**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Resistência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a
spinosad no Brasil**

Patrick Marques Dourado

**Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia**

**Piracicaba
2009**

Patrick Marques Dourado
Engenheiro Agrônomo

**Resistência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a spinosad no
Brasil**

Orientador:
Prof. Dr. **CELSO OMOTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Dourado, Patrick Marques

Resistência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a spinosad no Brasil /
Patrick Marques Dourado. - - Piracicaba, 2009.
70 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Fitossanidade 2. Inseticidas (Resistência) 3. Lagartas 4. Manejo integrado 5. Milho
I. Título

CDD 633.15
D739r

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais Silvone Marques Dourado e
Izonel Francisco Dourado,
OFEREÇO

A minha namorada Lívia Mendes de Castro e
meu irmão Diego Marques Dourado
DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Celso Omoto pela orientação e ensinamentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ/USP pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Comitê Brasileiro de Ação a Resistência a Inseticidas (IRAC-BR) pela preciosa colaboração na coleta de populações da praga no campo.

Aos colegas do Laboratório de Resistência de Atrópodes a Pesticidas da ESALQ/USP Beatriz Maria Ferrari, Carla Fernando Prezzoto, Cláudio Roberto Franco, Danielle Thomazoni, Edgar F. Gaona Mena, Eloiza Salmerom, Felipe Antonio Domingues, Gislaine A. De Oliveira, Karina Cordeiro Albernaz, Nádia Bertan e Oderlei Bernadi pelo auxílio e companheirismo nos últimos anos..

A Dow AgroSciences pelo fornecimento dos produtos e auxílio nas coletas das populações.

Aos amigos Bruno Barbuy, Tiago Carletti, César Albino, Murilo Gabriel, Miguel Angel e Daniel Motuca.

A bibliotecária Sílvia pelo auxílio na revisão da dissertação.

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	13
LISTA DE TABELAS.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 Aspectos bioecológicos de <i>S. frugiperda</i>	21
2.2 Resistência de <i>S. frugiperda</i> a inseticidas.....	23
2.3 Spinosinas.....	25
2.4 Resistência de pragas a spinosad.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Coleta e criação de <i>S. frugiperda</i>	29
3.2 Procedimentos para bioensaios toxicológicos.....	31
3.3 Caracterização da linha-básica de suscetibilidade de <i>S. frugiperda</i> a spinosad e spinetoram.....	31
3.4 Avaliação da variabilidade geográfica e temporal da suscetibilidade de <i>S. frugiperda</i> a spinosad no Brasil.....	32
3.5 Seleção da resistência de <i>S. frugiperda</i> a spinosad.....	33
3.6 Resistência cruzada entre spinosad e spinetoram.....	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 Caracterização de linha-básica de suscetibilidade de <i>S. frugiperda</i> a spinosad e spinetoram.....	35
4.2 Avaliação da variabilidade geográfica e temporal da suscetibilidade de <i>S. frugiperda</i> a spinosad no Brasil.....	39
4.3 Resposta de <i>S. frugiperda</i> à pressão de seleção com spinosad.....	50
4.4 Resistência cruzada entre spinosad e spinetoram.....	52
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
6 CONCLUSÕES.....	57
7 REFERÊNCIAS	59

RESUMO

Resistência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a spinosad no Brasil

Spinosad tem sido um dos inseticidas bastante utilizados em programas de manejo de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) no Brasil, devido à alta eficácia e ao mecanismo de ação único (ativadores alostéricos dos receptores nicotínicos de acetilcolina). Para preservar a vida útil de spinosad, os objetivos do trabalho foram: (a) caracterizar a variabilidade geográfica e temporal na suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinosad em populações coletadas nas principais regiões produtoras de milho no Brasil nas safras de 2006 a 2008, (b) Avaliar a resposta à pressão de seleção de *S. frugiperda* a spinosad em condições de laboratório, e (c) avaliar a resistência cruzada entre spinosad e spinetoram em *S. frugiperda*. A caracterização da suscetibilidade a spinosad em populações de *S. frugiperda* foi realizada com o método de bioensaio por ingestão mediante contaminação superficial da dieta artificial com o inseticida, utilizando-se lagartas de 3º instar. Baseado na resposta de concentração-mortalidade da população suscetível de referência, foram definidas as concentrações diagnósticas de 32 e 56 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)], correspondentes à CL₉₅ e CL₉₇ respectivamente, para o monitoramento da resistência. Foram verificadas diferenças significativas na suscetibilidade de populações de *S. frugiperda* a spinosad no Brasil, com sobrevivências variando de 1,5 a 64,4% e 1,5 a 41,2% nas concentrações diagnósticas de 32 e 56 ppm de spinosad respectivamente. Em geral foi observado um aumento na frequência de resistência em todas as populações avaliadas nas safras de 2006 a 2008. Foram verificadas respostas à pressão de seleção de uma população de *S. frugiperda* a spinosad, atingindo uma razão de resistência (RR) de 371 vezes, após cinco ciclos de seleção para resistência em condições de laboratório. Resistência cruzada positiva entre spinosad e spinetoram foi comprovada para a população de *S. frugiperda* resistente a spinosad. Portanto, as estratégias de uso de spinosad para o controle de *S. frugiperda* no Brasil devem ser revistas para preservar a vida útil desse importante inseticida em programas de manejo integrado de pragas.

Palavras chaves: Resistência a inseticidas; Resistência cruzada; Spinosinas; Manejo de resistência

ABSTRACT

Resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to spinosad in Brazil

Spinosad has been one of the most used insecticides to manage *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in Brazil, due to its high efficacy and unique mode of action (nicotinic acetylcholine receptor allosteric activators). In order to preserve its lifetime, the objectives of this research were: (a) to characterize the geographic and temporal variability in the susceptibility to spinosad in populations of *S. frugiperda* collected from major maize-producing regions in Brazil during 2006 to 2008 seasons; (b) to evaluate response to selection pressure of *S. frugiperda* to spinosad under laboratory conditions; and (c) to evaluate cross-resistance between spinosad and spinetoram in *S. frugiperda*. The characterization of susceptibility to spinosad in *S. frugiperda* populations was conducted with ingestion bioassays by contaminating the artificial diet surface with the insecticide and using 3rd instar larvae. Based on concentration-response of susceptible reference population, diagnostic concentrations of 32 and 56 µg of spinosad/mL of water [A.I. (ppm)] (values of LC₉₅ e LC₉₇ respectively) were defined for resistance monitoring. Significant differences in the susceptibility to spinosad were detected in *S. frugiperda* populations in Brazil, with survivorship varying from 1.5 to 64.4% and 1.5 a 41.2% at diagnostic concentrations of 32 and 56 ppm of spinosad respectively. In general, an increase in the frequency of resistance was observed in all populations evaluated from 2006 to 2008. Response to selection pressure was obtained in a population of *S. frugiperda* to spinosad, with resistance ratio of up to 371-fold, after five cycles of selection for resistance under laboratory conditions. A positive cross-resistance was observed between spinosad and spinetoram in spinosad-resistant *S. frugiperda* population. Therefore, the strategies of use of spinosad to manage *S. frugiperda* in Brazil must be revised in order to preserve its lifetime of this important insecticide in integrated pest management programs.

Keywords: Resistance to insecticides; Cross-resistance; Spinosins; Resistance management

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Linhas de concentração-resposta a spinosad em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra de 2006/2007..... 39
- Figura 2 Porcentagem de sobrevivência média (erro padrão médio) à CL₉₅ da população suscetível de referência (32 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)]) em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$)..... 41
- Figura 3 Porcentagem de sobrevivência média (erro padrão médio) à CL₉₇ da população suscetível de referência (56 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)]) em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$)..... 42
- Figura 4 Porcentagem de sobrevivência média (erro padrão médio) à CL₉₅ da população suscetível de referência (32 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)]) em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$)..... 43
- Figura 5 Porcentagem de sobrevivência média (erro padrão médio) à CL₉₇ da população suscetível de referência (56 µg de spinosad/mL de água [I. A. (ppm)]) em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$)..... 44

- Figura 6 Monitoramento da suscetibilidade a spinosad em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Os círculos menores representam as médias das classes de variáveis canônicas. O círculo maior representa as regiões que não diferiram estatisticamente na comparação entre pares de médias da distância de Mahalanobis (D^2) (teste de F aproximado, $P = 0,05$)..... 45
- Figura 7 Linhas de concentração-resposta a spinosad em populações de *S. frugiperda* suscetível de referência (SUS) e resistente a spinosad (Spinosad-R)..... 52
- Figura 8 Porcentagem de sobrevivência às concentrações diagnósticas de spinosad e spinetoram equivalentes a CL_{97} e CL_{99} da população suscetível de referência em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006-2008. Valores representam a média das repetições e barras de erro representam o erro padrão médio..... 54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Procedência, data de coleta e código das populações de <i>S. frugiperda</i> coletadas na cultura do milho em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008 e coordenadas geográficas.....	30
Tabela 2	Resposta de concentração-mortalidade a spinosad e spinetoram para a população de <i>S. frugiperda</i> suscetível de referência (SUS).....	36
Tabela 3	Resposta de concentração-mortalidade a spinosad em populações de <i>S. frugiperda</i>	38
Tabela 4	Porcentagem média de sobrevivência ($\pm$ erro padrão) a spinosad em populações de <i>S. frugiperda</i> coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra 2006, com exposição às concentrações equivalentes a CL_{95}^a e CL_{97}^b da população suscetível de referência.....	46
Tabela 5	Porcentagem média de sobrevivência ($\pm$ erro padrão) a spinosad em populações de <i>S. frugiperda</i> coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra 2007, com exposição às concentrações equivalentes a CL_{95}^a e CL_{97}^b da população suscetível de referência.....	47

Tabela 6	Porcentagem média de sobrevivência ($\pm$ erro padrão) a spinosad em populações de <i>S. frugiperda</i> coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra 2008, com exposição às concentrações equivalentes a CL_{95}^a e CL_{97}^b da população suscetível de referência.....	48
Tabela 7	Resposta de concentração-mortalidade a spinosad para a população suscetível de referência (SUS) e população resistente a spinosad (Spinosad-R).....	51
Tabela 8	Resposta de concentração-mortalidade a spinetoram para a população suscetível de referência (SUS) e população resistente a spinosad (Spinosad-R).....	53

1 INTRODUÇÃO

As moléculas inseticidas chamadas spinosinas representam uma nova classe de produtos naturais com estrutura única, que resultam em alta atividade inseticida com baixos níveis de toxicidade a mamíferos (BRENT et al. 1997; SPARKS et al. 1998). Spinosad é o primeiro representante deste novo grupo de inseticidas conhecida como Naturalyte[®], que originalmente foi produzido pela fermentação de uma bactéria de solo, *Saccharopolyspora spinosa* Mertz E Yao, composto principalmente por duas moléculas, spinosinas A (85%) e D (15%) (THOMPSON et al., 1997). O inseticida possui efeito em uma grande variedade de insetos pragas, especialmente das ordens Diptera e Lepidoptera (CROUSE et al., 2001). Estas características tornam o spinosad uma ferramenta de grande importância para programas de manejo integrado de pragas, principalmente com ênfase no manejo da resistência a pesticidas (JONES et al., 2005).

Com o aumento da utilização de spinosad para o controle de pragas, tem se observado aumento nos casos de resistência em populações de algumas espécies de pragas no âmbito mundial (ZHAO et al., 2006). O primeiro caso de resistência a spinosad foi relatado em uma população de *Plutella xylostella* (L.) no Havaí, que apresentou razão de resistência de 1340 vezes, logo após dois anos e meio do início da comercialização do produto nos EUA (MAU, 2001). Desde então, diversas outras espécies têm mostrado o potencial de evolução da resistência a spinosad (MOULTON et al.; KRANTHI et al., 2000; MAU, 2001; GUNNING; BALFE, 2002; YOUNG et al., 2000; BIELZA et al., 2007; TEMARAK, 2003).

Em diversos estudos buscando identificar o mecanismo envolvido na resistência de populações a spinosad, o uso de sinergistas não foi capaz de suprimir totalmente a resistência, sugerindo que nestas espécies o principal mecanismo envolvido na resistência seria uma mutação no sítio de ação e não o envolvimento de enzimas na degradação da molécula (resistência metabólica) (SHONO ; SCOTT, 2003; REYES et al. 2007). Spinosad possui mecanismo de ação único, atuando, primariamente, nos receptores nicotínicos de acetilcolina e, secundariamente, nos receptores do ácido γ -aminobutírico (GABA) (WATSON, 2001; SALGADO; SPARKS, 2005). Possuindo

mecanismos de ação únicos, este inseticida se tornou uma importante ferramenta em programas de manejo da resistência de pragas, visto que, a resistência em sítios de ação de inseticidas tradicionais (por exemplo, a insensibilidade de acetilcolinesterase e dos canais de sódio) não resultaria em resistência cruzada com spinosad (SCOTT, 2008).

Uma spinosina semi-sintética encontra-se em fase de desenvolvimento e registro em diversos países. A nova molécula inseticida chamada spinetoram (XDE-175) foi desenvolvida pela Dow AgroSciences (Indianápolis, EUA) e apresenta perfil ecotoxicológico e características ambientais semelhantes a de spinosad, porém com maior atividade inseticida para diversas espécies de pragas de importância econômica (CHLORIDIS et al. 2007; SPARKS et al. 2008). Spinosad e spinetoram são classificados pelo "Insecticide Resistance Action Committee" - IRAC como ativadores alostéricos dos receptores nicotínicos de acetilcolina (Grupo 5) (IRAC, 2008). Portanto, a possibilidade de resistência cruzada entre spinosad e spinetoram poderá ser um problema, visto que ambos os inseticidas compartilham o mesmo sítio de ação, além de possuírem grande semelhança na estrutura química. Assim, para que seja possível o delineamento de um programa efetivo para o manejo da resistência de pragas a spinosinas é necessário que se conheça a respeito da variabilidade intraespecífica da suscetibilidade das principais pragas alvos a spinosad, bem como a possibilidade de resistência cruzada com spinetoram.

No Brasil, a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é um sério problema fitossanitário, provocando prejuízos econômicos em uma série de culturas de importância econômica (CRUZ, 1995; DEGRANDE, 1998; FIGUEIREDO; PENTEADO-DIAS; CRUZ, 2005). Em virtude das altas infestações e dos grandes prejuízos econômicos causados, o controle químico tem sido a principal estratégia utilizada para o controle dessa praga. No entanto, a utilização indiscriminada de inseticidas tem contribuído para o estabelecimento da resistência em populações da praga a diversas classes de inseticidas (DIEZ-RODRIGUEZ; OMOTO, 2001; YU, 1991, 1992, 2006). Com a evolução da resistência de *S. frugiperda* a inseticidas tradicionais, como organofosforados, piretróides e inibidores de biosíntese de quitina, as spinosinas se tornaram uma opção para o controle eficiente da praga e manejo da resistência no

Brasil. Com o objetivo de aumentar a vida útil deste grupo de inseticidas e fornecer bases para a implantação de um manejo que vise retardar o desenvolvimento da resistência de *S. frugiperda* a spinosinas no Brasil, foram abordados neste estudo os seguintes pontos: 1) Caracterização da variabilidade geográfica e temporal na suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinosinas em populações coletadas na cultura do milho no Brasil nas safras 2006 a 2008, 2) Seleção da resistência de *S. frugiperda* a spinosad em condições de laboratório, e 3) Avaliação da resistência cruzada entre spinosad e spinetoram em *S. frugiperda*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos bioecológicos de *S. frugiperda*

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie polífaga e nativa das regiões tropicais do continente americano, sendo encontrada desde a região sul dos Estados Unidos até Argentina. A distribuição das infestações da praga é limitada a regiões de clima quente do continente americano, já que o inseto não possui mecanismos de diapausa em nenhum dos seus estágios de desenvolvimento e necessita estar sempre em associação a uma planta hospedeira, devido à incapacidade de sobreviver em condições de invernos rigorosos (CAPINERA, 2001). Nos EUA, apenas a região sul dos estados da Flórida e do Texas oferecem as condições ideais para o desenvolvimento da praga durante todo o ano (LUGINBILL, 1928). No entanto, migrações de indivíduos de populações destas regiões no final do inverno americano são responsáveis por infestações nos estados localizados ao centro e a leste dos EUA, sendo observadas infestações até o sul do Canadá (NAGOSHI; MEAGHER, 2008). O sucesso de *S. frugiperda* em colonizar grandes áreas é resultado da grande capacidade de dispersão dos adultos, permitindo sua rápida disseminação ao longo da faixa de distribuição de seus hospedeiros (SPARKS, 1979).

No Brasil, *S. frugiperda* é considerada uma das principais pragas da cultura do milho, além de causar danos a outras culturas como algodão, amendoim, trigo, arroz, soja, hortaliças e cana-de-açúcar (CRUZ, 1995; DEGRANDE, 1998; LEIDERMAN; SAUER, 1953; FIGUEIREDO; PENTEADO-DIAS, 2005). A produção agrícola brasileira tem passado nos últimos anos por um processo de expansão de suas fronteiras, destacando-se pelo aumento de áreas plantadas em estados da região centro-oeste e no oeste da Bahia, caracterizadas pelo bioma cerrado. Como consequência da ocupação destes novos ambientes, tem se observado o aumento no ataque de *S. frugiperda* em diversas culturas. É sabido que a invasão de herbívoros em um novo ambiente pode ser significativamente relacionada com a faixa de distribuição de seus hospedeiros, ao se comparar organismos especialistas e polípagos quanto ao seu hábito alimentar (KOLAR; LODGE, 2001). Desse modo, as grandes infestações de *S.*

frugiperda observadas no Brasil são resultados das condições climáticas favoráveis aliadas a uma contínua disponibilidade de alimento, não tendo a espécie necessidade de migrar como ocorre nos EUA.

O entendimento da estrutura genética e do nível intra-específico de fluxo gênico entre populações de uma praga é essencial para o delineamento de práticas de controle de insetos (CAPRIO; TABASHNIK, 1992). Resultados de diversos estudos de estruturação genética em populações de *S. frugiperda* demonstram que o isolamento geográfico da praga é o principal fator responsável pela variação entre populações de diferentes regiões (NAGOSHI; MEAGHER, 2008). Essa característica pode ser observada na diferenciação da suscetibilidade de populações de *S. frugiperda* ao vírus da poliedrose nuclear, tendo a população do Brasil se diferenciado de populações do Golfo do México, Texas, Louisiana e Flórida (FUXA, 1987). A maior importância da seleção local frente ao fluxo gênico na diferenciação de populações de *S. frugiperda* também pode ser observada nas variações de suscetibilidade a inseticidas utilizados para o seu controle, onde os níveis de resistência estão intimamente associados ao modelo de produção utilizado em cada região (PITRE, 1988; YU, 2003).

Outro fator que deve ser levado em consideração no estudo da estruturação genética de *S. frugiperda* são os seus hospedeiros. Inicialmente as populações desta praga no mundo eram descritas como geneticamente homogêneas, possuindo grande capacidade em variar de ambientes e de hospedeiros. No entanto, em populações de *S. frugiperda* nos EUA foram encontradas raças associadas à cultura do milho e do arroz (PASHLEY et al. 1985; PASHLEY, 1986; PASHLEY et al. 1987). Existem diversos trabalhos mostrando variações no efeito de diferentes hospedeiros na viabilidade e desenvolvimento destas raças (PASHLEY, 1986; PASHLEY, 1988; WHITFORD et al. 1992; PASHLEY, 1995), sendo observadas também diferenças na suscetibilidade destas à inseticidas (MCCORD; YU, 1987; ADAMCZYK et al. 1997; YU, 1999). A existência de raças de *S. frugiperda* associadas às culturas do milho e do arroz também foi confirmada no Brasil (BUSATO et al. 2004; BUSATO et al. 2005; NAGOSHI et al. 2007; MACHADO et al. 2008). No entanto, em outros sistemas de produção de grande complexidade ecológica, como os plantios de milho e algodão na região centro-oeste do Brasil, foi observado um substancial fluxo gênico e uma baixa variabilidade entre

populações coletadas nas duas culturas, não existindo estruturação das populações ligadas às plantas de milho e de algodão (MARTINELLI et al. 2006). Portanto, para que haja um manejo eficiente de *S. frugiperda* é necessário conhecer a complexidade genética e conseqüente estruturação de populações desta praga, sendo estes resultados de eventos como migração, seleção, mutação, deriva genética, padrões de seleção de parceiros para acasalamento e fluxo gênico (RODERICK, 1996).

2.2 Resistência de *S. frugiperda* a inseticidas

O uso não planejado de inseticidas tem favorecido a evolução da resistência de *S. frugiperda* às principais classes de inseticidas em diversos países (YU et al., 2003). O primeiro relato de resistência de *S. frugiperda* foi feito por Young e McMillian (1979), em que uma população coletada na cultura do milho no estado da Flórida nos EUA apresentava resistência a carbaryl. McCord e Yu (1987) demonstraram que a população havia desenvolvido resistência a carbaryl por aumento da destoxificação metabólica. Posteriormente, a resistência de *S. frugiperda* foi detectada para diversas outras classes de inseticidas. Yu (1991) identificou razões de resistência de 2 a 216 vezes para piretróides, 2 a 271 vezes para fosforados e de 192 vezes para carbamatos. Altas razões de resistência foram observadas em populações de campo a fluvalinate, parathion-methyl e carbaryl (YU, 1992). A destoxificação de inseticidas por atividade de enzimas, tais como oxidases microsossomais, glutathione-S-transferases e hidrolases foram identificadas como os mecanismos responsáveis por conferir altos níveis de resistência nestas populações, sendo encontrados também indícios de insensibilidade do sítio de ação (YU, 1991, 1992) que foram confirmados por Yu; Nguyen e Albo-Elghar (2003) e Yu (2006).

A resistência de *S. frugiperda* também foi observada em populações selecionadas em condições de laboratório que apresentaram razões de resistência de 8,4 e 41 vezes a fenvalerate e a lambda-cyhalothrin respectivamente (BREWER et al. 1990; MORRILLO; NOTZ, 2001). No Brasil a resistência também foi confirmada em uma população de *S. frugiperda* ao mesmo piretróide lambda-cyhalothrin, apresentando

razão de resistência de aproximadamente 13 vezes (DIEZ-RODRIGUEZ; OMOTO, 2001).

A coevolução de insetos fitófagos e plantas ao longo de milhões de anos têm levado os insetos a desenvolverem uma grande diversidade de mecanismos contra as defesas químicas das plantas como excreção, seqüestro, degradação, mutação do sítio de ação e resistência comportamental. Dentre estes, a destoxificação mediada por enzimas parece exercer um papel fundamental na degradação de xenobióticos, atuando tanto no metabolismo de toxinas de plantas como no de inseticidas. Em geral, a degradação de xenobióticos por enzimas é mediada por três superfamílias: monoxigenases dependentes do citocromo P-450 (P450s ou CYPs), glutathione S-transferases (GSTs) e carboxilesterases (COEs) (DESPRÉS; DAVID; GALLET, 2007). Dentre estas, as P450s tem sido intensamente estudadas e parecem ser a família de maior importância na interação de insetos com xenobióticos (FEYEREISEN, 2005).

Em lepidópteros uma grande quantidade de casos de resistência a inseticidas é resultado da maior atividade enzimática, caracterizada como destoxificação metabólica. Dentre todas as espécies de lepidópteros, *Plutella xylostella* (L.) destaca-se pela quantidade de casos de resistência mediados por este mecanismo (TALEKAR; SHELTON, 1993). O inseto é reconhecido como a principal praga das crucíferas causando grandes prejuízos em todo o mundo. No entanto, esta família de plantas possui mecanismos de defesa contra insetos que consiste na co-secreção de glucosinolatos e mirosinase (uma enzima específica) que são armazenadas separadamente em células especiais. Após a ocorrência de dano ao tecido, a enzima hidrolisa os glucosinolatos em produtos altamente tóxicos a insetos, tais como isotiocianato. Deste modo, a praga apresenta mecanismos bioquímicos que possibilitam a praga de se alimentar sem sofrer intoxicação (RATZKA et al. 2002). Os mesmos mecanismos bioquímicos responsáveis pela degradação desses aleloquímicos também atuam na degradação de diversos inseticidas em populações resistentes dessa praga. Estes mesmos mecanismos são observados em outras espécies de lepidópteros como, por exemplo, *Spodoptera littoralis* (Fabricius) resistentes a piretróides por aumento da atividade de glutathione S-transferases e *Helicoverpa armigera* (Hübner) com altas razões de resistência ao mesmo grupo de inseticida na Austrália, Ásia e África

mediadas por aumento da atividade de oxidases (YANG et al. 2004; HUANG; HAN, 2007). Portanto, pragas polífagas como *S. frugiperda* adquiriram ao longo de sua história evolutiva uma imensa carga genética, o que tornam estes insetos capazes de se adaptarem a qualquer xenobiótico a que forem expostos. Assim é provável que em uma população tratada por inseticidas exista um gene específico para destoxificação por enzimas e/ou de alteração do sítio de ação do inseticida irão ser selecionados e, conseqüentemente, aumentados a cada geração (FFRENCH-CONSTANT et. al. 2004). Para que exista um eficiente manejo de *S. frugiperda* de modo a retardar ao máximo a resistência em populações é necessário que haja um planejamento prévio, fazendo uso da rotação de produtos com diferentes mecanismos de ação.

2.3 Spinosinas

Na década de oitenta, amostras de solo coletadas em uma ilha do Caribe apresentaram efeito inseticida em larvas de mosquitos, sendo esse efeito posteriormente confirmado em larvas de *Spodoptera eridania* (Stoll) em condições de laboratório (THOMSPSON, 2000). A atividade inseticida havia sido provocada por substâncias produzidas por uma nova espécie de actinomiceto de solo, *Saccharopolyspora spinosa* Merts E Yao, que a partir de uma fermentação produz uma série de moléculas com atividade inseticida, chamadas posteriormente de spinosinas (MERTS; YAO, 1990; SPARKS et. al., 1995). Spinosad é o primeiro membro do grupo dos Naturalyte®, desenvolvido pela Dow AgroSciences, tendo em sua composição principal duas moléculas com ação inseticida, spinosinas A (≈85%) e D (≈15%). A ingestão e o contato com spinosad resultam em alta atividade inseticida em um grande número de espécies de pragas, principalmente das ordens Diptera e Lepidoptera e em algumas espécies de Coleoptera, Orthoptera e Thysanoptera o que torna este inseticida uma importante ferramenta em programas de manejo de pragas (SPARKS, 2005; CROUSE et al. 2001; THOMPSON et al. 2000; SALGADO et al., 1998).

Desde a descoberta das spinosinas ocorreram grandes avanços na identificação e desenvolvimento de novas moléculas análogas a spinosad. Atualmente mais de vinte cinco tipos de spinosinas têm sido isoladas e identificadas a partir de *S. spinosa*

(CROUSE et al. 2001). Além disso, várias centenas de spinosóides (spinosinas semi-sintéticas) têm sido preparadas em laboratório nos últimos anos (MERGOTT et al. 2004; SALGADO; SPARKS, 2005). Spinetoram (XDE-175) é uma spinosina semi-sintética produzida pela modificação das spinosinas J (maior componente) e L (menor componente). O novo inseticida é produto da fermentação de uma linhagem mutante de *S. spinosa*, obtida a partir da exposição da linhagem normal a um composto mutagênico (HUANG et al. 2009). Quando comparado com spinosad, o spinetoram possui maior atividade inseticida em diversas pragas de importância econômica, com níveis de ecotoxicidade e características ambientais muito semelhantes aos de spinosad (HUANG et al. 2009).

Spinosinas possuem estrutura e mecanismo de ação único, e atuam primariamente nos receptores nicotínicos de acetilcolina e, secundariamente, nos receptores do ácido γ -aminobutírico (GABA) (WATSON, 2001; SALGADO; SPARKS, 2005). No entanto, estudos com o uso de radioligantes revelaram que não foi observada a ligação direta da molécula inseticida com os receptores nicotínicos de acetilcolina nem com os receptores do GABA, e, portanto, este grupo atua no sistema nervoso central dos insetos mediante a ligação em subunidades destes receptores ainda desconhecidos (SALGADO et al. 1997; CROUSE et al. 2001). Recentemente, a importância das subunidades que formam os receptores nicotínicos de acetilcolina para a ação de spinosad foi mostrada em uma linhagem de *Drosophila melanogaster* Meigen, que se apresentava altamente resistente a spinosad com a deleção do gene *D α 6*, responsável pela expressão de uma dessas subunidades (PERRY et al. 2007). Estes receptores no sistema nervoso central dos insetos, além das spinosinas, também são os alvos primários de outros inseticidas, tais como neonicotinóides (SCHROEDER; FLATTUM, 1984), nicotina e análogos, cartap e outras moléculas derivadas da estrutura de nereistoxina (ELDEFRAWI et al. 1986), porém, atuando nesses receptores de forma diferenciada. Com base na forma de atuação das spinosinas nos receptores nicotínicos de acetilcolina o “Insecticide Resistance Action Committee” (IRAC) classificou essas moléculas como um novo grupo de inseticidas (grupo 5), conhecidos como ativadores alostéricos dos receptores nicotínicos de acetilcolina (IRAC, 2008). Deste modo, este grupo com mecanismos de ação únicos representa uma importante ferramenta em

programas de manejo integrado de pragas, principalmente no manejo da resistência de pragas a pesticidas que prioriza a rotação com moléculas que não apresentam resistência cruzada, visto que mudanças nos sítios de ação de outros inseticidas (por exemplo, acetilcolinesterase e sensibilidade dos canais de sódio) não resultariam em resistência cruzada com este grupo (SHONO; SCOTT, 2003; SCOTT, 2008).

2.4 Resistência de pragas a spinosad

Em apenas doze anos de utilização de spinosad, algumas espécies dessas pragas já evidenciaram grande potencial de evolução da resistência a esse inseticida em todo o mundo. O primeiro caso de resistência foi detectado somente dois anos e meio após o início da comercialização de spinosad nos EUA em 1997, onde uma população de *Plutella xylostella* (L.) no Havaí apresentou razão de resistência de 1340 vezes (MAU, 2001; ZHAO et al. 2002). A evolução da resistência de uma população em um pequeno intervalo de tempo foi resultado da combinação de condições favoráveis impostas pelo ambiente da ilha (MAU 2001). Em lepidópteros foram registrados casos de resistência em diversas espécies de importância econômica. Como exemplo pode ser citado *Spodoptera exigua* (Hübner), uma praga polífaga amplamente distribuída no mundo atacando diversas culturas de importância econômica. Populações de campo dessa praga nos EUA apresentaram baixas razões de resistência, em torno de 5,5 vezes, enquanto que na Tailândia uma população de campo se mostrou 85 vezes menos suscetível comparada a uma população de laboratório (MOULTON et al., 2000). No México, populações de campo de *S. exigua* foram 16 a 37 vezes menos suscetíveis a spinosad quando comparada a uma população de laboratório (OSORIO et al. 2008). O potencial de *S. exigua* em desenvolver resistência a spinosad foi confirmado em condições de laboratório onde uma população apresentou razão de resistência de 341 vezes após cinco ciclos de seleção (WANG et al. 2006). Em *Heliothis virescens* (Fabricius), a seleção da resistência a spinosad por ingestão de dieta contaminada com esse inseticida resultou em uma população com razão de resistência de 317 vezes e por aplicação tópica em 1070 vezes (YOUNG et al., 2003). No Havaí, a seleção de *Plutella xylostella* (L.) com discos de folha de crucífera contaminados com spinosad resultaram em uma população de 18600 vezes menos suscetível comparada a uma

população de laboratório (ZHAO et al., 2002). Outras espécies de lepidópteros como *Helicoverpa armigera* (Hübner) na Ásia e na Austrália já apresentaram resistência a spinosad (GUNNING; BALFE, 2002; KRANTHI et al., 2000).

A resistência de pragas a spinosad não fica restrita apenas a ordem Lepidoptera. Populações de *Frankliniella occidentalis* (Pergande) apresentaram resistência ao produto na Austrália e na Espanha. Populações avaliadas na Espanha foram expostas a mais de dez aplicações do inseticida por ciclo da cultura em casas de vegetação e apresentaram altos níveis de resistência com razão de resistência maior que 13500 vezes (HERROM; JAMES, 2005; BIELZA et al. 2007). Em coleópteros, os níveis de resistência registrados foram relativamente baixos comparados com o de outras ordens, como em *Leptinotarsa decemlineata* (Say) apresentando razões de 8 a 10 vezes. Em dípteros a capacidade de espécies pertencentes a essa ordem em desenvolver resistência a spinosad foi observada em populações de *Liriomyza trifolii* (Burgess) coletadas em casas de vegetação na Califórnia e em populações selecionadas artificialmente em laboratório de *Bactrocera dorsalis* (Hendel) e *Musca domestica* (L.) que apresentaram razões de resistência de 408 e 150 vezes respectivamente (FERGUSON, 2004; SCOTT, 2008).

Na grande maioria dos casos, a adição de sinergistas não resultou na reversão total da suscetibilidade a spinosad, evidenciando que a destoxificação metabólica não é o único mecanismo responsável pela resistência a spinosad, sendo a insensibilidade do sítio de ação apontada por vários autores como a causa de altas razões de resistência em populações de diversas espécies (YOUNG et al., 2000; SHONO; SCOTT, 2003; BIELZA et al., 2007). No entanto, devido à natureza da resistência de pragas a spinosad tem se observado a ausência ou baixos níveis de resistência cruzada com outros grupos de inseticidas, com algumas exceções como em populações de *Bactrocera dorsalis* (Hendel) resistentes a carbamatos, organofosforados e piretróides por mecanismos desconhecidos, apresentando até 1000 vezes de resistência cruzada com spinosad (HSU; FENG, 2006). Portanto, as spinosinas podem ser utilizadas como uma ferramenta efetiva na estratégia de rotação de produtos em programas de manejo da resistência (WEI et al., 2001; ZHAO et al., 2002; ARORA, 2003; SHONO; SCOTT, 2003; TEMARAK 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e criação de *S. frugiperda*

Uma população suscetível de referência (denominada SUS) foi obtida na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG, e mantida em laboratório na ausência de pressão de seleção com inseticidas por várias gerações. As populações de *S. frugiperda* oriundas de campo foram coletadas nas culturas de milho nas safras agrícolas de 2005/2006, 2006/2007 e 2007/2008 em sete regiões agrícolas do Brasil situadas em diferentes estados (Tabela 1). Cerca de 300 lagartas foram coletadas em campo e acondicionadas em placas plásticas com oito células, cada uma preenchida com 2,25 mL de dieta artificial à base de feijão, germe de trigo e levedura de cerveja. Posteriormente, as placas contendo as lagartas foram acondicionadas em caixas de isopor e enviadas para o Laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas da ESALQ/USP.

A criação de *S. frugiperda* foi conduzida mediante a utilização de dieta artificial e de acordo com o método apresentado por Parra (2001). As pupas obtidas a partir de lagartas coletadas no campo foram retiradas da dieta e tratadas com solução de sulfato de cobre a 10% para desinfecção. Após a emergência dos adultos, cerca de 15 casais foram transferidos para cada gaiola de tubo de PVC (cloreto de polivinila) de 10 cm de diâmetro por 20 cm de altura, recobertas internamente com papel jornal. Para a alimentação dos adultos foram colocados copos plásticos com algodão embebido com solução de mel a 10% no interior das gaiolas para acasalamento e oviposição. Os adultos foram mantidos em sala de criação à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de 70% e fotofase de 14 horas. A cada dois dias o revestimento de papel jornal das gaiolas e os copos plásticos contendo alimento para os adultos foram trocados. As posturas contidas no papel jornal foram recortadas e acondicionadas em copos plásticos transparentes (volume de 100 mL) contendo papel filtro umedecido com água, para a manutenção da umidade interna, e mantidos em câmara de germinação com temperatura regulada para 20°C e fotofase de 14 horas até o momento da eclosão dos neonatos. Para cada população, os neonatos foram divididos em dois lotes, sendo um

destinado para produção de lagartas de terceiro instar para os bioensaios e outro para a manutenção da população. Para os bioensaios, os neonatos foram transferidos com auxílio de um pincel para copos plásticos transparentes contendo 30 mL de dieta artificial. Para a manutenção das populações cerca de 100 larvas de primeiro instar de cada população foram inoculadas semanalmente em copos plásticos (50 mL) contendo dieta artificial.

Tabela 1 - Procedência, data de coleta e código das populações de *S. frugiperda* coletadas na cultura do milho em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008 e coordenadas geográficas

Região	Município	Data de Coleta	Código da população	Latitude	Longitude
Bahia	L. E. Magalhães	02/2006	BA-1	12° 5'57.86"S	45°47'53.74"O
	Barreiras	07/2007	BA-2	12° 8'53.43"S	44°59'32.92"O
	L. E. Magalhães	08/2008	BA-6	12° 8'53.43"S	44°59'32.92"O
Goiás	Rio Verde	03/2006	GO-1	16°40'47.71"S	49°15'18.12"O
	Rio Verde	06/2007	GO-4	17°47'49.92"S	50°54'0.04"O
	Rio Verde	04/2008	GO-5	17°47'49.92"S	50°54'0.04"O
Mato Grosso	Rondonópolis	08/2006	MT-1	16°28'16.65"S	54°38'13.57"O
	Rondonópolis	04/2007	MT-2	16°28'16.65"S	54°38'13.57"O
	P. do Leste	03/2008	MT-4	15°33'35.06"S	54°17'49.93"O
Minas Gerais	Paracatu	08/2007	MG-1	17°13'21.02"S	46°52'30.89"O
	Paracatu	07/2008	MG-2	17°13'21.02"S	46°52'30.89"O
	Paracatu	09/2008	MG-3	17°13'21.02"S	46°52'30.89"O
São Paulo	Casa Branca	05/2006	SP-1	21°46'12.28"S	47° 5'30.75"O
	Mococa	08/2007	SP-3	21°28'14.98"S	47° 0'2.05"O
	Casa Branca	02/2008	SP-5	21°46'12.28"S	47° 5'30.75"O
Paraná	Ivaí	09/2006	PR-1	24°59'16.01"S	50°52'9.85"O
	Ivaí	03/2007	PR-3	24°59'16.01"S	50°52'9.85"O
	Pronta Grossa	02/2008	PR-4	25° 5'40.37"S	50° 9'47.83"O
Rio Grande do Sul	Pelotas	10/2007	RS-1	31°25'39.65"S	52°22'35.63"O
	Pelotas	03/2008	RS-2	31°25'39.65"S	52°22'35.63"O

3.2 Procedimentos para bioensaios toxicológicos

Foi utilizado como bioensaio padrão de ingestão mediante o tratamento superficial de dieta artificial com inseticida. Cada célula da placa plástica (Costar®, Cambridge, Massachusetts, EUA), contendo um total de 24 células, foi preenchida com 1,25 mL de dieta artificial e mantidas em câmara de fluxo laminar com luz ultravioleta até a geleificação da dieta.

Os inseticidas testados foram spinosad (Tracer®) (480 g I.A./L) e spinetoram (XDE-175) (240 g I.A./L). As diferentes concentrações dos inseticidas foram obtidas mediante a diluição em água de osmose reversa com adição de 0,1% (v/v) do surfactante Triton® a cada concentração testada. Com auxílio de uma micropipeta foram transferidos 30 µL da solução inseticida para cada célula da placa com a concentração a ser testada. As placas do tratamento testemunha receberam apenas surfactante a 0,1% (v/v). Após a contaminação da superfície da dieta com inseticida, as placas foram mantidas em câmara de fluxo laminar até a secagem da solução inseticida. Posteriormente, uma lagarta de 3º instar foi transferida para cada célula com o auxílio de uma pinça. As placas foram mantidas em câmaras climatizadas com temperatura de 25±2°C e fotofase de 14 horas até o momento da avaliação. As avaliações foram efetuadas após 48 horas da transferência das lagartas para as placas. Foram considerados mortos os indivíduos que ao serem tocados com a ponta de um estilete nos últimos segmentos abdominais não respondiam com movimentos coordenados.

3.3 Caracterização da linha-básica de suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinosad e spinetoram

Para a caracterização da linha-básica de suscetibilidade da população suscetível de referência de *S. frugiperda* aos inseticidas spinosad e spinetoram foram utilizadas de seis a sete concentrações espaçadas logaritmicamente entre 0,18 e 56 µg de I.A./mL de água [I.A.(ppm)], obtidas a partir da diluição dos inseticidas spinosad (480 g de I.A./L) e spinetoram (240 de g I.A./L) em água de osmose reversa, que resultaram em

mortalidades na população suscetível de referência na faixa de 5 a 99%. A caracterização da linha de concentração-resposta a spinosad foi realizada também para as populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra de 2006/2007 (Tabela 1). Os bioensaios foram repetidos de quatro a seis vezes, sendo testadas no mínimo 96 lagartas por concentração. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit com o programa POLO-PC (LEORA SOFTWARE, 1987). A partir da análise do programa foram estimados os valores das concentrações letais médias (CL_{50}) com seus intervalos de confiança (IC 95%) e coeficientes angulares. Após a caracterização da linha básica de suscetibilidade da população suscetível de referência a spinosad e spinetoram, foram definidas como concentrações diagnósticas a serem utilizadas no monitoramento da suscetibilidade de populações de campo as CL_{95} e CL_{97} para spinosad e as CL_{95} e CL_{99} para spinetoram como proposto por French-Constant e Roush (1990). A razão de resistência (RR) para as populações de *S. frugiperda* coletadas no campo foi obtida a partir da divisão das CL_{50} das populações de campo pela CL_{50} da população suscetível de referência (SUS).

3.4 Avaliação da variabilidade geográfica e temporal da suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinosad no Brasil

Para a avaliação da suscetibilidade de populações de *S. frugiperda* a spinosad foi feito o monitoramento da suscetibilidade de populações de sete regiões do Brasil por três safras consecutivas (2006-2008) (Tabela 1). O monitoramento foi realizado por meio de bioensaios de ingestão (item 3.2) utilizando duas concentrações diagnósticas de spinosad equivalentes a CL_{95} e CL_{97} da população suscetível de referência (SUS) (32 e 56 μg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)]) definidas a partir da linha básica de suscetibilidade da população SUS. Para cada população, foram realizados de quatro a seis repetições para cada concentração diagnóstica, sendo cada repetição composta por quatro placas (24 lagartas por placa). Os dados de porcentagem de sobrevivência média ($\bar{x}$) obtidos no monitoramento da suscetibilidade foram submetidos à transformação por arcsen ($\sqrt{x/100}$) e submetidos à análise de variância (ANOVA) obedecendo ao esquema fatorial com interação. Foram consideradas na análise como

fontes de variação a região e a safra de coleta das populações. Os dados de sobrevivência de todas as regiões e a safra de coleta das populações estudadas foram submetidos à análise discriminatória de variáveis canônicas pelo procedimento PROC CANDISC do SAS (SAS INSTITUTE, 1997) com o objetivo de avaliar associações lineares nas respostas das diferentes regiões do Brasil. O nível de significância dos testes foi de $\alpha = 0,05$.

3.5 Seleção da resistência de *S. frugiperda* a spinosad

A linhagem resistente a spinosad foi obtida a partir da seleção de uma população coletada no município de Paracatu-MG (MG-1) na safra de 2006/2007 (Tabela 1). A população apresentou alta sobrevivência às concentrações diagnósticas de spinosad e uma alta razão de resistência (item 3.1). O primeiro ciclo de seleção consistiu na exposição de cerca de 1500 indivíduos da população (MG-1) a CL_{99} da população suscetível de referência. Após 48 horas, os indivíduos que apresentaram movimentos coordenados, quando tocados com a ponta de um estilete nos últimos segmentos abdominais, foram resgatados das placas de bioensaio e transferidos para recipientes contendo dieta artificial não contaminada, onde foram mantidos até a fase de pupa. Nos ciclos de seleção posteriores foram realizados bioensaios prévios para a definição de uma concentração que proporcionasse mortalidades superiores a 90% na população selecionada. Para a avaliação da resposta da população à pressão de seleção foram obtidas curvas de concentração-mortalidade a spinosad (Item 2.3) no terceiro e quinto ciclo de seleção. A população obtida após 5 ciclos de seleção foi definida como a população resistente a spinosad (Spinosad-R). Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit com o programa POLO-PC (LEORA SOFTWARE, 1987). Foram estabelecidas as concentrações letais cinquenta (CL_{50}) com seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%) e coeficientes angulares. A razão de resistência (RR) foi obtida a partir da divisão da CL_{50} da população Spinosad-R pela CL_{50} da população suscetível de referência (SUS).

3.6 Resistência cruzada entre spinosinas

Para avaliar o potencial de *S. frugiperda* de resistência cruzada entre spinosad e spinetoram, foi realizada a caracterização da suscetibilidade das linhagens suscetível (SUS) e resistente (Spinosad-R) para os dois inseticidas, como descrito nos item 3.4. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit com o programa POLO-PC (LEORA SOFTWARE, 1987). Foram estabelecidas as concentrações letais médias (CL_{50}) com seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%) e coeficientes angulares.

Para a avaliação de resistência cruzada entre spinosinas em populações de campo foi feito o monitoramento da suscetibilidade em seis populações coletadas em diferentes regiões do país com a concentração diagnóstica de spinetoram equivalente a CL_{99} da população suscetível de referência (SUS) ($10 \mu\text{g}$ de spinetoram/mL de água [l.A.(ppm)]) definida previamente a partir da curva de concentração-mortalidade da população suscetível de referência. Os dados de sobrevivência das seis populações ao spinetoram foram relacionados com os dados de sobrevivência do monitoramento das mesmas populações nas concentrações diagnósticas de spinosad pelo teste de Pearson com o programa SAS (SAS INSTITUTE, 1997). O nível de significância do teste foi de $\alpha = 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização de linha-básica de suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinosad e spinetoram

Na caracterização da suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinosad foram testadas 768 lagartas da população suscetível de referência (SUS). A CL_{50} estimada para a população SUS foi de 6,90 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] (I.C. 95% 5,01-9,42) com coeficiente angular ($\pm$ erro padrão) de 1,76 ($\pm$ 0,11), χ^2 de 18,38 [graus de liberdade (g.l.) =6; ($P > 0,05$)] e heterogeneidade de 3,06. Para o monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* foram definidas, com base na curva de concentração-mortalidade da população SUS, as concentrações de 32 e 56 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] como concentrações diagnósticas para o monitoramento da resistência. A concentração de 32 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] resultou em uma mortalidade nos indivíduos da população SUS testados de aproximadamente 95% (CL_{95}), enquanto que a concentração de 56 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] resultou em uma mortalidade de aproximadamente 97% (CL_{97}). Posteriormente estas concentrações foram utilizadas para o monitoramento da suscetibilidade da praga a spinosad nas três safras avaliadas.

Para a caracterização da suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinetoram foram testadas 624 lagartas da população suscetível de referência (SUS). A CL_{50} estimada foi de 1,15 µg de spinetoram/mL de água [I.A.(ppm)] (I.C. 95% 0,80-1,55) com coeficiente angular ($\pm$ erro padrão) de 2,41 ($\pm$ 0,17), χ^2 de 11,80 [graus de liberdade (g.l.) =4; ($P > 0,05$)] e heterogeneidade de 2,41 (Tabela 2). Para o monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinetoram foram definidas, com base na curva de concentração-mortalidade da população SUS, as concentrações de 5,6 e 10 µg de spinetoram/mL de água [I.A.(ppm)] como concentrações diagnósticas a serem utilizadas. A concentração de 5,6 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] resultou em uma mortalidade nos indivíduos da população SUS testados de aproximadamente 97% (CL_{97}), enquanto que a concentração de 10 µg de spinetoram/mL de água [I.A.(ppm)] resultou em uma mortalidade de aproximadamente 99% (CL_{99}) (Tabela 2). Estas concentrações foram

utilizadas posteriormente no monitoramento da suscetibilidade de populações coletadas em seis diferentes regiões do Brasil.

Com a caracterização da linha-básica de suscetibilidade dos indivíduos da população SUS a spinosad e spinetoram, por meio de bioensaios de ingestão, foi observada que a toxicidade de spinetoram em *S. frugiperda* foi seis vezes maior quando comparada com a de spinosad. A maior atividade inseticida de spinetoram também foi observada em outras espécies de insetos praga, como *Heliothis virescens* (Fabricius) e *Cydia pomonella* (L.) com toxicidade de 6 e 4,3 vezes maiores comparadas a spinosad respectivamente (SPARKS et al., 2008). O coeficiente angular apresentado pela curva de concentração-mortalidade para spinetoram foi significativamente maior comparado com o coeficiente da curva obtida para spinosad (Tabela 2). Biologicamente o maior valor do coeficiente angular pode ser interpretado como um indicador de homogeneidade genotípica da população testada, o que era esperado, já que o inseticida nunca foi utilizado para o controle de pragas no Brasil (HOSKINS; GORDON, 1956). É de grande importância para o manejo da resistência de pragas determinação da suscetibilidade básica de uma praga a um inseticida antes que este seja liberado para comercialização. Assim é possível realizar o acompanhamento e a identificação de alterações significativas na suscetibilidade de populações da praga ao longo dos anos (ROUSH; MILLER, 1986).

Tabela 2 - Resposta de concentração-mortalidade a spinosad e spinetoram para a população de *S. frugiperda* suscetível de referência (SUS)

Produto	n ^a	CL ₅₀ ^b (95% de I.C)	Coeficiente angular (± erro padrão)	χ^2	g.l ^c
Spinosad	768	6,90 (5,014 – 9,429)	1,766 (± 0,113)	18,38	6
Spinetoram	624	1,15 (0,809 – 1,553)	2,413 (± 0,175)	11,80	4

a/ Número de lagartas testadas

b/ µg de I.A./mL de água

c/ Graus de liberdade

Com a obtenção da linha-básica de suscetibilidade de populações de *S. frugiperda* oriundas de diferentes regiões do Brasil foi observada a existência de diferenças significativas na suscetibilidade a spinosad em quatro das seis regiões avaliadas (Tabela 3). Apenas as CL₅₀s das populações coletadas nos estados do Paraná e de São Paulo não diferiram significativamente da CL₅₀ da população SUS, verificando-se a sobreposição dos intervalos de confiança com os valores da população suscetível de referência. As populações dos estados de Minas Gerais e da Bahia apresentaram a menor suscetibilidade a spinosad, diferido significativamente de todas as outras regiões, com a CL₅₀ para a população de Minas Gerais estimada em 81,66 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] (I.C. 95% 70,91-94,09) com coeficiente angular ($\pm$ erro padrão) de 2,12 ($\pm$ 0,14), razão de resistência (RR) de aproximadamente 12 vezes. Para a população da Bahia, a CL₅₀ foi estimada em 45,70 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] (I.C. 95% 38,31-54,32) e coeficiente angular ($\pm$ erro padrão) de 1,49 ($\pm$ 0,56), com razão de resistência (RR) de aproximadamente 7 vezes. Os valores de CL₅₀ dos demais estados não diferiram significativamente entre si, sendo observada a sobreposição dos seus intervalos de confiança, onde no geral foram observados baixos valores de razão de resistência (Tabela 3).

Os baixos níveis de resistência observados com as curvas de concentração-mortalidade para a maioria dos estados podem não expressar a real situação de suscetibilidade das populações de *S. frugiperda* a spinosad no Brasil. De modo que a alta suscetibilidade observada em muitas regiões com as curvas de concentração-mortalidade pode ser atribuída à ineficiência da metodologia utilizada em discriminar os indivíduos resistentes dentro da população, possivelmente devido à natureza recessiva do padrão de herança da resistência de pragas a spinosad (DEACUTIS et al., 2007). Programas de monitoramento da suscetibilidade, tradicionalmente, se baseiam em comparações de concentrações letais e coeficientes angulares de curvas de concentração-mortalidade estimadas para diferentes populações de insetos praga (TWINE; REYNOLDS, 1980). No entanto, em ocasiões em que o programa de monitoramento tem caráter preventivo, a comparação de concentrações letais e de coeficientes angulares pode ser ineficiente para detectar a resistência porque a frequência de resistência na população ainda é muito baixa (ROUSH; MILLER, 1986).

Tabela 3 - Resposta de concentração-mortalidade a spinosad em populações de *S. frugiperda*

População	n ^a	CL ₅₀ (µg de I.A./mL água) ^b (95% de I.C)	Coefficiente angular (± erro padrão)	χ^2	g.l. ^c	RR ^d (5% I.C)
SUS	768	6,9 (5,0 - 9,4)	1,7 (±0,11)	18,38	6	—
PR	600	10,5 (5,3-18,2)	1,9 (±0,13)	10,23	4	1,52
GO	768	11,9 (10,1-14,1)	1,4 (±0,42)	3,98	6	1,73
SP	576	15,2 (5,7-36,8)	1,5 (±0,10)	19,23	4	2,21
MT	576	15,7 (11,7-21)	2,0 (±0,13)	7,39	4	2,28
BA	672	45,7 (38,3-54,3)	1,4 (±0,56)	2,22	5	6,62
MG	576	81,6 (70,9 - 94,0)	2,1 (±0,147)	0,72	4	11,83

a/ Número de lagartas testadas

b/ µg de spinosad/mL de água

c/ Graus de liberdade

d/ Razão de resistência: CL₅₀ da população resistente/ CL₅₀ da população suscetível de referência

Figura 1 - Linhas de concentração-resposta a spinosad em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra de 2006/2007

4.2 Avaliação da variabilidade geográfica e temporal da suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinosad no Brasil

O monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinosad evidenciou a existência de diferenças significativas entre as sobrevivências das populações de diferentes regiões do Brasil às duas concentrações diagnósticas testadas. Para a concentração diagnóstica de 32 μg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] equivalente à CL_{95} da população suscetível de referência foi observada diferença significativa entre as médias de sobrevivência das populações coletadas em diferentes regiões nas três safras avaliadas (2006-2008) ($F_{12; 79} = 11,88$; $P < 0,0001$). A região dos estados de Minas Gerais e da Bahia apresentaram a menor suscetibilidade a spinosad, com média de sobrevivência de 83,6% e 56,4% respectivamente (Figura 2). Para a concentração

diagnóstica de 56 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] equivalente à CL₉₇ da população suscetível de referência também foi observada diferença significativa entre as médias de sobrevivência das populações de diferentes regiões nas três safras avaliadas ($F_{12, 77} = 12,63$; $P < 0,0001$). As maiores porcentagens de sobrevivência também foram observadas com esta concentração diagnóstica para os estados de Minas Gerais e da Bahia com médias de 74,4% e 45,5% respectivamente, não tendo os demais estados diferidos estatisticamente no teste de separação de médias (Figura 3). Com resposta das populações as concentrações diagnósticas em três safras de avaliação houve uma maior discriminação entre a suscetibilidade das populações quando comparada com a metodologia de curvas de concentração-mortalidade (Figura 3 e 4). Em programas de monitoramento em que a frequência da resistência ainda é muito baixa, a comparação da CL₅₀ pode ser ineficiente para detectar mudanças na suscetibilidade. Nestes casos o uso de concentrações diagnósticas pode ser mais eficiente, pois um maior número de indivíduos é amostrado apenas nas concentrações capazes de informar sobre a suscetibilidade de uma população de uma praga, tendo os resultados mais rápidos e precisos (ROUSH; MILLER, 1986).

Figura 2 - Porcentagem de sobrevivência média (erro padrão médio) à CL_{95} da população suscetível de referência ($32 \mu\text{g}$ de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)]) em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$)

Figura 3 - Porcentagem de sobrevivência média (erro padrão médio) à CL₉₇ da população suscetível de referência (56 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)]) em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$)

Houve diferença significativa entre as médias de sobrevivência das populações de *S. frugiperda* coletadas nas diferentes safras nas concentrações diagnósticas de 32 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] ($F_{8; 83} = 2,31$; $P = 0,0272$) e 56 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] ($F_{8; 81} = 2,02$; $P = 0,05$), sendo observados para ambas concentrações diagnósticas incrementos na sobrevivência a cada safra (Figuras 4 e 5). A diminuição da suscetibilidade observada a cada safra no monitoramento evidencia a seleção de populações resistentes de *S. frugiperda* a spinosad nas regiões do Brasil. No entanto, com análise dos dados é possível observar uma evolução da resistência diferenciada em cada estado, variando de acordo com a região de coleta das populações (Tabelas 4, 5 e 6). A seleção da resistência ao longo das safras é confirmada pela interação positiva das duas variáveis principais (região e safra), resultando diretamente em sobrevivências diferenciadas para as regiões às concentrações diagnósticas equivalentes à CL₉₅ ($F_{23, 68} = 50,15$; $P < 0,0001$) e a CL₉₇

($F_{23, 66} = 54,46$; $P < 0.0001$) da população suscetível de referência. A análise discriminatória canônica foi capaz de capturar as diferenças nos padrões de suscetibilidade das populações de *S. frugiperda* das diferentes regiões nas três safras avaliadas, tendo os dois eixos canônicos apresentando diferenças significativas. Noventa e oito por cento da variação total foram explicadas pelo primeiro eixo canônico, representado pelos valores de sobrevivência, sendo apenas dois por cento da variação explicada pela safra (eixo 1 - $F_{12; 748} = 49,17$; $P < 0.0001$ / eixo 2 - $F_{5; 375} = 2,37$; $P = 0.0390$). O agrupamento gráfico das regiões baseado na Distância de Mahalanobis (D^2) mostra a existência de um grupo formado por quatro regiões, que não diferem estatisticamente na comparação dos valores de D^2 entre pares e de outras três regiões que apresentaram respostas distintas das demais (Figura 6).

Figura 4 - Porcentagem de sobrevivência média (erro padrão médio) à CL_{95} da população suscetível de referência (32 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)]) em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$) de erro representam o erro padrão médio. Médias com a mesma letra não diferem significativamente ($P < 0,05$)

Figura 5 - Porcentagem de sobrevivência média (erro padrão médio) à CL_{97} da população suscetível de referência (56 μ g de spinosad/mL de água [I. A. (ppm)]) em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$)

Figura 6 - Monitoramento da suscetibilidade a spinosad em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil nas safras 2006 a 2008. Os círculos menores representam as médias das classes de variáveis canônicas. O círculo maior representa as regiões que não diferiram estatisticamente na comparação entre pares de médias da distância de Mahalanobis (D2) (teste de F aproximado, $P = 0,05$)

Tabela 4 - Porcentagem média de sobrevivência ($\pm$ erro padrão) a spinosad em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra 2006, com exposição às concentrações equivalentes a CL_{95}^a e CL_{97}^b da população suscetível de referência .

População	Sobrevivência Média (%)			
	n^c	CL_{95}	n^c	CL_{97}
MG-1	496	64,4 ($\pm 2,89$)	499	41,2 ($\pm 2,07$)
BA-1	502	15,7 ($\pm 2,33$)	524	15,0 ($\pm 1,34$)
GO-1	477	13,4 ($\pm 1,66$)	477	6,3 ($\pm 1,40$)
MT-1	502	2,0 ($\pm 0,64$)	504	3, ($\pm 1,43$)
SP-1	546	8,6 ($\pm 1,64$)	539	2,9 ($\pm 1,12$)
PR-1	476	1,5 ($\pm 0,43$)	263	1,5 ($\pm 0,68$)

a/ 32 μ g de spinosad/mL de água

b/ 56 μ g de spinosad/mL de água

c/ Número de lagartas testadas

Tabela 5 - Porcentagem média de sobrevivência ($\pm$ erro padrão) a spinosad em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra 2007, com exposição às concentrações equivalentes a CL₉₅^a e CL₉₇^b da população suscetível de referência .

População	Sobrevivência Média (%)			
	n ^c	CL ₉₅	n ^c	CL ₉₇
MG-2	384	87,7 ($\pm$ 1,68)	432	84,2 ($\pm$ 2,15)
BA-2	372	67,8 ($\pm$ 3,51)	381	42,8 ($\pm$ 4,32)
MT-2	576	42,7 ($\pm$ 1,35)	577	17,8 ($\pm$ 1,16)
SP-2	456	17,5 ($\pm$ 1,29)	456	11,1 ($\pm$ 1,49)
PR-2	501	10,2 ($\pm$ 1,44)	499	4,4 ($\pm$ 0,93)
GO-2	501	14,2 ($\pm$ 1,56)	480	4,9 ($\pm$ 0,86)
RS-2	360	6,4 ($\pm$ 1,9)	356	5,1 ($\pm$ 1,34)

a/ 32 μ g de spinosad/mL de água

b/ 56 μ g de spinosad/mL de água

c/ Número de lagartas testadas

Tabela 6 - Porcentagem média de sobrevivência ($\pm$ erro padrão) a spinosad em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra 2008, com exposição às concentrações equivalentes a CL_{95}^a e CL_{97}^b da população suscetível de referência .

População	Sobrevivência Média (%)			
	n^c	CL_{95}	n^c	CL_{97}
MG-3	310	98,7 ($\pm 0,89$)	312	97,3 ($\pm 0,76$)
BA-3	598	86,7 ($\pm 2,11$)	547	81,8 ($\pm 2,24$)
MT-3	528	42,8 ($\pm 2,661$)	504	19,0 ($\pm 1,809$)
GO-3	624	32,4 ($\pm 3,1$)	624	13,4 ($\pm 1,208$)
PR-3	504	27,9 ($\pm 2,68$)	504	23,6 ($\pm 1,08$)
SP-3	576	24,0 ($\pm 0,86$)	575	12,7 ($\pm 1,05$)
RS-3	384	16,6 ($\pm 2,34$)	456	11,1 ($\pm 1,23$)

a/ 32 μ g de spinosad/mL de água

b/ 56 μ g de spinosad/mL de água

c/ Número de lagartas testadas

A variabilidade nos padrões de suscetibilidade entre as regiões observadas neste trabalho pode ser associada ao sistema de produção agrícola e conseqüente manejo vigente em cada região do Brasil. Como um exemplo de manejo que exerce uma alta pressão de seleção pode ser citada a região de Paracatu, no noroeste do estado de Minas Gerais (Tabela 1). A região que engloba municípios situados no estado de Goiás e no Distrito Federal é reconhecida como uma das maiores áreas irrigadas do Brasil, sendo este município e entorno responsáveis por um grande volume de produção de milho doce e sementes de milho híbrido. Outro exemplo de sistema de produção utilizado no Brasil que exerce alta pressão de seleção é o modelo adotado no oeste do estado da Bahia, englobando os municípios de Barreiras e de Luiz Eduardo Magalhães onde foram coletadas as populações avaliadas. Dentre os sistemas adotados nesta região destaca-se o modelo de produção utilizando a rotação das

culturas do algodão e do milho. Este modelo surgiu como opção em 1995 para substituir a já inviável cultura do feijão irrigado. O plantio nas áreas irrigadas do milho no mês de agosto seguido pelo plantio direto do algodão logo após sua colheita tem resultado em produtividades de até 6.150 Kg/ha de algodão (BRUGNERA, 2006). No entanto, como consequência deste sistema de produção ocorre o problema conhecido como “ilha verde”. Estas áreas situam-se em ambientes onde a disponibilidade de hospedeiros alternativos é escassa, principalmente no inverno seco característico das áreas de cerrado, onde estas regiões se encontram. A sobreposição temporal de culturas hospedeiras nestas regiões durante todo o ano resulta em grandes infestações, tendo a praga condições ideais para o seu desenvolvimento ao longo de todo o ano. Como resultado deste sistema de produção agrícola, verifica-se o aumento do custo de produção, sendo utilizadas hoje nestas regiões mais de vinte aplicações de inseticida por ciclo da cultura do milho, visando o controle de *S. frugiperda*. Como consequência, tem-se um grande aumento na pressão de seleção nas populações destas regiões. Este cenário é caracterizada como o máximo grau de complexidade ecológica em um sistema agrícola (ANDOW, 1991). O conhecimento da intensidade de seleção que a população de uma praga é submetida em um ambiente agrícola é de essencial importância para o delineamento de programas de manejo de resistência de pragas a pesticidas. De acordo com a literatura, as pragas ditas como as 16 mais resistentes atacam culturas de baixa tolerância a seus ataques, necessitando freqüentemente serem controladas, aumentando consequentemente a pressão de seleção (GROETERS; TABASHNIK, 2000). *S. frugiperda* é praga de culturas que possuem relativa baixa tolerância aos seus ataques, como a cultura do algodão, por exemplo, necessitando freqüentemente em um ciclo da cultura de intervenção com métodos de controle populacionais. Do mesmo modo, a alta pressão de seleção em outras pragas da cultura do algodão, como *Heliothis virescens* (Fabricius) e *Helicoverpa armigera* (Hübner), tem resultado na seleção de populações resistentes a diversas classes de inseticidas em todo o mundo. Com os resultados obtidos neste trabalho pode concluir que existe seleção de *S. frugiperda* a spinosad nas principais regiões agrícolas do Brasil, devido ao alto potencial da praga para a evolução da resistência a inseticidas mediante ao manejo que resulta em uma intensa pressão de seleção. Os resultados da

caracterização da suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinosad no Brasil apresentados neste estudo evidenciam a existência de uma grande variabilidade nas respostas de populações das diferentes regiões do país.

4.3 Resposta de *S. frugiperda* à pressão de seleção com spinosad

A população de *S. frugiperda* coletada em Paracatu-MG (MG-1) apresentou resposta à seleção artificial com spinosad em laboratório. Após o primeiro ciclo de seleção com a concentração de 560 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)], houve rápida diminuição da suscetibilidade, sendo que após 5 ciclos de seleção, a razão de resistência (RR) foi de 370,8 vezes (Figura 7). Essa população obtida após 5 ciclos de seleção foi designada como Spinosad-R. Para a caracterização da linha de concentração-resposta da população Spinosad-R foram utilizadas 480 lagartas (Tabela 7). A CL_{50} estimada para a população resistente a spinosad foi de 2559,26 µg de spinosad/mL de água [I.A.(ppm)] (I.C. 95% 1752,7 – 3984,9), com coeficiente angular ($\pm$ erro padrão) de 1,27 ($\pm$ 0,13), χ^2 de 6,94 (Tabela 7). O teste de igualdade e paralelismo entre as curvas de concentração-resposta da população suscetível de referência (SUS) e resistente (Spinosad-R) apresentou diferença significativa nas respostas das populações a spinosad ($\chi^2=4,55$; g.l.=2; $P<0,0001$). Os coeficientes angulares foram significativamente diferentes ($\chi^2=6,06$; g.l.=1; $P=0,014$).

Tabela 7 - Resposta de concentração-mortalidade a spinosad para a população suscetível de referência (SUS) e população resistente a spinosad (Spinosad-R)

População	n ^a	CL ₅₀ (µg de I.A./mL água) ^b (95% de I.C)	Coeficiente angular (± erro padrão)	χ^2	g.l. ^c	RR ^d (95% I.C)
SUS	768	6,90 (5,01 - 9,42)	1,766 (±0,113)	18,3	6	—
Spinosad-R	480	2559,26 (1752,7 – 3984,9)	1,27 (±0,131)	6,94	4	370,86

a/ Número de lagartas testadas

b/ µg de spinosad/mL de água

c/ Graus de liberdade

d/ Razão de resistência: CL₅₀ da população resistente/ CL₅₀ da população suscetível de referência

A resistência de *S. frugiperda* também já havia sido observada em outras populações selecionadas artificialmente em condições de laboratório que apresentaram razões de resistência de 8,4 e 41 vezes a fenvalerate e a lambda-cyhalothrin respectivamente (BREWER et al. 1990; MORRILLO; NOTZ, 2001). A seleção artificial da resistência em diversas outras espécies tem resultado em altas razões de resistência demonstrando o potencial dos insetos na evolução da resistência a spinosad (SCOTT, 2008). Deste modo o uso de spinosad e das novas spinosinas deve ser revisto, visto a grande adaptabilidade dos insetos observada desde o início da comercialização de spinosad.

Figura 7 - Linhas de concentração-resposta a spinosad em populações de *S. frugiperda* suscetível de referência (SUS) e resistente a spinosad (Spinosad-R)

4.4 Resistência cruzada entre spinosad e spinetoram

Para a caracterização da suscetibilidade da população de *S. frugiperda* resistente a spinosad (Spinosad-R) a spinetoram foram utilizadas 480 lagartas. A CL_{50} de spinetoram estimada para a população Spinosad-R foi 49,3 µg de spinetoram/mL de água [I.A.(ppm)] (I.C. 95% 31,2-94,2), com coeficiente angular ($\pm$ erro padrão) de 1,14 ($\pm$ 0,11), χ^2 de 4,93, resultando em uma razão de resistência (RR) de 42,66 vezes (Tabela 8). As populações SUS e Spinosad-R apresentaram respostas distintas a spinetoram com as curvas de concentração resposta, não havendo sobreposição dos intervalos de confiança das CL_{50} estimadas. As curvas de concentração-mortalidade foram consideradas diferentes e não paralelas, sendo rejeitada a hipótese de igualdade ($\chi^2=5,96$; g.l.=2; $P=0,05$) e paralelismo ($\chi^2=48,24$; g.l.=2; $P<0,0001$). Deste modo, foi observada que a seleção da resistência de *S. frugiperda* a spinosad em condições de laboratório resulta em resistência cruzada positiva com spinetoram.

Tabela 8 - Resposta de concentração-mortalidade a spinetoram para a população suscetível de referência (SUS) e população resistente a spinosad (Spinosad-R).

População	n ^a	CL ₅₀ (µg de I.A./mL água) ^b (95% de I.C)	Coefficiente angular (± erro padrão)	χ^2	g.l. ^c	RR ^d (95% I.C)
SUS	624	1,15 (0,80 – 1,55)	2,413 (± 0,175)	11,80	4	-
Spinosad-R	480	49,31 (31,22 – 94,22)	1,14 (±0,112)	4,93	4	42,66

a/ Número de lagartas testadas

b/ µg de spinetoram/mL de água

c/ Graus de liberdade

d/ Razão de resistência: CL₅₀ da população resistente/ CL₅₀ da população suscetível de referência

A resistência cruzada entre as spinosinas também foi confirmada em populações de campo coletadas na safra de 2006/2007 em seis diferentes regiões do Brasil. Foi observada diferença estatística nas respostas destas populações à concentração diagnóstica de spinetoram equivalente à CL₉₉ da população SUS (10 µg de spinetoram/mL de água [I.A.(ppm)]) ($F_{5,30}=6.91$; $P<0.0001$), tendo todas as populações apresentado níveis de sobrevivência a concentração diagnóstica maiores do que o da população suscetível de referência (Figura 4).

Figura 8 - Porcentagem de sobrevivência às concentrações diagnósticas de spinosad e spinetoram (CL_{97} e CL_{99} da população suscetível de referência) em diferentes regiões do Brasil. Valores representam a média das repetições e barras de erro representam o erro padrão médio

O teste de correlação de Pearson entre as médias de sobrevivência obtidas para as seis populações com o monitoramento da suscetibilidade a spinosad e spinetoram apresentou correlação positiva ($r = 0,91$ $P = 0,042$). A resistência cruzada de uma nova molécula inseticida com outra já existente pode trazer graves consequências para a utilização de ambas no controle de pragas. Deste modo a resistência cruzada entre spinosinas no Brasil poderá ser um sério fator limitante no manejo de *S. frugiperda*, havendo a necessidade da implantação de um manejo da resistência a spinosad para o restabelecimento da suscetibilidade nas populações da praga antes da liberação da nova spinosina para o controle de pragas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A grande extensão territorial do Brasil aliada às condições climáticas favoráveis torna a atividade agrícola muito rentável e diversificada. No entanto, o uso de pesticidas dentro de sistemas intensivos de produção de vegetais, como ocorre em muitas regiões do Brasil, requer a implementação conjunta de estratégias para o retardamento da resistência de pragas a estes pesticidas. Com os resultados apresentados neste trabalho pode concluir que o manejo de *S. frugiperda* adotado em muitas regiões do Brasil deve ser revisto, uma vez que os altos níveis de resistência a spinosad apresentados por populações da praga, somada à diminuição da suscetibilidade ao produto observada a cada safra.

Para o retardamento da resistência e até mesmo o restabelecimento da suscetibilidade, é necessário a busca de opções viáveis para o manejo da resistência. Como modelo já implementado com êxito e adaptável às condições brasileiras podem ser mencionadas, por exemplo, as estratégias adotadas na produção de hortaliças da Austrália onde o uso de determinados grupos de inseticidas é restrito a uma determinada época do ano, bem como existência de restrição do número de aplicações por ciclo da cultura, o que vem retardado a evolução a resistência de *P. xylostella* a vários inseticidas (VICKERS et al., 2001). No entanto, para que seja possível implantar estratégias desta magnitude às nossas condições, é necessário levar em consideração o pequeno número de grupos de pesticidas registrados para o controle de *S. frugiperda* no Brasil. A isso se soma a existência de relatos de falhas no controle da praga de grupos tradicionais como piretróides, organoforados e até mesmo grupos mais recentes como os inibidores de biosíntese de quitina, o que pode também ser resultado do desenvolvimento da resistência da praga a estes grupos.

Para o manejo da resistência de *S. frugiperda* a inseticidas no Brasil, uma nova ferramenta de controle foi aprovado recentemente, ou seja, as culturas geneticamente modificadas que expressam toxinas de *Bacillus thuringiensis* Berliner, conhecidas como culturas Bt. É esperado que a conseqüente diminuição do uso de inseticidas para o controle de pragas resultante do uso de culturas geneticamente modificadas resulte na reversão da suscetibilidade da praga a inseticidas, como reportado na região nordeste

da China, que após oito anos de uso de algodão geneticamente modificado (algodão *Bt*) para o controle de *H. armigera* houve reversão da resistência a lambda-cyhalothrin e endosulfan (WU, 2005). Deste modo, é necessária implementação de estratégias por parte das empresas e das agências do governo visando à rotação de grupos de pesticidas bem como a diminuição do número de aplicações para que em conjunto ao crescimento das culturas *Bt* seja possível o restabelecimento da suscetibilidade em populações de *S. frugiperda* a inseticidas no Brasil.

A caracterização da suscetibilidade de *S. frugiperda* a spinetoram juntamente com a definição de concentrações diagnósticas antes do início da comercialização do inseticida viabiliza o monitoramento da suscetibilidade da praga ao longo dos anos, tornando possível a identificação de pequenas mudanças na suscetibilidade devido à evolução da resistência. A existência de resistência cruzada entre spinosad e spinetoram em populações da praga deve ser levada em consideração no manejo da resistência, buscando também a identificação do(s) mecanismo(s) responsável (eis) pela resistência da praga aos produtos deste grupo.

6 CONCLUSÕES

- Há variabilidade geográfica e temporal na suscetibilidade a spinosad entre as populações de *Spodoptera frugiperda* no Brasil;
- Há resposta à pressão de seleção de *S. frugiperda* com spinosad em condições de laboratório;
- Há resistência cruzada entre spinosad e spinetoram nas populações de *S. frugiperda* avaliadas.

REFERÊNCIAS

ADAMCZKY, J.R.; HOLLOWAY, J.W.; LEONARD, B.R.; GRAVES, J.B. Susceptibility of fall armyworm collected from different plant hosts to selected insecticides and transgenic Bt cotton. **Journal of Cotton Science**, Memphis, v. 1, p. 21-28, 1997.

ANDOW, D.A. Vegetational diversity and arthropod population response. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.36, p. 561-586, 1991.

AMICIS, C.V. de; DRIPPS, C.V.; HATTON, J.E.; KARR, J. Physical and biological properties of the spinosyns: Novel macrolide pest-control agents from fermentation. In: P. A. HEDIN, R. M. HOLLINGWORTH, E. P. MASLER, J. MIYAMOTO, AND D. G. THOMPSON (Ed.) **Phytochemicals for Pest Control**. Washington: American Chemical Society, 1997. p. 144–154.

ARORA, R.K. Baseline susceptibility and quantification of resistance in *Plutella xylostella* (L.) to spinosad. **Resistant Pest Management Biannual Newsletter of the Pesticide Research Centre (PRC)**, San Diego, v. 12, p. 27–30, 2003.

BIELZA, P; QUINTO V.; CONTRERAS, J.; TORNE M.; MARTIN, A.; ESPINOSA, P.J. Resistance to spinosad in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in greenhouses of south-eastern Spain. **Pest Management Science**, Sussex, v. 63, p. 682–687, 2007.

BOTTON, M.; CARBONARI, J.J.; GARCIA, M.S.; MARTINS, J.F. da S. Preferência alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz e capim-arroz. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, p. 207-212, 1998.

BRATTSTEN, L.B.; HOLYOKE, C.W. Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. **Science**, Washington, v. 231, p. 1255–1260, 1986.

BRET, B.L.; LARSON, L.L.; SCHOONOVER, J.R.; SPARKS, T.C.; THOMPSON, G.D.; Biological properties of spinosad. **Down to Earth**, Indianapolis, v. 52, p. 6–13, 1997.

BREWER, M.J.; TRUMBLE, J.T.; ALVARADO-RODRÍGUES, B.; CHANEY, E. Beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) adult and larval susceptibility to three insecticides in management habitats and relationship to laboratory selection for resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 83, p. 2136-2146, 1990.

BROWN, T.M.; PAYNE, G.T. Experimental selection for insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 81, p. 49-56, 1988.

BRUGNERA, P. Irrigação do algodoeiro no cerrado baiano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 5., 2006, Salvador. **Anais...**, Salvador, 2006. p.109-111.

BUSATO, G.R.; GRTZMACHER, A.D.; OLIVEIRA, A.C.; VIEIRA, E.A.; ZIMMER, P.D.; KOPP, M.M.; BANDEIRA, J.D.M.; MAGALHÃES, T.R. Analysis of the molecular structure and diversity of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to the corn and rice crops in Rio Grande do Sul State, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 709-716, 2004.

BUSATO, G.R.; GRTZMACHER, M.S.; GARCIA, F.P.; GIOLO, M.J.Z.; OTTI, G.J.; STEFANELLO, J.R. Compared biology of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) populations in corn and rice leaves. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, p. 743-750, 2005.

CAPINERA, J.L. **Handbook of vegetable pests**. San Diego :Academic Press, 2001. 729 p.

CAPRIO, M.A.; TABASHINIK, B.E. Gene flow accelerates local adaptation among finite populations: simulating the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 85, p. 610-620, 1992.

CHLORIDIS, A.; DOWNARD, P.; DRIPPS, J.E.; KANESHI, K.; LEE, L.C.; MIN, Y.K.; PAVAN, L.A. Spinetoram (XDE-175): a new spinosyn. In: INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS, 16., 2007. Glasgow. **Proceedings...** Glasgow, 2007. p 44-49.

CROUSE, G.D.; SPARKS, T.C.; SCHOONOVER, J.; GIFFORD, J.; DRIPPS, J.; BRUCE, T.; LARSON, L.L.; GARLICH, J.; HATTON, C.; HILL, R.L.; WORDEN, T.V.; MARTYNOW, J.G. Recent advances in the chemistry of spinosyns. **Pest Management Science**, Sussex, v. 57, p. 177-185, 2001.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1995. 45p. (Circular Técnica, 21).

DAMCZKY, A.; OLOWAY, J.W.H.; LEONARD, B.R.; RAVES, J.B.G. Susceptibility of fall armyworm collected from different plant hosts to selected insecticides and transgenic Bt cotton. **Journal of Cotton Science**, Memphis, v. 1, p. 21-28, 1997.

DEACUTIS, J.M.; LEICHTER, C.A.; GERRY, A.C.; RUTZ, D.A.; WATSON, W.D.; GEDEN, C.J.; SCOTT, J.G. Susceptibility of field collected houseflies to spinosad before and after a season of use. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, South Carolina, v. 23, p. 105–110, 2007.

DEGRANDE, P.E. **Guia prático de controle de pragas do algodoeiro**. Dourados: UFMS, 1998. 60p.

DESPRÉS, L.; DAVID, J.P.; GALLET, C. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. **Trends in Ecology and Evolution**. Amsterdam, v. 22, p.345-352, 2007.

DIEZ-RODRIGUEZ, G.I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, p. 311-316, 2001.

FERGUSON, J.S. Development and stability of insecticide resistance in the leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine, abmectin, and spinosad. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, p. 112–119, 2004.

FEYEREISEN, R.X. Insect cytochrome P 450. In: GILBERT, L.I. (Ed.). **Comprehensive molecular insects science**. London: Elsevier, 2005. p. 1-77.

FFRENCH-CONSTANT, R.H.; ROUSH, R.T. Resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assays. In: ROUSH, R.T.; TABASHNIK, B.E. (Ed.). **Pesticide resistance in arthropods**. New York: Chapman & Hall, 1990. p. 4-38.

FIGUEIREDO, L.M.C.; PENTEADO-DIAS, A.M.; CRUZ, I. **Danos provocados por *Spodoptera frugiperda* na produção de matéria seca e no rendimento de grãos, na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 2005. (Comunicado Técnico, 130).

FFRENCH-CONSTANT, R.H. The genetics and genomics of insecticide resistance. **Trends in Genetics**. New York, v. 20, p.163–170, 2004.

FUXA, J.R. *Spodoptera frugiperda* susceptibility to nuclear polyhedrosis virus isolates with reference to insect migration. **Environment and Entomology**. San Diego, v.16, p.218-223, 1987.

GEORGHIOU, G.P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. (Ed.). **Pest resistance to pesticides**. New York: Plenum, 1983. p. 769-792.

GROETERS, F.R.; TABASHNIK, B.E. Roles of selection intensity, major genes, and minor genes in evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**. Lanham, v.93, p.1580-1587, 2000.

GUNNING, R.V.; BALFE, M.E. Spinosad resistance in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), In: INTERNATIONAL CONGRESS ON THE CHEMISTRY OF CROP PROTECTION, 10.,2002. London. **Proceedings...** London, 2002. p. 290.

HERRON, G.A.; JAMES, T.M. Monitoring insecticide resistance in Australian *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) detects fipronil and spinosad resistance. **Australian Journal of Entomology**, Melbourne, v. 44, p. 299–303, 2005.

HOSKINS, W.M.; GORDON, H.T. Arthropod resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.1, p. 89-122, 1956.

HSU, J.; FENG, H. Resistance and Cross resistance which spinosad. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, p. 931–936, 2006.

HUANG, S.; HAN, Z. Mechanisms for multiple resistances in field populations of common cutworm, *Spodoptera litura* (Fabricius) in China. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Lanham, v. 87, p. 14–22, 2007.

HUANG, K.; XIA, L.; ZHANG, Y.; DING, X.; ZAHN, J.A. Recent advances in the biochemistry of spinosyns. **Applied Microbiology Biotechnology**, New York, v. 82, p.13–23, 2009.

INSETICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. **The IRAC e-Classification**: an interactive mode of action (MoA) tool. Disponível em: <http://www.irac-online.org/eclassification/>. Acesso em: 04 fev. 2009.

JONES, T.; SCOTT-DUPREE, C.; HARRIS, R.; SHIPP, L.; HARRIS, B. The efficacy of spinosad against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, and its impact on associated biological control agents on greenhouse cucumbers in southern Ontario. **Pest Management Science**, Sussex, v. 61, p. 179–185, 2005.

JU-CHUN, H.S.U.; FENG, H.T. Development of resistance to spinosad in Oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in laboratory selection and cross-Resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, n.3, p. 931– 936, 2006.

KANG, C.Y.; G.W.U; MIYATA, T. Synergism of enzyme inhibitors and mechanisms of insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hom.: Aleyrodidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 130, p. 377-385, 2006.

KIRST, H.A.; MICHEL, K.H.; MYNDERSE, J.S.; CHAO, E.H.; YAO, R.C.; NAKATSUKASA, W. M.; BOECK, L. D.; OCLOW, J.; PASCHEL, J. W.; DEETER, J. B. KNIGHT, A.L.; NORTON, G.W. Economics of agricultural pesticide resistance in arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 34, p. 293-313, 1989.

KOLAR, C.S.; LODGE, D.M. Progress in invasion biology: predicting invaders. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 16, p. 199-204, 2001

KRANTHI, K. R.; ALI, S.S.; BANERJEE, S.K. Baseline toxicity of spinosad on the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) in India. **Resistant Pest Management Newsletter**, Michigan, v. 11, p. 9–12, 2000.

KRISTENSEN, M.; JESPERSEN, J.B. Susceptibility of spinosad in *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) field populations. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, p. 1042–1048, 2004.

LEIDERMAN, L.; SAUER, H.F.G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda* (Abbot e Smith, 1797). **O Biológico**, São Paulo, v.19, n.6, p.105-113, 1953.

LEORA SOFTWARE, **POLO-PC**: a user's guide to probit or lgit analysis. Berkeley, 1987. 20p.

LIU, N.; YUE, X. Insecticide resistance and cross-resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, p.1269–1275, 2000.

LUGINBILL, P. The fall armyworm. **U.S. Department Agriculture Technical Bulletin**, New York, v. 34, p. 1-91, 1928.

MACHADO, V.; WUNDER, M.; BALDISSERA, V. D.; OLIVEIRA, J. V.; FIÚZA, L. M.; NAGOSHI, R. N. *Spodoptera frugiperda* (J. E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae): molecular characterization of host strains in southern Brazil. **Annals of Entomology of Society of America**, Columbus, v. 101, p. 619-626, 2008.

MARTINELLI, S.; CLARK, P. L.; ZUCCHI, M. I.; SILVA, M. C.; FOSTER, J. E.; OMOTO, C. Genetic structure and molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected in maize and cotton fields in Brazil. **Bulletim Entomology Research**, London, v. 97, p. 225-231, 2007.

MARTINELLI, S.; BARATA, R. M.; ZUCCHI, M. I.; SILVA-FILHO, M. D. C.; OMOTO, C. Molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. **Journal of Economic Entomology**. Lanham v. 99, p. 516-526, 2006.

MAU, R.F.; GUSUKUMA-MINUTO, L. Diamondback moth resistance to spinosad (Success and Tracer, Dow Agro- Sciences) in Hawaii: ConWrmation, review of causal factors and establishment of a mitigation plan. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON TECHNOLOGY OF COLE CROPS PRODUCTION, 5., 2001. Celaya. **Proceedings...** Celaya, Guanajuato: University de Celaya, 2001. p. 75–80.

McCORD, E.; YU, S.J. The mechanisms of carbaryl resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry Physiology**, San Diego, v. 27, p. 114-122, 1987.

MERGOTT, D.J.; FRANK, S.A.; ROUSH, W.R. Total synthesis of (-) spinosyn A. **Proceedings of National Academy of Science**, London, v.101, p. 11955–11959, 2004.

MERTZ, F.P.; YAO, R.C. *Saccharopolyspora spinosa* sp nov isolated from soil collected in a sugar mill rum still. **International Food System Bacteriology**, London, v. 40, p. 34-39, 1990.

MORRILLO, F.; NOTZ, A. Resistência de *Spodoptera frugiperda* a lambdacialotrina y metomil. **Entomotropica**, Maracay, v. 16 p. 79-87, 2001.

MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M.; GRAFIUS, E. ;MOYER, D.D. Resistance and cross-resistance to neonicotinoid insecticides and spinosad in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) **Pest Management Science**, Sussex, v. 62, p. 30-37, 2006.

MOULTON, J.K.; PEPPER, D.A.; DENNEHY, T.J. Beet armyworm (*Spodoptera exigua*) resistance to spinosad. **Pest Management Science**. Sussex, v. 56, p. 842-848, 2000.

NAGOSHI, R.N.; SILVIE, P.; MEAGHER, R.L. Comparison of haplotype frequencies differentiate fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) corn-strain populations from Florida and Brazil. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.100, p. 954 - 961, 2007.

NAGOSHI, R.N.; MEAGHER, R.L. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist**, Miami, v.91. p.4, 2008.

OPPENORTH, F.J. Biochemistry and genetics of insecticide resistance. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Oxford: Elsevier; Pergamon Press, 1985. p. 731–773.

OSORIO, A.; MARTÍNZ, A.M.; SCHNEIDER, M.I.; DÍAZ, O.; CORRALES, J.L.; AVILLÉS, M.C.; SMAGGHE, G. ; PINEDA, S. Monitoring of beet armyworm resistance to spinosad and methoxyfenozide in Mexico. **Pest Management Science**, Sussex, v.64, p.1001-1007, 2008.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: ESALQ, 2001. 134p.

PASHLEY, D.P. Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a sibling species complex? **Annals of Entomological Society of America**, Columbus, v. 79, p. 898-904, 1986.

PASHLEY, D.P. The current status of fall armyworm host strains. **Florida Entomologist**, Miami, v. 71, p. 227-234, 1988.

PASHLEY, D.P.; MARTIN, J.A. Reproductive incompatibility between host strains of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, Columbus, v. 80, p. 731-733, 1987.

PASHLEY, D.P.; JOHNSON, S.J.; SPARKS, A.N. Genetic population structure of migratory moths: the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, Columbus, v. 78, p. 756-762, 1985.

PASHLEY, D.P.; HARDY, T.N.; HAMMOND, A.M. Host effects on developmental and reproductive traits in fall armyworm strains (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, Columbus, v. 88, p. 748-755, 1995.

PERRY, T.; MCKENZIE, J.A.; BATTERHAM, P.A. *Da6* knockout strain of *Drosophila melanogaster* confers a high level of resistance to spinosad. **Insect Biochemical Molecular Biology**, London, v. 37, p. 184-188, 2007.

PITRE, H.N.; HOGG, D.B. Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. **Journal of Georgia Entomology Society**, Georgia, v. 18, p. 182-186, 1983.

PITRE, H.N. Relationship of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) from Florida, Honduras, Jamaica, and Mississippi: susceptibility to insecticides with reference to migration. **Florida Entomologist**, Miami, v. 71, p. 56-61, 1988.

RATZKA, A.; VOGEL, H.; KLIEBENSTEIN, D.J.; MITCHELL-OLDS, T.; KROYMANN, J. Disarming the mustard oil bomb. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, New York, v. 99, p. 11223-11228, 2002.

REYES, M.P.; FRANCK, P.J.; CHARMILLOT, C.L.; PASQUALIN, E.; SAUPHANORL, B. Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the codling moth, *Cydia pomonella*. **Pest Management Science**, Sussex, v. 63, p. 890-902, 2007.

RODERICK, K.R. Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography and their uses. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 41, p. 325-352, 1996.

ROUSH, R.T.; MILLER, G.L. Considerations for the design of insecticide monitoring programs. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.79 p. 293-298, 1986.

ROUSH, R.T.; MCKENZIE, J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 32, p. 361-380, 1987.

ROUSH, R.T.; DALY, J.C. The role of population genetics in resistance research and management. In: ROUSH, R.T.; TABASHNIK, B.E. (Ed.). **Pesticide resistance in arthropods**. New York: Chapman and Hall, 1990. p. 97-152.

SALGADO, V.L.; WATSON, G.B.; SHEETS, J.J. Studies on the mode of action of spinosad, the active ingredient in Tracer® Insect Control. In: BELTWIDE COTTON PRODUCTION CONFERENCE, NATIONAL COTTON COUNCIL, 1997. Memphis. **Proceedings...**, Memphis, 1997. p. 1082-1086.

SALGADO V.L.; SPARKS T.C.: **Comprehensive Molecular Insect Science**. In: GILBERT, L.I.; IATROU, K.; GILL, S.S. (Ed.). Boston: Elsevier, 2005. p. 137–173.

SALGADO, V.L.; SPARKS, T.C. The spinosyns: chemistry, biochemistry, mode of action, and resistance. In: GILBERT, L.I.; LATROU, K.; GILL, S.S. (Ed.). **Comprehensive molecular insect science**. Boston: Elsevier, 2005. p. 137–173.

SALGADO, V.L.; SHEERS, J.J.; WATSON, G.B. Studies on the mode of action of spinosad: the internal effective concentration and the concentration dependence on neural excitation. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 60, p. 103–110, 1998.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide. Cary, 1997. 1022p.

SCOTT, J.G. Insecticide resistance in insects, In: D. PIMENTEL (Ed.). **Handbook of pest management in agriculture**. New York, 1986. p. 1255–1260.

SCOTT, J.G. Unraveling the mystery of spinosad resistance in insects. **Journal Pesticide Science**, Lanham, v. 33, n. 3, p. 221-227, 2008.

SCHROEDER, M.E.; FLATTUM, R. F. The mode of action and neurotoxic properties of the nitromethylene heterocycle insecticides. **Pesticide Biochemical Physiology**, San Diego, v.22, n. 22, p.148–160,1984.

SHONO, T.; SCOTT, J.G. Spinosad resistance in the housefly, *Musca domestica*, is due to a recessive factor on autosome 1. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 75, p.1–7, 2003.

SPARKS, A.N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 62, p. 82-87, 1979.

SPARKS, T.C.; THOMPSON, G.D.; KIRST, H.A.; HERTLEIN, M.B.; LARSON, L.L.; WORDEN, T.V.; THIBAUT, S.T. Biological activity of the spinosyns, new fermentation derived insect control agents, on tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae, **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.91 p.1277–1283, 1998.

SPARKS, T.C.; CROUSE, G.D; DRIPPS, J.E.; ANZEVENO, P.; MARTYNOW, J.; DEAMICIS, C.V.; GIFFORD, J. Neural network-based OSAR and insecticide discovery: spinetoram. **Journal Computer-Aided Molecular Design**, v.22, n. 6/7, p. 393-401, 2008.

SPARKS, T.C.; THOMPSON, G.D.; LARSON, L.L.; KIRST, H.A.; JANTZ, O.K.; WORDEN, T.V.; HERTLEIN, M.B.; BUSACCA, J.D. Biological characteristics of the spinosyns: a new and naturally derived insect control agent. In: NATIONAL COTTON COUNCIL: BELTWISE COTTON CONFERENCE.1995 San Antonio. **Proceedings...**San Antonio, 1995. p. 903 – 907.

STONE, B.F. The formula for determining the degree of dominance in cases of monofactorial inheritance of resistance to chemicals. **Bulletin of the World Health Organization**, Bethesda v.38, p. 325-326, 1968.

TALEKAR, N.S.; SHELTON, A.M. Biology, ecology and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 38, p. 275–301, 1993.

TEMARAK, S.A. Negative cross resistance to spinosad: an interesting observation in the field population of cotton leaf worm larvae, *Spodoptera littoralis* in Egypt. **Resistant Pest Management**, San Diego v.13, n.1, p. 7-10, 2003.

THOMPSON, G.D. Discovery, isolation and structure elucidation of a family of structurally unique fermentation-derived tetracyclic macrolides, in "Synthesis and Chemistry of *B. germanica* (L). **Pest Management Science**, Sussex, v.57, p. 1055–1059, 2001.

THOMPSON, G.D.; DUTTON, R.; SPARKS, T.C. Spinosad – a case study; an example from a natural products discovery programmer. **Pest Management Science**, Sussex, v. 56, p. 696-702, 2000.

THOMPSON, G.D.; BUSACCA, J.D.; JANTZ, O.K.; BORTH, P.W.; NOLTING, S.P.; WINKLE, J.R.; GANTZ, R.J.; HUCKABA, R.M.; NEAD, B.A.; PETERSON, L.G.; PORTEOUS, D.J. ; RICHARDSON, J.M. Field performance in cotton of spinosad: a new naturally derived insect control system. In: BELWIDE COTTON PRODUCTION CONFERENCE, NATIONAL COTTON COUNCIL, 1995. Memphis. **Proceedings...** Memphis, 1995. p.907-910.

TWINE, P.H.; REYNOLDS, H.T. Relative susceptibility and resistance of the tobacco budworm host strains: comparison of synthetic pyrethroids in Southern California. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 73, p. 239-242, 1980.

Van GEMERDEN, J.F.; GOEY J.W. F. M.; ROTTEVEE, A. J. W. Guidance on resistance risk evaluation. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, Bethesda, v. 29, p.111–116, 1999.

VEENSTRA, K.H.; PASHLEY, D.P.; OTTEA, J.A. Host-plant adaptation in fall armyworm host strains: comparison of food consumption, utilization, and detoxication enzyme activities. **Annual Entomology Society of America**, Columbus, v. 88, p. 80-91, 1995.

VICKERS, R.A.; ENDERSBY, N.M.; RIDLAND, P.M. Australia leads the way in the fight against diamondback moth. **Pesticide Outlook**, Sidney, v. 12, p. 185–187, 2001.

WANG, W.; MO, J.; CHENG, J.; ZHUANG, P.; TANG, Z. Selection and characterization of spinosad resistance in *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v.84, p. 180-187, 2006.

WATSON, G.B. Actions of insecticidal spinosyns on γ -aminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 71, p. 20–28, 2001.

WEI, Y.; APPEL, A.G.; MOAR, W.J. ; LIU, N. Pyrethroid resistance and cross-resistance in the German cockroach, *Blattella germanica* (L). **Pesticide Management Science**, Sussex, v.57, p.1055–1059, 2001.

WHITFORD, F.; QUISENBERRY, S.S.; MOELLENBECK, D.J. Nutritional response by rice and corn fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) strains to dietary component substitution in artificial diets. **Journal Economic of Entomology**. Lanham, v. 85, p. 1491-1496, 1992.

WU, K.; MU, W.; LIANG, G.; GUO, Y. Regional reversion of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) is associated with the use of Bt cotton in northern China. **Pest Management Science**, Sussex, v. 61, p. 497-498, 2005.

YOUNG, H.P.; BAILEY, W.D.; WYSS, C.F.; SHEETS, J.J.; LARSON, L.L.; SPARKS, T.C. Studies on the mechanisms of tobacco budworm resistance to spinosad (Tracer). In: BELTWISE COTTON CONFERENCE, NATIONAL COTTON COUNCIL, 2000. Memphis, **Proceedings...** Memphis, 2000. p.234-239.

YOUNG, H.; BAILEY, W.; ROE, R. Spinosad selection of a laboratory strain of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) and characterization of resistance. **Crop Protection**, Memphis, v. 22, p. 265–273, 2003.

YOUNG, J.R.; MCMILLIAN, W.W. Differential feeding by two strains of fall armyworm larvae on carbaryl surfaces. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 72, p. 202-204, 1979.

YU, S.J. Induction of new glutathione S-transferase isozymes by allelochemicals in the fall armyworm. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 63, p. 163-171, 1999.

YU, S.J. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 39, p. 84, 1991.

YU, S.J. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), **Journal of Economic Entomology**, San Diego, v. 85, p. 675, 1992.

YU, S.J. Insensitivity of acetylcholinesterase in a field strain of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 84, p. 135-142, 2006.

YU, S.J.; NGUYEN, S.N.; ABO-ELGHAR, G.E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 77, p. 1-11, 2003.

ZHAO, J.-Z.; LI, Y.X.; COLLINS, H.L.; GUSUKUMA-MINUTO, L.; MAU, R.F.L.; THOMPSON, G.D.; SHELTON, A.M. Monitoring and characterization of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 95, p. 430–436, 2002.

ZHAO J.Z.; COLLINS H.L.; LI, Y.X.; MAU R.F.L.; THOMPSON, G.D.; HERTLEIN, M. *et al.*, Monitoring of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. **Journal of Economic Entomology**. Lanham, v. 99, p.176–181, 2006.