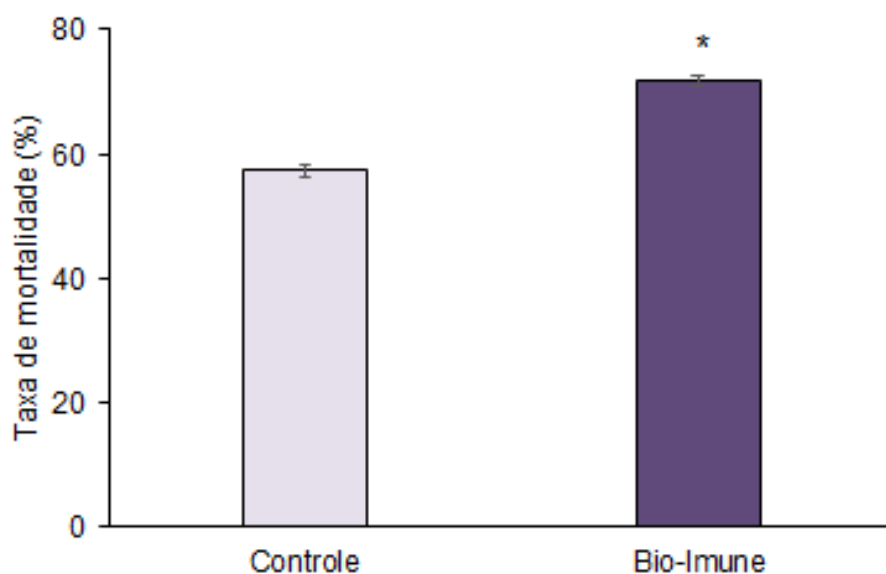


Figura 7 – Mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*

### 5.2 Ganho de peso de lagartas de 3º instar de *S. frugiperda*

Não houve diferença significativa no ganho de peso entre as lagartas de 3º instar de *S. frugiperda* alimentadas em plantas tratadas com Bio-imune® em relação àquelas alimentadas em plantas não tratadas, após um período de 48h (Figura 8, Glm,  $P = 0,57$ ).

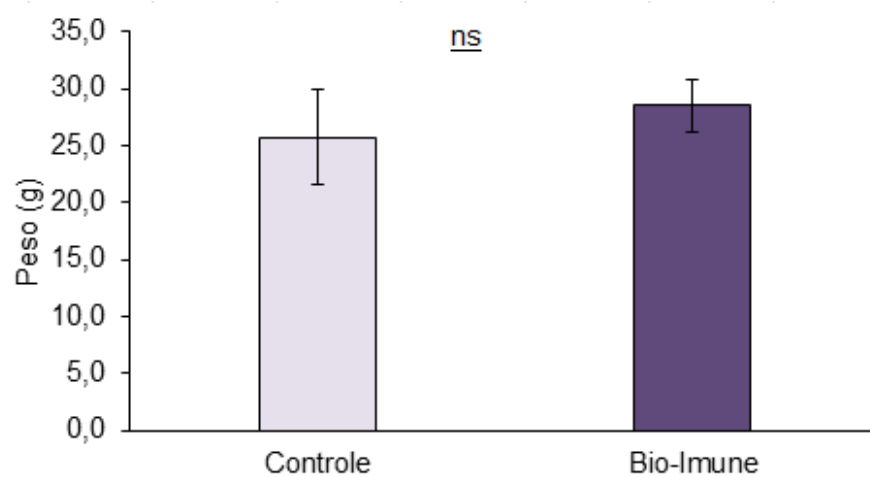


Figura 8 – Ganho de peso de lagartas de *S. frugiperda*

### 5.3 Desempenho *R. maidis*

Foi encontrado um número significativamente maior de pulgões nas plantas tratadas com Bio-imune® em relação as plantas não tratadas após 14 dias (Figura 9, Glm,  $P=0,013$ ).

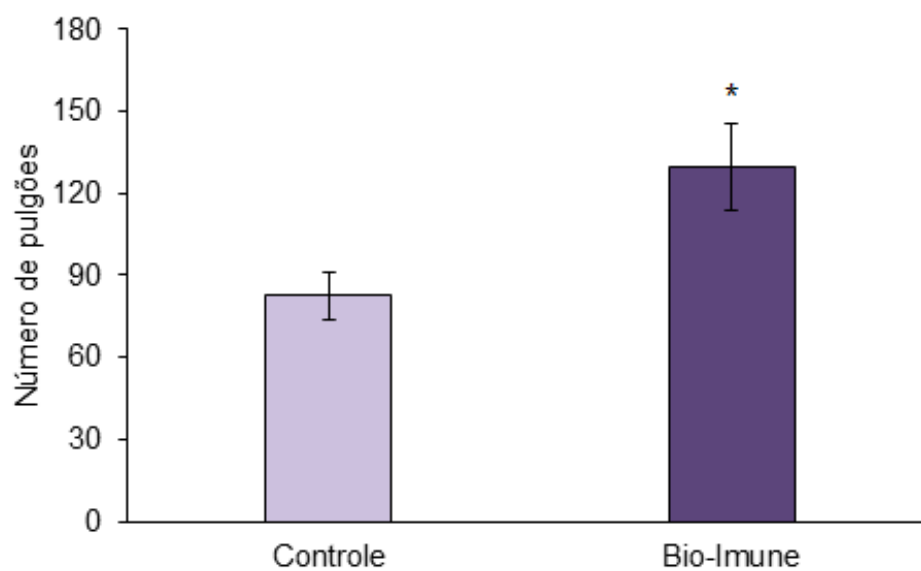


Figura 9 – Desempenho de *R. maidis*



#### 5.4 Análise de parâmetros fitotécnicos

Não houve diferença significativa na taxa de germinação em plantas tratadas com Bio-imune® quando comparadas com plantas não tratadas (Figura 10, Glm,  $P=0,93$ ). Já a massa seca e altura da parte aérea de plantas de milho foram maiores nas plantas de milho tratadas com o produto. A massa seca foi aproximadamente 6 vezes maior em plantas tratadas com Bio-imune® (Figura 11, glm,  $P=0,007$ ), assim como a altura que foi cerca de 1,6 vezes maior em plantas tratadas com Bio-imune® (Figura 12, teste t,  $P<0,001$ ).

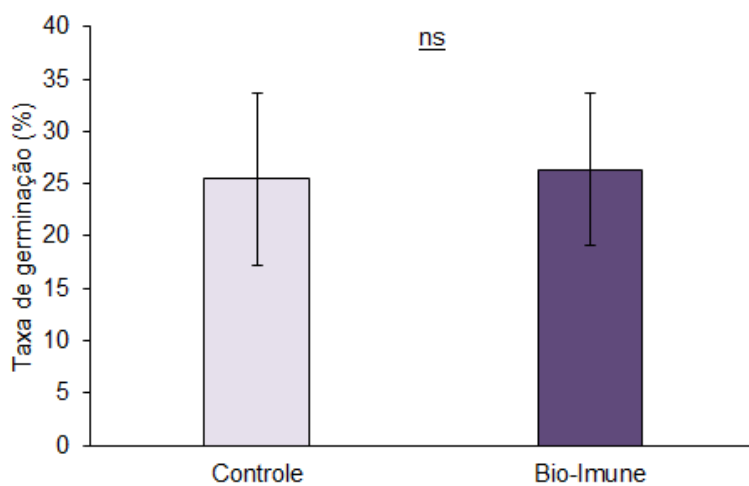


Figura 10 – Taxa de germinação

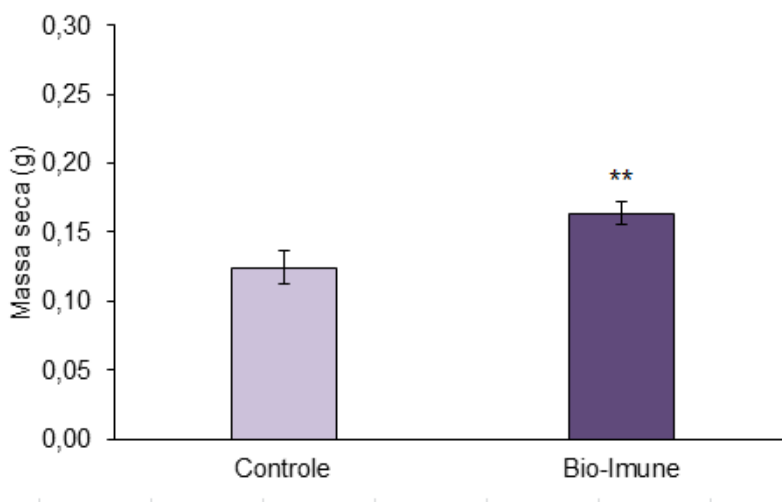


Figura 11 – Massa seca

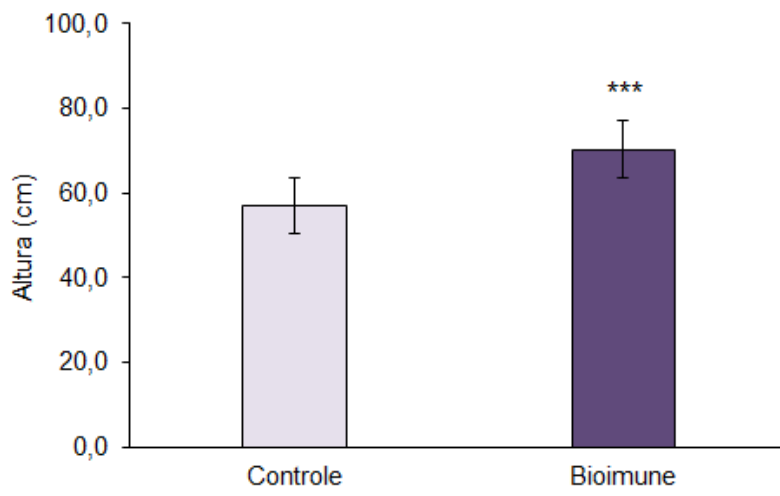


Figura 12 – Altura da planta

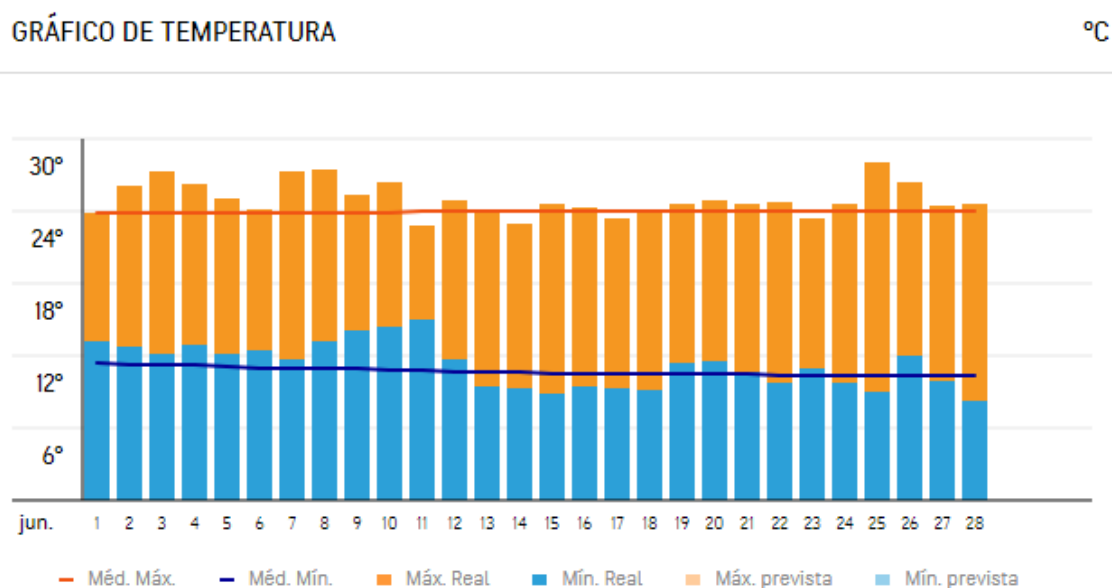
## 6 DISCUSSÃO

Para variável do comprimento de parte aérea, o tratamento com uso da bactéria *B. subtilis* apresentou o melhor desempenho, indicando o potencial em promover o crescimento da planta. Resultado semelhante foi observado por Buchelt et al. (2019), que ao inocular sementes de milho com os bioestimulantes ProGibb 400®, Stimulate® e com a bactéria *B. subtilis* em diferentes dosagens encontrou diferença para crescimento aéreo entre o tratamento inoculado com o produto e os demais, aumentando o crescimento da plântula e massa seca no início do desenvolvimento. O maior valor apresentado pela co-inoculação tem correlação com a concentração de hormônios vegetais, que é favorecida com a presença das bactérias e tem a função de acelerar o desenvolvimento dos tecidos, como descrito em trabalho conduzido por Tien et al. citado por Kleinschmitt (2018) que encontraram o ácido indol-acético, giberelinas e citocininas como resultado da presença de bactérias via inoculação.

Avaliando o crescimento de parte aérea do milho com inoculação de Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas - BPCP, Muzzuchelli et al. (2014) também encontraram diferença significativa para tratamento composto pela co-inoculação de *A. brasilense* e *B. subtilis* em relação aos demais que não diferiram entre si. No mesmo trabalho ainda é relatado o efeito positivo da inoculação isolada de *A. brasilense* na produtividade do milho, aumentando 21% em relação ao controle sem inoculação.

A taxa de germinação não apresentou diferença com a presença da bactéria conforme elucidado na Figura 10. O tempo demandado pelas sementes foi considerado alto para o híbrido utilizado, fator que pode estar relacionado as condições climáticas encontradas na época de plantio (início do mês de junho de 2021), cujo as médias de temperatura foram baixas para normal da região Sudeste (Figura 13). Baixas temperaturas no plantio, geralmente, restringem absorção de nutrientes do solo e causam lentidão no crescimento da plântula (SANGOI et al. citado por MAGALHAES; SOUZA, 2015).

Figura 13 – Temperaturas diárias, máximas e mínimas, no mês de junho de 2021 em Lavras – MG



Fonte: AccuWeather (2021)

Em relação ao acúmulo de matéria seca da parte aérea, o tratamento com a bactéria *B. subtilis* apresentou melhor resultado quando comparado as plantas não tratadas com Bio-imune®. O acúmulo de biomassa sob efeito de inoculação de *B. subtilis*, composto por três cepas (UFTBs 01, UFTBs 02, UFTBs 03), em milho foi maior quando comparado a testemunha em trabalho desenvolvido em casa de vegetação por Braga Junior (2015), em estágio inicial de crescimento. Carvalho et al. (2019) em trabalho desenvolvido em laboratório, testou o desenvolvimento das plântulas de milho inoculadas com duas cepas de *B. subtilis* sobre estresse hídrico induzido por polietilenoglicol, e observou que o ambas as cepas produziram aumento de matéria seca de raiz em comparação a testemunha, assim como aumento no volume de raízes.

A taxa de 70% de mortalidade foi obtida em plantas tratadas com Bio-imune®. Lima et al. (2009), ao trabalharem com formulados comerciais de nim e *B. thuringiensis subsp. Aizawai – Bta*, visando o controle de *S. frugiperda*, obtiveram resultados bastante promissores para implantação destes em um sistema de controle de pragas, chegando a 100% de mortalidade das lagartas nos ensaios. Efeitos na sobrevivência e desenvolvimento de *S. frugiperda* também foram constatados quando lagartas recém eclodidas desse inseto ingeriram folhas de milho imersas em suspensões bacterianas de isolados de nim (SILVA, 2014). O autor constatou que, as lagartas que não morreram

apresentavam alterações em seu ciclo de vida, além de pupas e adultos com anormalidades e lagartas e pré-pupas que morreram no momento da ecdise, por não conseguirem se liberar totalmente a exúvias. O ganho de peso de lagartas de 3º instar de *S. frugiperda* não resultaram em valores significativamente diferentes entre os tratamentos.

Plantas tratadas com Bio-imune® sofreram influência significativa sobre o desenvolvimento da colônia do pulgão. Segundo Fancelli; Dourado Neto (2000), nesse estágio de crescimento da planta, há um maior deslocamento de nutrientes para a região apical para a formação dos grãos de pólen, principalmente de açúcares e aminoácidos, fato que pode ter servido como estimulante à alimentação dos afídeos (Parra, 1999) e, dessa maneira, ter incrementado o desenvolvimento da colônia. Esses resultados aproximaram-se daqueles observados por Kieckhefer; Gellner (1988), que constataram maiores médias de reprodução e desenvolvimento da colônia de *R. maidis* em milho no estágio IV.

Os experimentos desenvolvidos, demonstra a habilidade promissora da bactéria promotora de crescimento *B. subtilis*. Há necessidade de novas pesquisas para aprimorar o processo de inoculação e compatibilidade entre diferentes cultivares com a bactéria em questão, visando a permanência dos mecanismos bacterianos de promoção do crescimento de plantas a nível de campo, que não foram aferidos nesse trabalho. Ademais, é necessário um estudo mais aprofundado sobre as possíveis interferências das condições climáticas sobre seus efeitos.

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A inoculação com *B. subtilis* promoveu maior mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*, crescimento aéreo das plantas, maior teor de massa seca e melhor desempenho de *R. maidis*. Entretanto, o ganho de massa das lagartas e a taxa de germinação não sofreram influencia sob aplicação do produto.

## 8 REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego, Califórnia: Elsevier, 922 p., 2004.

ALBORN H. T. et al. Disulfooxy fatty acids from the American bird grasshopper *Schistocerca americana*, elicitors of plant volatiles. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, v.104, n. 32, p. 12976-12981, 2007.

ALMEIDA-CORTEZ, J. S. Herbivoria e mecanismos de defesa vegetal. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CALVALCANTE, U. M. T. (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE/Imprensa Universitária, p. 389-396, 2005.

ARAÚJO, E. D. O.; VITORINO, A. C. T., MERCANTE, F. M., NUNES, D. P., SCALON, S. P. Q. Qualidade de sementes de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com bactérias diazotróficas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. V. 9, n. 2, p.159-165, 2014a.

ARAÚJO, F.F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostra e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, v.2, n.2, p.456-462, 2008.

BALBINOT, W. G. **Inoculação de *Bacillus* sp. na cultura do milho (*Zea mays* L.) como promotor de crescimento**. 2018. 48 p. Monografia (Especialização em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Curitibanos, 2018.

BARBOSA, R. H.; KASSAB, S. O.; FONSECA, P. R. B.; ROSSONI, C.; SILVA, A. S. Inseticidas biológico e natural no controle da *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho cultivado em condições de campo. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 6, n. 3, p. 247-251, 2011.

BARROS, G. S. A. C.; ALVES, L. R. A. USP-ESALQ. **Visão agrícola**. Nº13, Piracicaba – SP, Jul/Dez, 2018.

BATISTA, B.D. **Promoção de crescimento vegetal por *Bacillus* sp. RZ2MS9: dos genes ao campo**. 2017. 107 p. Tese (Doutorado em ‘Genética e Melhoramento de Plantas’) USP – Escola Superior de Agricultura – Luiz Queiroz. 2017.

BERNARDS, M. A.; FLEMING, D. W.; LLEWELLYN, D. B.; PRIEFER, R.; YANG, X.; SABATINO, A.; PLOURDE, G. L. Biochemical characterization of the suberisation-associated anionic peroxidase of potato. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 121, p. 135-146, 1999.

- BITTEL, P.; ROBATZEK, S. Microbe-associated molecular patterns (MAMPs) probe plant immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, Londres, v. 10, n. 4, p. 335-341, 2007.
- BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. P. **Aphids on the world's crops: an identification and information guide**. 2. ed. Chichester: J. Wiley & Sons, 466 p. 2000.
- BORGES, I. D. **Marcha de absorção de nutrientes e acúmulo de matéria em cultivares de milho**. 2006. 115 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Programa de pós-graduação, UFLA, Lavras, 2006.
- BOWLES, D. J. Defense-related proteins in higher plants. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 59, p. 873- 907, 1990.
- BRAGA JUNIOR, G. M. **Eficiência de Bacillus subtilis no biocontrole de fitopatógenos e promotor de crescimento vegetal**. 84 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Curso de pós-graduação em Produção Vegetal. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi – TO, 2015.
- BUHELDT, A.C.; METZLER, C.R.; CASTIGLIONI, J.L.; DASSOLLER, T.F.; LUBIAN, M.S. Aplicação de bioestimulantes e Bacillus subtilis na germinação e desenvolvimento inicial da cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia – MS, v. 6, n. 4, p. 69-74, 2019.
- BUZZI, Z. J. **Entomologia didática**. Curitiba: UFPR, 2013.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 383, p. 3-41, 2014.
- CAPINERA, J.L. **Handbook of vegetable pests**. San Diego, Academic Press, 2700p. 2002.
- CARROLL, M.J.; SCHMELZ, E.A.; TEAL, P.E.A. The Attraction of *Spodoptera frugiperda* Neonates to Cowpea Seedlings is Mediated by Volatiles Induced by Conspecific Herbivory and the Elicitor Inceptin. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, n.3, p. 291-300, mar. 2008.
- CARVALHO, C.G.; VELLOSO, C.C.V.; GODINHO, B.T.V.; PAIVA, C.A.O.; GOMES, E.A.; MAGALHÃES, P.C.; LANA, U.G.P.; TINOCO, S.M.S. **Efeitos de bactérias promotoras de crescimento em plântulas de milho sob estresse hídrico induzido por polietilenoglicol 6000**. Embrapa Milho e Sorgo, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 196. Sete Lagoas, 30 p., 2019.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília: CONAB, 2020.
- COTRISOJA. **Pulgão no milho: Recomendações sobre danos e controle**. 2007.
- CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. **CULTIVO DO MILHO** Pragas da Fase Vegetativa e Reprodutiva. Comunicado Técnico 49, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 8 p. 2012.



CRUZ, J. C. et al. Manejo da Cultura do Milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, **Circular Técnica 87**. 15p. 2016.

DE VASCONCELOS, A. C. F. et al. Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 3, p. 395-402, 2009.

DICKE, M. Behavioural and community ecology of plants that cry for help. **Plant Cell Environ**, v. 32, p. 654–665, 2009.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015.

FANCELLI, A. L.; D. DOURADO NETO. **Produção de milho. Guaíba**: 2.ed., Agropecuária. 360p. 2008.

FIESP. **Safra mundial de milho**. Portal Fiesp. 2020.

FINKEL, T. Redox-dependent signal transduction. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 476, n. 1/2, p. 52-54, 2000.

FONSECA, A. R. **Efeitos de genótipos resistentes de sorgo e Chrysoperla externa (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) sobre Rhopalosiphum maidis (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae)**. 142 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

GALLO, D. et al.; **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920p. Volume 10, 2002.

GEETHA, I.; KUMMANKOTTIL, P.P.; MANONMANI, A.M. Mosquito adulticidal activity of a biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* subsp *subtilis*. **Pest Management Science**, v. 68, n. 1, p. 1447–1450, 2012.

GEETHA, I.; KUMMANKOTTIL, P.P.; MANONMANI, A.M. Mosquito adulticidal activity of a biosurfactant produced by *Bacillus subtilis* subsp *subtilis*. **Pest Management Science**, v. 68, n. 1, p. 1447–1450, 2012.

GRIGOLLI, José Fernando Jurca; LOURENÇÃO, André Luis Faleiros. **Alta infestação de lagartas na cultura do milho BT**. Fundação MS, 2016.

HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Responses to plant pathogens. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Maryland: American Society of Plant Physiologists, cap. 21, p. 1102-1157, 2000.

HAN B. Y.; CHEN, Z. M. Behavioral and electrophysiological responses of natural enemies to synomones from tea shoots and kairomones from tea aphids, *Toxoptera aurantii*. **J Chem Ecol**, v. 28, p. 2203–2219, 2002.

HELLWIG, Leticia; TRECHA, C. O.; MEDINA, L. B.; FIPKE, M.; BARCELOS, H. T.; ROSA, A. P. S. **Reavaliação do nível de dano de Spodoptera frugiperda (J. E.**

**Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional.** Pelotas: Embrapa clima temperado, 2016.

HORTA, A. B.; PANNUTI, L. E. R.; BALDIN, E. L. L.; FURTADO, E.L. Toxinas inseticidas de *Bacillus thuringiensis*. In: RESENDE, F. V.; SOCCOL, L. E. R.; FRANÇA, L. R. (eds.). **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria**. 1. ed. São Paulo: Editora Blucher, cap. 21, p. 737–774, 2017.

KOGAN, M. Integrated pest management: Historical perspective and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, 1998.

LEÓN, I. P.; MONTESANO, M. Activation of defense mechanisms against pathogens in mosses and flowering plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 2, p. 3178-3200, 2013.

LIMA, L. G. de; ASSMANN, E. J. **Desfolha causada por *Spodoptera frugiperda* em milho com diferentes biotecnologias.** Cascavel: Revista Cultivando o Saber, 2015.

MARTINS-MIRANDA, A. S. **Atividade de enzimas relacionadas com estresses bióticos e abióticos em plântulas de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] expostas à salinidade e deficiência hídrica.** 85f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2002.

MELO, E. P. de; JUNIOR, I. S. L; BERTONCELLO, T. F; SUEKANE, R.; DEGRANDE, P. E.; FERNANDES, M. G. Desempenho de armadilhas a base de feromônio sexual para o monitoramento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. **Entomotrópica**, 2015.

MELO, T. A.; NASCIMENTO, I. T. V. da S.; SERRA, I. M. R. de S. The Bacillus genus applied to the biological control of plant diseases. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, 2021.

NAIS, J. **Infestação de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa Zea* (Lepidoptera: Noctuidae) em híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.).** Jaboticabal: Tese de doutorado, 2019.

NERI, D. K. P. **Indução de resistência em milho ao pulgão *Rhopalosiphum maidis* (Fitch.) (Hemiptera: Aphididae) pela aplicação de silício e sua interação com inseticida no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).** 68 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, MG. 2016.

NINKOVIC, V.; AL ABASSI, S.; PETTERSSON, J. The influence of aphid-induced plant volatiles on ladybird beetle searching behavior. **Biological control**, v. 21, n. 2, p. 191-195, 2001.

PEREIRA, P. R. V. da S.; SALVADORI, J. R.; FIGUEIREDO, A.; FURIATTI, R. S. Ocorrência do pulgão-do-milho *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856): identificação, biologia e danos. **Comunicado Técnico 200**. Passo Fundo, RS. 2006.

- POGUE, G.M. 2002. **A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae)**. Mem. Am. Entomol. Soc. 43, 2002.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, University of Auckland, Auckland, Nova Zelândia, 2019.
- ROSA, A. P. S. A. da. **Monitoramento da lagarta-do-cartucho do milho**. Pelotas: EMBRAPA, 2019.
- SANTOS, T. T.; VARAVALLO, M. A. Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 32, n. 2, p. 199-212, 2011.
- SEAB, Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Milho paranaense – safra 2017/2018**. 2018.
- SILOTO, R. C. **Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho**. Piracicaba: Dissertação de mestrado, 2016.
- SILVA, R.B., CRUZ, I., FIGUEIREDO, M.L.C.; TAVARES, W.S. Development of *Coleomegilla maculata* De Geer (Coleoptera: Coccinellidae) with prey and artificial diet. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.9, p.13-26, 2010.
- SILVA, V. L.; LOVAGLIO, R. B.; VON ZUBEN, C. J.; CONTIERO, J. Rhamnolipids: solution against *Aedes aegypti*? **Frontiers in Microbiology**, v.6, p. 1-5, 2015.
- SOBER. **SOCIEDADE BRASILEIRA de ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO e SOCIOLOGIA RURAL**. 2010.
- THORDAL-CHRISTENSEN, H.; GREGERSEN, P. L.; COLLINGE, D. B. The barley/*Blumeria* (syn. *Erysiphe*) *graminis* interaction. In: SLUSARENKO, A. J.; FRASER, R.; VAN LOON, K. (Ed.) **Mechanisms of Resistance to Plant Disease**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 77-100, 2000.
- USDA, United States Department of Agriculture. **World agricultural production. Circular series**. USDA, 2020.
- VALICENTE, F. H. **Manejo integrado de pragas na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa, 2015.
- VAN LOON, L. C.; VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant pathology**, Orlando, v. 55, p. 85-97, 1999.
- VERBENE, M. C.; VERPOORTE, R.; BOL, J. F.; MERCADO-BLANCO, J.; LINTHORST, H. J. M. Overproduction of salicylic acid in plants by bacterial transgenes enhances pathogen resistance. **Nature Biotechnology**, New York, v. 18, n. 7, p. 779-783, 2000.

VIANA, P. A. et al. **Ocorrência e controle de pragas na safrinha de milho nas regiões Norte e Oeste do Paraná**. Circular Técnica 45, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 12 p., 2014.

VITTIA. **Bio-Imune: Produto é o único multissítio biológico que combate a antracnose na soja e feijão, além do controle da ferrugem do café**. Vittia News, n. 18, 12 p., dez. 2019.

WANGEN, D. R. B.; PEREIRA, P. H. S. J.; SANTANA, W. dos S. **Controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) na cultura do milho com inseticidas de diferentes grupos químicos**. Goiânia: Enciclopédia Biosfera, 2015.

WAQUIL, J. M. et al. Ocorrência e controle de pragas na cultura do milho no Mato Grosso do Sul - Safrinha. **Circular Técnica 46**, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 12 p., 2014.