

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

**Monitoramento e caracterização da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas diamidas no Brasil**

**Anderson Bolzan**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba  
2019**

**Anderson Bolzan**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Monitoramento e caracterização da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)  
(Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas diamidas no Brasil**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:  
Professor. Dr. **CELSO OMOTO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em  
Ciências: área de concentração: Entomologia

**Piracicaba**  
**2019**



## RESUMO

### **Monitoramento e caracterização da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas diamidas no Brasil**

O controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) tem sido realizado principalmente pelo uso de inseticidas químicos e plantas geneticamente modificadas que expressam toxinas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) no Brasil. Casos de evolução da resistência no campo a estes agentes de controle têm sido uma das grandes ameaças para programas de MIP. Inseticidas diamidas ainda representam uma importante opção para o manejo de *S. frugiperda*; sendo assim, estudos que fomentem a implementação de estratégias pró-ativas de manejo da resistência são fundamentais para a manutenção da eficácia deste grupo químico no controle de *S. frugiperda*. Os objetivos da presente tese foram: (i) Monitorar a resistência de *S. frugiperda* a inseticidas diamidas no Brasil, utilizando métodos genotípico e fenotípico; (ii) Selecionar em laboratório uma linhagem de *S. frugiperda* resistente a inseticidas diamidas e caracterizar as bases genéticas da resistência; e (iii) Investigar os mecanismos associados à resistência de *S. frugiperda* a inseticidas diamidas. O método de F<sub>2</sub> “screen” foi utilizada para o monitoramento genotípico da resistência de *S. frugiperda* ao inseticida chlorantraniliprole, sendo testadas 817 isolinhas provenientes de 14 populações brasileiras de *S. frugiperda* entre os anos agrícolas 2016 e 2017. Dentre as populações testadas, foi verificada uma variação de 0,0030 a 0,0781 na frequência de alelos que conferem resistência a chlorantraniliprole, com média geral de 0,0217. No monitoramento fenotípico, foram testadas  $\approx$  70 populações de *S. frugiperda* coletadas das principais regiões produtoras de milho durante os anos agrícolas 2016, 2017 e 2018. A sobrevivência larval para o inseticida chlorantraniliprole variou de 0,00 a 32,08% na concentração diagnóstica de 0,505 µg de chlorantraniliprole cm<sup>-2</sup>. Para o inseticida flubendiamide, as sobrevivências variaram de 0,00 a 46,25% na concentração diagnóstica de 2,842 µg de flubendiamide cm<sup>-2</sup>. Populações de *S. frugiperda* da Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás apresentaram as menores suscetibilidades a chlorantraniliprole e flubendiamide. Os valores de CL<sub>50</sub> das linhagens suscetível (Sus) e resistente a chlorantraniliprole (Chlorant-R) foram 0,011 e 2,610 µg i.a.cm<sup>-2</sup>, respectivamente, com razão de resistência (RR) de  $\approx$  240 vezes. A herança da resistência de *S. frugiperda* a chlorantraniliprole foi caracterizada como autossômica, incompletamente recessiva e monogênica. A linhagem resistente a chlorantraniliprole apresentou moderada resistência cruzada para cyantraniliprole (RR  $\approx$  27 vezes) e muito alta para flubendiamide (RR > 42000 vezes). A pré-exposição a diferentes sinergistas inibidores de enzimas de detoxificação não aumentou significativamente a suscetibilidade larval, sugerindo que a resistência metabólica não está envolvida na resistência de *S. frugiperda* a diamidas. Mediante sequenciamento da região C-terminal dos receptores de rianodina (RyR) nos domínios II a IV, foi detectada a mutação I4734M que foi recentemente descrita como um dos mecanismos de resistência devido à alteração no alvo de ação de inseticidas diamidas em outras pragas de Lepidoptera. Os resultados obtidos no presente trabalho servirão para a implementação de estratégias efetivas de manejo da resistência para preservar a vida útil de diamidas para o manejo de *S. frugiperda* no Brasil.

**Palavras-chave:** Chlorantraniliprole; Cyantraniliprole; Flubendiamide; Lagarta-do-cartucho do milho; Manejo da resistência de insetos a inseticidas

## ABSTRACT

### **Monitoring and characterization of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to diamide insecticides in Brazil**

The control of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) has been performed mainly by the use of insecticides and genetically modified plants expressing *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) toxins in Brazil. Field-evolved resistance to these control agents represents a major threat in IPM programs. Diamide insecticides represent an important tool for managing *S. frugiperda*; therefore, studies that promote proactive resistance management strategies are important to prolong the lifetime of this chemical group to control *S. frugiperda*. The goals of this dissertation were: (i) To monitor *S. frugiperda* resistance to diamide insecticides in Brazil, using genotypic and phenotypic methods; (ii) To select a resistant strain of *S. frugiperda* to diamide insecticides under laboratory conditions and to characterize the genetic basis of resistance; and (iii) to investigate the resistance mechanisms of *S. frugiperda* to diamides insecticides. The F<sub>2</sub> screen method was used to genotypic monitoring of *S. frugiperda* resistance to chlorantraniliprole resistance by testing 817 isofamilies from 14 Brazilian populations of *S. frugiperda* collected in 2016 and 2017 crop seasons. Among the populations tested, resistance allelic frequency to chlorantraniliprole ranged from 0.0030 to 0.0781, with overall average of 0.0217. In the phenotypic monitoring, we monitored  $\approx$  70 populations of *S. frugiperda* collected from major maize-growing regions during the crop seasons 2016, 2017 and 2018. The larval survival for chlorantraniliprole insecticide ranged from 0.00 to 32.08% at diagnostic concentration of 0.505  $\mu\text{g}$  chlorantraniliprole cm<sup>-2</sup> and 0.00 to 46.25% for flubendiamide at diagnostic concentration of 2.842  $\mu\text{g}$  flubendiamide cm<sup>-2</sup>. Populations of *S. frugiperda* from Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul and Goiás showed the lowest susceptibilities to chlorantraniliprole and flubendiamide. The LC<sub>50</sub> values of the susceptible (Sus) and chlorantraniliprole-resistant (Chlorant-R) strains were 0.011 and 2.610  $\mu\text{g}$  i.a. cm<sup>-2</sup>, respectively, with a resistance ratio (RR) of  $\approx$  240-fold. The inheritance of chlorantraniliprole resistance in *S. frugiperda* was characterized as autosomal, incompletely recessive and monogenic. The chlorantraniliprole-resistant strain showed moderate cross-resistance to cyantraniliprole (RR  $\approx$  27-fold) and high cross-resistance to flubendiamide (RR > 42,000-fold). Pre-exposure to different synergists known to inhibit detoxification enzymes did not result in significantly increased larval toxicity, suggesting a minor role of metabolic resistance. Sequencing of the FAW ryanodine receptor (RyR) C-terminal domains II to VI revealed a SNP, resulting in a I4734M mutation recently described to confer target-site resistance to diamides in lepidopteran pests. The results obtained herein will help for the implementation of effective resistance management strategies to preserve the lifetime of diamides to manage *S. frugiperda* in Brazil.

**Keywords:** Chlorantraniliprole; Cyantraniliprole; Flubendiamide; Fall armyworm; Insecticide resistance management

## 1. INTRODUÇÃO

Apesar dos avanços na adoção do manejo integrado para o controle de insetos-praga na agricultura, o uso de inseticidas químicos ainda é principal método utilizado no controle de pragas em diversas culturas. Já foram reportados casos de resistência em aproximadamente 600 espécies de ácaros e insetos, e o problema da resistência tem afetado a produção agrícola a nível mundial (Sparks; Nauen, 2015; Nauen et al., 2019). A redução da eficácia dos inseticidas em razão da evolução da resistência no campo desafia tanto os produtores rurais quanto as companhias que desenvolvem estes produtos, uma vez que devido ao aumento dos custos e exigências regulatórias rigorosas, o registro de novas moléculas para o controle de pragas está cada vez mais escasso (Sparks, 2013; Sparks; Lorsbach et al., 2017). Portanto, estudos que fomentem estratégias de manejo da resistência são fundamentais para a manutenção da eficácia das moléculas inseticidas já disponibilizadas para o controle de pragas.

Dentre os inseticidas que apresentam características desejáveis para serem utilizados dentro de um programa de manejo integrado de pragas, os inseticidas do grupo das diamidas se destacam por apresentarem baixa toxicidade a mamíferos e alta seletividade a inimigos naturais, além da ausência de resistência cruzada com inseticidas de outros grupos químicos (Tohnishi et al., 2005; Lahm et al., 2005; Ebbinghaus-Kintzsch et al., 2006; Lahm et al., 2009; Larson et al., 2012). O desenvolvimento deste grupo de inseticidas teve como base estudos realizados na década de 1940, quando foi verificada a ação inseticida de uma série de moléculas extraídas a partir de extratos da casca de *Ryania speciosa* Vahl (Flacourtiaceae), uma planta nativa da América do Sul e Central. Estes estudos detectaram que as moléculas causavam uma ação paralisante nos insetos, levando-os a morte (Edwards et al., 1948; Jefferies et al., 1997). A estas moléculas foi dado o nome de rianoides, porém uma em especial, denominada rianodina, teve maior atenção devido a sua afinidade a determinados receptores localizados canais de cálcio (receptores de rianodina – RyRs) presentes no retículo sarcoplasmático das células musculares (Fill; Copello, 2002). No entanto, a rianodina se mostrou não seletiva, com alta afinidade de ligação para os RyRs de diferentes ordens de insetos e também de mamíferos (Lehmberg; Casida, 1994), sendo uma desvantagem do uso desta molécula como inseticida (Lümmen, 2013).

O primeiro inseticida do grupo das diamidas foi o flubendiamide (diamida do ácido ftálico), desenvolvido pela empresa Nihon Nohyaku CO., LTD, a partir do derivado do benzenedicarboxamide (Tohnishi et al., 2005), posteriormente foram desenvolvidas as diamidas antranílicas chlorantraniliprole e cyantraniliprole, pela empresa DuPont® (Lahm et

al., 2005, 2007, 2009). Este novo grupo de inseticidas se ligam em um local diferente da rianodina nos RyRs, porém da mesma forma promovem a saída descontrolada de Cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), do estoque interno da célula, provocando paralisia muscular e a morte do inseto (Cordova et al., 2006). Flubendiamide possui elevada atividade contra insetos da ordem Lepidoptera, chlorantraniliprole além de afetar lepidópteros, também é ativo contra insetos da ordem Coleoptera, já cyantraniliprole por possuir propriedades sistêmicas, atua também sobre insetos ordem Hemiptera, Thysanoptera e Diptera (Foster et al., 2012; Nauen; Steinbach, 2016). Os inseticidas diamidas representam aproximadamente 10 % das vendas globais de inseticidas e este valor tende a aumentar à medida que novas moléculas do grupo se tornem disponíveis para comercialização (Nauen et al., 2019).

Apesar de ser um dos mais recentes grupos de inseticidas, diversos relatos de baixa suscetibilidade e resistência de insetos já foram reportados. Como por exemplo, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) na China (Lai et al., 2011); *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) no Brasil (Silva et al., 2012; Ribeiro et al., 2014), China (Wang et al., 2012; Wang et al., 2013), Tailândia e Filipinas (Trocza et al., 2012), Índia, Japão, Taiwan, Coreia do Sul, USA e Vietnã (Steinbach et al., 2015); *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae) na China (Wu et al., 2014); *Adoxophyes honmai* (Yasuda) (Lepidoptera: Tortricidae) no Japão (Uchiyama; Ozawa, 2014); e *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) na Itália, Grécia (Roditakis et al., 2015), Brasil e Espanha (Silva et al., 2016; Roditakis et al., 2017). Para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera Noctuidae), recentemente foi relatado um caso de evolução da resistência no campo para flubendiamide e chlorantraniliprole em Porto Rico, com razões de resistência de 500 e 160 vezes, respectivamente (Gutiérrez-Moreno et al., 2018). Dentre os mecanismos associados à resistência de insetos a inseticidas diamidas, pode-se destacar as mutações encontradas na região C-terminal do gene que codifica os RyRs (Trocza et al., 2012; Guo et al., 2014a,b; Roditakis et al., 2017), além de casos de resistência associados a detoxificação metabólica (Wang et al., 2013; Muthusamy et al., 2014).

Apesar dos casos de resistência já reportados, os inseticidas diamidas ainda representam uma importante ferramenta no manejo de diversas pragas, principalmente lepidópteros. Dentre as pragas-alvo destes inseticidas, uma das mais relevantes é a lagarta-do-cartucho do milho, *S. frugiperda*. Esta é uma espécie com alta capacidade de reprodução e dispersão, além do hábito polífago (Pogue, 2002; Casmuz et al., 2010), tendo mais de 180 espécies de plantas hospedeiras, distribuídas em 42 famílias diferentes (Casmuz et al., 2010). Plantas da família Poaceae estão entre as maiores hospedeiras desta praga, com destaque para o milho (*Zea mayz* L.), trigo

(*Triticum* spp.), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e arroz (*Oryza sativa* L.) (Cruz, 1995; Casmuz et al., 2010). Porém, em razão da oferta de hospedeiros ao longo do ano, frequentemente culturas como soja (*Glycine max* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L) e solanáceas sofrem injúrias devido a ataques desta praga (Capinera, 2002). Apesar do grande número de plantas hospedeiras, é na cultura do milho que esta praga denota maior importância, sendo considerada uma das principais pragas da cultura nas Américas, principalmente na América do Sul, América Central e México (Cruz et al., 1982). Recentemente, *S. frugiperda* ganhou maior notoriedade no cenário agrícola mundial por ter sido reportada como espécie invasiva no continente africano e asiático (Goergen et al., 2016; FAO, 2018; ICAR-NBAR, 2018), e pelo potencial de causar severas perdas na produção de milho nestes continentes, caso métodos adequados de controle não forem estabelecidos (Abrahams et al., 2017; ITTA, 2018).

No Brasil, o sistema de cultivo intensivo favorece que *S. frugiperda* se mantenha em níveis populacionais elevados durante maior parte do ano, uma vez que as principais culturas produzidas no país são hospedeiras desta praga. A utilização de inseticidas químicos para o controle de *S. frugiperda* ainda é um dos principais métodos utilizados em diversas culturas. Em razão do uso indiscriminado destes compostos, casos de falhas no controle em razão da evolução da resistência no campo já foram reportados para grupos químicos mais antigos como piretroides (lambda-cyhalothrin) e organofosforados (chlorpyrifos) (Carvalho et al., 2013), além de resistência selecionada em laboratório para benzilureias (lufenuron) e espinosas (spinosad) (Nascimento et al., 2016; Okuma et al., 2018). Em culturas como milho, algodão e soja, onde o cultivo de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Plantas Bt) foi liberado e amplamente adotado no país (CÉLERES, 2017), houve uma significante redução no uso de inseticidas químicos para o controle de lepidópteros ao compararmos com o período anterior a adoção desta biotecnologia (Brookes; Barfoot, 2018). Entretanto, em razão da alta pressão de seleção exercida sobre *S. frugiperda*, casos de evolução da resistência no campo já foram reportados para as proteínas Cry1F e Cry1Ab (Farias et al., 2014; Omoto et al.; 2016), e também resistência selecionada em laboratório para as proteínas Cry1A105 e Vip3Aa20 (Bernardi et al., 2015; Bernardi et al., 2016), e em razão destes casos de resistência, muitas vezes se faz necessário um aumento no número de aplicações de inseticidas.

Inseticidas diamidas podem ser usados para o manejo da resistência de *S. frugiperda* a outros grupos químicos ou proteínas Bt, em razão da ausência de resistência cruzada entre diamidas e outros grupos de inseticidas. Para a preservação da vida útil de inseticidas, o monitoramento da resistência é fundamental para a detecção de genótipos resistentes em baixas

frequências, auxiliando no estabelecimento de estratégias de manejo da resistência. Para detectar indivíduos resistentes em uma população, existem técnicas que podem ser realizadas *in vivo*, cujo indivíduos intactos são expostos diretamente aos inseticidas, e testes *in vitro*, no qual são utilizadas técnicas bioquímicas que determinam a atividade enzimática ou alterações em genes específicos relacionados à resistência (ffrench-Constant; Roush, 1990).

Dentre as técnicas *in vivo*, o monitoramento da resistência pode ser caracterizado como fenotípico ou genotípico. O monitoramento fenotípico pode ser realizado mediante a comparação entre estimativas de doses letais de populações de campo com as de populações suscetíveis de referência, ou utilizando concentrações diagnósticas diretamente sobre uma população do campo (ffrench-Constant; Roush, 1990). Já o monitoramento genotípico pode ser realizado por técnicas como F<sub>1</sub> “screen” e F<sub>2</sub> “screen”, entretanto para o F<sub>1</sub> “screen” existe a necessidade de se posuir em laboratório uma população resistente para acasalar com indivíduos do campo, realizando o bioensaio discriminatório na geração F<sub>1</sub> (Gould et al., 1997). Enquanto que para o F<sub>2</sub> “screen”, a partir de fêmeas fecundas coletadas no campo, são feitos cruzamentos endogâmicos na geração F<sub>1</sub> e os bioensaios discriminatórios são realizados na geração F<sub>2</sub> (Andow; Alstad, 1998). Ambos os métodos permitem a detecção e o monitoramento da frequência de alelos que conferem resistência, mesmo quando a frequência destes ainda se encontra baixa no campo. Os métodos fenotípicos são mais eficientes quando os alelos relacionados a resistência têm efeito aditivo ou dominante, enquanto os métodos genotípicos são mais eficientes quando os alelos ligados a resistência têm efeito recessivo (Andow, 2008). Dentre as técnicas *in vitro*, destaca-se a detecção e monitoramento da resistência por técnicas moleculares para a detecção de genes ou mutações envolvidas na resistência. Dentre as técnicas moleculares, destaca-se a genotipagem de mutações conhecidas pela amplificação do DNA (PCR-RFLP/CAPS, PIRA/PCR/dCAPS, PCR alelo-específico), genotipagem de mutações por sequenciamento (PCR + sequenciamento de Sanger, PCR + pirosequenciamento, sequenciamento pela plataforma Illumina), quantificação de genes e transcritos (qPCR, RT-qPCR), além das técnicas mais recentes como o sequenciamento completo de transcriptoma (RNA-Seq) e o sequenciamento de terceira geração (PacBio, Nanopore, SMRT®) (Network, 2016).

Além da detecção e monitoramento, é de fundamental importância conhecer a herdabilidade dos caracteres que conferem a resistência a inseticidas, pois o padrão de herança genética da resistência tem grande influência na sua evolução, sendo um fator determinante para a taxa de aumento da frequência de alelos que conferem resistência (Georghiou; Taylor, 1977). O grau de dominância (recessivo ou dominante) e o número de genes envolvidos permite

entender a dinâmica da resistência, influenciando na velocidade que a evolução da resistência é verificada no campo em condições de pressões seletivas (Georghiou; Taylor, 1977). A ocorrência de resistência cruzada também influencia a evolução da resistência devido à pressão de seleção por outros inseticidas (Georghiou; Taylor, 1977). Sendo assim, estudos de caracterização da resistência e resistência cruzada são essenciais para o entendimento das bases genéticas associadas à resistência e para a adoção de estratégias pró-ativas de manejo da resistência (Roush; Mckenzie, 1987).

Diante do exposto, com a finalidade de subsidiar estratégias de manejo da resistência e preservar a eficácia dos inseticidas diamidas para o manejo de *S. frugiperda*, nossos objetivos foram:

- Monitorar a resistência de *S. frugiperda* a inseticidas diamidas no Brasil, utilizando métodos de monitoramento genotípico e fenotípico;
- Selecionar em laboratório uma linhagem de *S. frugiperda* resistente a inseticidas diamidas para caracterizar as bases genéticas da resistência e estudar as relações de resistência cruzada entre diamidas;
- Investigar os mecanismos associados à resistência de *S. frugiperda* a inseticidas diamidas.

## Referências

- Abrahams P, Bateman M, Beale T, Clottey V, Cock M, Colmenarez Y, Corniani N, Day R, Early R, Godwin J, Gomez J, Moreno PG, Murphy ST, Oppong-Mensah B, Phiri N, Pratt C, Richards G, Silvestri S, Witt A, Fall Armyworm: Impacts and Implications for Africa. CABI – UK Aid. Evidence Note (2), September 2017. <https://www.invasive-species.org/Uploads/InvasiveSpecies/Fall%20Armyworm%20Evidence%20Note%20September%202017.pdf> [acesso 18 de setembro de 2018].
- Andow DA, Alstad DN, F<sub>2</sub> screen for rare resistance alleles. *J Econ Entomol* **91**:572-578 (1998).
- Andow DA, The risk of resistance evolution in insects to transgenic insecticidal crops. *Collect Biosaf Rev* **4**:142-199 (2008).
- Bernardi D, Salmeron E, Horikoshi RJ, Bernardi O, Dourado PM, Carvalho RA, Martinelli S, Head GP, Omoto C. Cross-resistance between Cry 1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera*

*frugiperda*) may affect the durability of current pyramided Bt mayze hybrids in Brazil. *Plos ONE* **10** (2015). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140130>

Bernardi O, Bernardi D, Horikoshi RJ, Okuma DM, Miraldo LL, Faroretto J, Medeiros FCL, Burdy T, Omoto C, Selection and characterization of resistance to the Vip3Aa20 protein from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda*. *Pest Manag Sci* **72**:1794-1802 (2016).

Brookes G, Barfoot P, Environmental impacts of genetically modified (GM) crop use 1996-2016: Impacts on pesticide use and carbon emissions. *GM Crops Food* **9**:109-139 (2018).

Capinera JL, *Handbook of vegetable pests*. Academic Press, San Diego, CA, p. 887 (2002).

Carvalho RA, Omoto C, Field LM, Williansom MS, Bass C, Investigating the molecular mechanism of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. *PloS ONE* **8**:1-11 (2013).

Casmuz A, Juárez ML, Socías MG, Murúa MG, Prieto S, Medina S, Willink E, Gastaminza G, Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev Soc Entomol Argent* **69**:209-231 (2010).

CÉLERES, 3º levantamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil, safra 2016/17. <http://www.celeres.com.br/3o-levantamento-de-adocao-da-biotecnologia-agricola-no-brasil-safra-201617/> [acesso 7 de janeiro de 2019].

Cordova D, Benner EA, Sacher MD, Rauh JJ, Sopa JS, Lahm GP, Selby TP, Stevenson TM, Flexner L, Gutteridge S, Rhoades DF, Wu L, Smith RM, Tao Y, Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pestic Biochem Physiol* **84**:196-214 (2006).

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

Cruz I, Santos JP, Waquil JM, Principais pragas da cultura de milho. In. *Recomendações técnicas para a cultura do milho*, (Circular técnica, 6). EMBRAPA CNPMS, Sete Lagoas, MG, pp. 45-60 (1982).

Ebbinghaus-Kintzsch U, Lümmen P, Lobitz N, Schulte T, Funke C, Fischer R, Phthalic acid diamides activate ryanodine sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  release channels in insects. *Cell Calcium* **39**:21-33 (2006).

- Edwards GA, Weiant EA, Slocombe AG, The action of ryanodine on contractile process in striated muscle. *Science* **108**:330-332 (1948).
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Briefing Note on FAO actions on Fall Armyworm in Africa (latest updates: 16 February 2018). <http://www.fao.org/3/a-bt415e.pdf> [acesso 16 de setembro 2018].
- Farias JR, Andow DA, Horikoshi RJ, Sorgatto RJ, Fresia P, Santos AC, Omoto C, Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Crop Prot* **64**:150-158 (2014).
- ffrench-Constant RH, Roush RT, Resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assays, in *Pesticide resistance in arthropods*, ed. Roush RT, Tabashnik B, Chapman and Hall, Inc, New York, NY, pp. 4-38 (1990).
- Fill M, Copello JA, Ryanodine receptor calcium release channels. *Physiol Rev* **82**:893-922 (2002).
- Foster SP, Denholm I, Rison J, Portillo HE, Margaritopoulos J, Slater R, Susceptibility of standard clones and European field populations of the green peach aphid, *Myzus persicae*, and the cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), to the novel anthranilic diamide insecticide cyantraniliprole. *Pest Manag Sci* **68**:629-633 (2012).
- Georghiou GP, Taylor CE, Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J Econ Entomol* **70**:319-323 (1977).
- Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamò M, First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in west and central Africa. *PLoS ONE* **11**:1-9 (2016).
- Gould F, Anderson A, Jones A, Sumerford D, Heckel DG, Lopez J, Micinski S, Leonard R, Laster M, Initial frequency of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in field populations of *Heliothis virescens*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**:3519-3523 (1997).
- Guo L, Liang P, Zhou X, Gao X, Novel mutations and mutation combinations of ryanodine receptor in a chlorantraniliprole resistant population of *Plutella xylostella* (L.). *Sci Rep* **4**:1-7 (2014)a.
- Guo L, Wang Y, Zhou X, Li Z, Liu S, Pei L, Gao X, Functional analysis of a point mutation in the ryanodine receptor of *Plutella xylostella* (L.) associate with resistance to chlorantraniliprole. *Pest Manag Sci* **70**:1083-1089 (2014)b.

Gutiérrez-Moreno R, Mota-Sánchez D, Blanco CA, Whalon ME, Terán-Santofimio H, Rodriguez Maciel JC, DiFonzo C, Field-Evolved resistance of the Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. *J Econ Entomol* (2018). doi: 10.1093/jee/toy372

ICAR-NBAR, Indian Council of Agricultural Research - National Bureau of Agricultural Insect Resources, PEST ALERT: 30th July, 2018 *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Insecta: Lepidoptera).

[http://www.cib.res.in/recent\\_events/Pest%20Alert%2030th%20July%202018-new1.pdf](http://www.cib.res.in/recent_events/Pest%20Alert%2030th%20July%202018-new1.pdf) [acesso 16 de setembro de 2018].

IITA, International Institute of Tropical Agriculture, Fall armyworm has reached the Indian subcontinent. <http://www.iita.org/news-item/fall-armyworm-has-reached-the-indian-subcontinent/> [acesso 16 de setembro de 2018].

Jefferies PR, Yu P, Casida JE, Structural modifications increase the insecticidal activity of ryanodine. *Pest Manag Sci* **51**:33-38 (1997).

Lahm GP, Cordova D, Barry JD, New and selective ryanodine receptor activators for insect control. *Bioorg Med Chem* **17**:4127-4133 (2009).

Lahm GP, Selby TP, Freudenberger JH, Stevenson TM, Myers BJ, Seburyamo G, Smith BK, Flexner L, Clark CE, Cordova D, Insecticidal anthranilic diamides: a new class of potent ryanodine receptor activators. *Bioorg Med Chem Lett* **15**:4898-906 (2005).

Lahm GP, Stevenson TM, Selby TP, Freudenberger JH, Cordova D, Flexner L, Bellin CA, Dubas CM, Smith BK, Hughes KA, Hollingshaus JG, Clark CE, Benner EA, Ryanaxypyr<sup>TM</sup>: A new insecticidal anthranilic diamide that acts as a potent and selective ryanodine receptor activator. *Bioorg Med Chem Lett* **17**:6274-6279 (2007).

Lai T, Li J, Su j, Monitoring of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to chlorantraniliprole in China. *Pestic Biochem Physiol* **101**:195-205 (2011).

Larson JL, Redmont CT, Potter DA, Comparative impact of an anthranilic diamide and other insecticidal chemistries on beneficial invertebrates and ecosystem services in turfgrass. *Pest Manag Sci* **68**:740-748 (2012).

Lehmburg E, Casida JE, Similarity of insect and mammalian ryanodine binding sites. *Pestic Biochem Physiol* **48**:145-152 (1994).

- Lümmen P, Calcium channels as molecular target sites of novel insecticides, in *Advances in Insect Physiology*, vol. 44, ed. Cohen E, Academic Press, London, UK, pp. 287-347 (2013).
- Muthusamy R, Vishnupriya M, Shivakumar MS, Biochemical mechanism of chlorantraniliprole resistance in *Spodoptera litura* (Fab) (Lepidoptera: Noctuidae). *J Asia Pac Entomol* **17**:865-869 (2014).
- Nascimento RB, Farias JR, Bernardi D, Horikoshi RJ, Omoto C, Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. *Pest Manag Sci* **72**:810-815 (2016).
- Nauen R, Slater R, Sparks TC, Elbert A, Mccaffery A, IRAC: Insecticide resistance and mode-of-action classification of insecticides, in *Modern Crop Protection Compounds*, ed. Jeschke P, Witschel M, Krämer W, Schirmer U. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Alemanha, pp. 995-1012 (2019).
- Nauen R, Steinbach D, Resistance to diamides insecticides in Lepidopteran pests, in *Advances in insect control and resistance management*, ed. Horowitz R, Ishaaya I. Springer International Publishing, Suiça, pp. 219-240 (2016).
- Network R, Trends and challenges in pesticide resistance detection. *Trends Plant Sci* **21**:834-853 (2016).
- Okuma DM, Bernardi D, Horikoshi RJ, Bernardi O, Silva AP, Omoto C, Inheritance and fitness cost of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to spinosad in Brasil. *Pest Manag Sci* **74**:1441-1448 (2018).
- Omoto C, Bernardi O, Salmeron E, Sorgatto RJ, Dourado PM, Crivellari A, Carvalho RA, Willse A, Martinelli S, Head GP, Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. *Pest Manag Sci* **72**:1727-1736 (2016).
- Pogue GM, A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Mem Am Entomol Soc* **43**:1-202 (2002).
- Ribeiro LMS, Wanderley-Teixeira V, Ferreira HN, Teixeira ÁAC, Siqueira HAA, Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Bull Entomol Res* **104**:88-96 (2014).
- Roditakis E, Steinbach D, Moritz G, Vasakis E, Stavrakaki M, Ilias A, García-Vidal L, Martínez-Aguirre MR, Bielza P, Morou E, Silva JE, Silva WM, Siqueira HAA, Iqbal S, Troczka BJ, Williamson MS, Bass C, Tsagkarakou A, Vontas J, Nauen R, Ryanodine

- receptor point mutations confer diamide insecticide resistance in tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Insect Biochem Mol Biol* **80**:11-20 (2017).
- Roditakis E, Vasakis E, Grispou M, Stavrakaki M, Nauen R, Gravouil M, Bassi A, First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides. *J Pest Sci* **88**:9-16 (2015).
- Roush RT, Mckenzie JA, Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Ann Rev Entomol* **32**:361-380 (1987).
- Silva JE, Assis CPO, Ribeiro LMS, Siqueira HAA, Field-evolved resistance and cross-resistance of Brazilian *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) populations to diamide insecticides. *J Econ Entomol* **109**:2190-2195 (2016).
- Silva JE, Siqueira HAA, Silva TBM, Campos MR, Barros R, Baseline susceptibility to chlorantraniliprole of Brazilian populations of *Plutella xylostella*. *Crop Prot* **35**:97-101 (2012).
- Sparks TC, Lorsbach BA, Perspectives on the agrochemical industry and agrochemical discovery. *Pest Manag Sci* **73**:672-677 (2017)
- Sparks TC, Nauen R, IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pestic Biochem Physiol* **121**:122-128 (2015).
- Sparks TC, Insecticide discovery: an evaluation and analysis. *Pestic Biochem Physiol* **107**:8-17 (2013).
- Steinbach D, Gutbrod O, Lümmen P, Matthiesen S, Schorn C, Nauen R, Geographic spread, genetics and functional characteristics of ryanodine receptor based target-site resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Insect Biochem Mol Biol* **63**:14-22 (2015).
- Tohnishi M, Nakao H, Furuya T, Seo A, Kodama H, Tsubata K, Fujioka S, Kodama H, Hirooka T, Nishimatsu T, Flubendiamide, a novel insecticide highly active against lepidopterous insect 735 pests. *J Pestic Sci* **30**:354-360 (2005).
- Troczka B, Zimmer CT, Elias J, Schorn C, Bass C, Davies TG, Field LM, Williamson MS, Slates R, Nauen R, Resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) is associated with a mutation in the membrane-spanning domain of the ryanodine receptor. *Insect Biochem Mol Biol* **42**:873-880 (2012).

Uchiyama T, Ozawa A, Rapid development of resistance to diamide insecticides in the smaller tea tortrix, *Adoxophyes honmai* (Lepidoptera: Tortricidae), in tea fields of Shizuoka Prefecture, Japan. *Appl Entomol Zool* **49**:529-534 (2014).

Wang X, Khakame SK, Ye C, Yang Y, Wu Y, Characterisation of field-evolved resistance to chlorantraniliprole in the diamond back moth, *Plutella xylostella*, from China. *Pest Manag Sci* **69**:661-665 (2013).

Wang XL, Wu YD, High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field populations of *Plutella xylostella*. *J Econ Entomol* **105**:1019-1023 (2012).

Wu M, Zhang S, Yao R, Wu S, Su J, Gao C, Susceptibility of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae), to flubendiamide in China. *J Econ Entomol* **107**:1250-1255 (2014).



## 2. MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A INSETICIDAS DIAMIDAS NO BRASIL

### Resumo

O monitoramento da resistência a inseticidas é fundamental para que as estratégias de manejo da resistência sejam adotadas de maneira preventiva, retardando a evolução da resistência e prolongando a efetividade dos inseticidas no controle de pragas. Neste trabalho objetivou-se monitorar a resistência de populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) a inseticidas diamidas no Brasil, utilizando métodos de monitoramento genotípico e fenotípico. No monitoramento genotípico, a técnica do F<sub>2</sub> “screen” foi utilizada para estimar a frequência do alelo de resistência de *S. frugiperda* ao inseticida chlorantraniliprole em populações de *S. frugiperda* coletadas nas principais regiões produtoras de milho no Brasil durante os anos agrícolas 2016 e 2017. Já no monitoramento fenotípico, foram utilizadas concentrações diagnósticas de chlorantraniliprole e flubendiamide em  $\approx$  70 populações de *S. frugiperda* coletadas entre os anos agrícolas 2016 e 2018. No monitoramento genotípico foram testadas 817 isolinhas provenientes de 14 populações de *S. frugiperda* coletadas nas principais regiões produtoras de milho no Brasil. Dentre as populações testadas, foi verificada uma variação de 0,0030 a 0,0781 na frequência estimada de alelos que conferem resistência a chlorantraniliprole, com uma média geral de 0,0217. No monitoramento fenotípico, foi observado uma variação na sobrevivência larval de 0,00 a 32,08 % quando expostas a concentração diagnóstica de 0,505 µg de chlorantraniliprole cm<sup>-2</sup> e de 0,00 a 46,25% na concentração diagnóstica de 2,842 µg de flubendiamide cm<sup>-2</sup>. As populações de *S. frugiperda* provenientes de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Bahia apresentaram as maiores sobrevivências nas concentrações diagnósticas testadas. Os resultados obtidos no presente trabalho evidenciam o elevado risco de evolução da resistência de *S. frugiperda* a inseticidas diamidas, necessitando a implementação de estratégias efetivas de manejo da resistência para preservar a vida útil de diamidas para o manejo desta praga.

**Palavras-chave:** Chlorantraniliprole; Flubendiamide; F<sub>2</sub> “screen”; Lagarta-do-cartucho do milho; Manejo da resistência a inseticidas

### Abstract

Monitoring insecticide resistance is essential for proactive resistance management strategies to delay the evolution of resistance and extend the effectiveness of insecticides to pest control. In this study, we monitor the diamide resistance in Brazilian populations of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), using genotypic and phenotypic monitoring methods. In genotypic monitoring, the F<sub>2</sub> screen method was used to estimate the chlorantraniliprole resistance allele frequency in field populations of *S. frugiperda* collected from major maize-productions regions in Brazil during crop seasons of 2016 and 2017. In the phenotypic monitoring, diagnostic concentrations of chlorantraniliprole and flubendiamide were used in  $\approx$  70 populations of *S. frugiperda* collected during crop seasons of 2016 to 2018. In the genotypic monitoring, we tested 817 isofamilies from 14 populations of *S. frugiperda* and the chlorantraniliprole resistant allele frequency ranged from 0.0030 to 0.0781, with an average of 0.0217. In the phenotypic monitoring, the survival of *S. frugiperda* populations ranged from 0.00 to 32.08% at the diagnostic concentration of 0.505 µg chlorantraniliprole cm<sup>-2</sup> and from 0.00 to 46.25% at diagnostic concentration of 2.842 µg flubendiamide cm<sup>-2</sup>. Populations of *S. frugiperda* from

Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul and Bahia states showed the highest survival rates. The results obtained herein showed a high risk of *S. frugiperda* resistance to diamide insecticides, requiring the implementation of effective resistance management strategies to preserve the lifetime of diamides to manage this pest.

Keywords: Chlorantraniliprole; Flubendiamide; F<sub>2</sub> screen; Fall armyworm; Insecticide resistance management

### 3. SELEÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A CHLORANTRANILIPROLE E RESISTÊNCIA CRUZADA A INSETICIDAS DIAMIDAS

#### Resumo

O entendimento das bases genéticas associadas à resistência pode auxiliar na implementação de estratégias de manejo da resistência a inseticidas (MRI). Neste estudo nós selecionamos e caracterizamos a herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) ao inseticida chlorantraniliprole, e a resistência cruzada com os demais inseticidas diamidas. Os valores de CL<sub>50</sub> das linhagens suscetível (Sus) e resistente a chlorantraniliprole (Chlorant-R) foram 0,011 e 2,610 µg i.a.cm<sup>-2</sup>, respectivamente, resultando em uma razão de resistência de 237,4 vezes. Os valores de CL<sub>50</sub> dos cruzamentos recíprocos foram de 0,155 µg i.a. cm<sup>-2</sup> e 0,164 µg i.a. cm<sup>-2</sup> indicando que a resistência é autossômica. A herança da resistência foi incompletamente recessiva em concentrações próximas a concentrações recomendadas de chlorantraniliprole. Em plantas tratadas com a concentração de campo de chlorantraniliprole ocorreu 60% de sobrevivência de lagartas da linhagem Chlorant-R e 15% de sobrevivência de lagartas da linhagem heterozigota. A linhagem resistente a chlorantraniliprole apresentou moderada resistência cruzada para cyantraniliprole (RR ≈ 27 vezes) e muito alta para flubendiamide (RR > 42000 vezes). O padrão de herança da resistência de *S. frugiperda* a chlrontraniliprole foi caracterizada como autossômica, incompletamente recessiva e monogênica. Foi verificada a ocorrência de resistência cruzada entre inseticidas diamidas. Estes resultados fornecem informações essenciais para a implementação de programas de manejo de resistência paara preservar a vida útil de inseticidas diamidas para o controle de *S. frugiperda* no Brasil.

**Palavras-chave:** Cyantraniliprole; Flubendiamide; Herança da resistência; Lagarta-do-cartucho do milho; Manejo da resistência a inseticidas

#### Abstract

Understanding the genetic basis of insect resistance to insecticides can help to implement Insecticide Resistance Management (IRM) strategies. In this study, the resistance of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) to chlorantraniliprole was selected and characterized, and the occurrence of cross-resistance between the remaining diamide insecticides was evaluated. The estimated LC<sub>50</sub> values were 0.011 and 2.610 µg a.i. cm<sup>-2</sup> for the susceptible (Sus) and chlorantraniliprole resistant (Chlorant-R) strains, respectively, resulting in a resistance ratio (RR) of 237-fold. The LC<sub>50</sub> values of the reciprocal crosses were 0.155 µg a.i. cm<sup>-2</sup> and 0.164 µg a.i. cm<sup>-2</sup>, indicating that the resistance assumes autosomal inheritance. Resistance was characterized as incompletely recessive and monogenic at concentrations close to the recommended field rate of chlorantraniliprole. Survival of the resistant-strain and heterozygous larvae in maize plants treated at the field rate was 60 and 15% respectively. The Chlorant-R strain showed moderate cross-resistance to cyantraniliprole (RR ≈ 27-fold) and very high cross-resistance to flubendiamide (RR > 42,000-fold). The inheritance of chlorantraniliprole resistance was characterized as autosomal, incompletely recessive and monogenic. *S. frugiperda* showed cross-resistance to other diamide insecticides. These results provide

essential information for the implementation of IRM programs to preserve the useful life of diamide insecticides for controlling *S. frugiperda* in Brazil.

Keywords: Cyantraniliprole; Fall armyworm; Flubendiamide; Resistance inheritance; Resistance management

## 4. INVESTIGAÇÃO DOS MECANISMOS ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA DE *Spodoptera frugiperda* A INSETICIDAS DIAMIDAS

### Resumo

A lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), é um dos principais lepidópteros-praga na América Latina e na América do Norte, mas recentemente invadiu o continente Africano e Asiático. Existem relatos de evolução da resistência de *S. frugiperda* a diversos inseticidas e toxinas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) expressas em milho transgênico. Neste trabalho investigamos a extensão e os mecanismos de resistência a inseticidas diamidas em uma linhagem de *S. frugiperda* coletada em campo e selecionada com clorantraniliprole. A seleção contínua em laboratório com clorantraniliprole nesta linhagem resultou em razões de resistência de 224,5 vezes e > 5400 vezes para clorantraniliprole e flubendiamide, respectivamente, quando comparado a linhagem suscetível. A pré-exposição a diferentes sinergistas conhecidos por inibir enzimas de detoxificação [piperonyl butoxide (PBO), diethyl maleate (DEM) and S, S, S-tributyl phosphorotritioate (DEF)] não resultou em aumento significativo da toxicidade larval, sugerindo um menor efeito de resistência metabólica. No sequenciamento dos domínios II a VI do receptor de rianodina (RyR) de *S. frugiperda* obteve-se um SNP associado à mutação I4734M, a qual foi recentemente descrita por conferir resistência devido à alteração do sítio de ação de diamidas em Lepidoptera. A genotipagem por pirosequenciamento de lagartas de *S. frugiperda*, coletadas em campo no ano agrícola 2018, sugere uma baixa frequência alélica de resistência. A mutação identificada no RyR foi descrita recentemente conferindo resistência a diamidas em outros lepidópteros-praga no campo. O desenvolvimento do ensaio de discriminação alélica baseado em PCR auxiliará na detecção, monitoramento e disseminação do alelo de resistência a diamidas em populações de campo de *S. frugiperda* auxiliará na implementação de medidas apropriadas de manejo da resistência.

**Palavras-chave:** Chlorantraniliprole; Flubendiamide; Lagarta-do-cartucho do milho; Mutação; Receptor de rianodina

### Abstract

Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), is a major lepidopteran pest in Latin and North America, but very recently invaded the African and Asian continent. *S. frugiperda* evolved resistance to several different insecticides and transgenic corn expressing *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxins. Here we investigated the extent and mechanisms of resistance to diamide insecticides in a Brazilian field-collected FAW strain selected with chlorantraniliprole. Continuous laboratory selection of a field-collected FAW strain with chlorantraniliprole resulted in resistance ratios of 224.5-fold and >5400-fold against chlorantraniliprole and flubendiamide, respectively, when compared to a susceptible strain. Pre-exposure to different synergists known to inhibit detoxification enzymes [piperonyl butoxide (PBO), diethyl maleate (DEM) and S, S, S-tributyl phosphorotritioate (DEF)] did not result in significantly increased larval toxicity, suggesting a minor role of metabolic resistance. Sequencing of *S. frugiperda* ryanodine receptor (RyR) C-terminal domains II to VI revealed a SNP, resulting in a I4734M mutation recently described to confer target-site resistance to diamides in lepidopteran pests. Genotyping by pyrosequencing of field-collected *S. frugiperda* larvae sampled in crop season 2018 suggests a low resistance allele frequency. The identified RyR mutation has been recently shown to confer field resistance in other lepidopteran pests.

The development of PCR-based allelic discrimination assay to detect this mutation will help to monitor the frequency and future spread of the diamide resistance allele in *S. frugiperda* field populations and to implement appropriate resistance management measures.

Keywords: Chlorantraniliprole; Flubendiamide; Fall armyworm; Mutation; Ryanodine receptor

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A resistência de insetos a inseticidas é um dos entraves da produção agrícola mundial, portanto prolongar a eficiência das diferentes táticas de controle é essencial garantir que o método a ser empregado seja eficiente. Estratégias de detecção e monitoramento, além de estudos que caracterizam as bases genéticas e moleculares da resistência, são fundamentais para que um programa de manejo da resistência seja estabelecido de forma proativa e eficiente. Neste estudo foram utilizados diferentes métodos para monitorar a resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas diamidas no Brasil, além da caracterização das bases genéticas associadas à resistência de *S. frugiperda* a chlorantraniliprole e a identificação de um possível mecanismo de resistência associado a mutação nos receptores de rianodina.

Os resultados obtidos no monitoramento da resistência de *S. frugiperda* a inseticidas diamidas demonstram que estratégias de manejo da resistência em algumas regiões do país devem ser adotadas de maneira correta e urgente, a fins de se evitar falhas no controle em razão da evolução da resistência. Além disso, a herança da resistência de *S. frugiperda* a chlorantraniliprole foi caracterizada como autossômica, incompletamente recessiva e monogênica, características que favorecem uma rápida evolução da resistência, em razão da sobrevivência de heterozigotos e do número de genes associados à resistência. O estudo também verificou a ocorrência de resistência cruzada entre os inseticidas diamidas, característica que afeta a evolução da resistência no campo devido a seleção de indivíduos resistentes não somente por um inseticida. Também foi verificada a ocorrência de uma mutação (I4734M) no gene que codifica o receptor de rianodina na linhagem resistente a diamidas, esta mutação já foi associada à resistência a diamidas em outros lepidópteros-praga e pode estar relacionada a resistência de *S. frugiperda* a este grupo, entretanto a ocorrência de mutações não foi reportada em indivíduos coletados no campo no ano agrícola 2018.

Inseticidas diamidas representam uma excelente opção para o manejo de *S. frugiperda*, pois devido a suas características toxicológicas, este grupo pode ser usado em associação a outras táticas controle dentro de um programa de manejo integrado de pragas. Este estudo fornece informações para que táticas de manejo da resistência sejam implementadas com o objetivo de diminuir a frequência de resistência no campo, reduzir a pressão de seleção e prolongar a vida útil dos inseticidas diamidas no controle de *S. frugiperda*.