Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Caracterização da suscetibilidade a inseticidas reguladores de crescimento de insetos em populações de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) do Brasil

Douglas Amado

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

Piracicaba
2017

Douglas Amado
Engenheiro Agrônomo

Caracterização da suscetibilidade a inseticidas reguladores de crescimento de insetos em populações de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) do Brasil

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

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

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

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Amado, Douglas

Caracterização da suscetibilidade a inseticidas reguladores de crescimento de insetos em populações de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) do Brasil / Douglas Amado - - versão revisada de acordo com a resolução CoPG 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

72 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Helicoverpa armigera 2. *Spodoptera frugiperda* 3. Lufenuron 4. Methoxifenozide 5 Manejo da resistência de insetos I. Título

A meu pai Ernesto Amado a minha mãe Nilce Bigatton Amado, a minha Irmã Mara Luiza Amado e a minha namorada e companheira Marilis Shimano, que sempre estiveram ao meu lado, incentivando e apoiando em todos os momentos

Dedico e Agradeço

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Celso Omoto pela orientação, ensinamento, amizade e oportunidade para realização deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), pelos conhecimentos transmitidos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Comitê Brasileiro de Ação à Resistência a Inseticidas (IRAC-BR) pelo apoio financeiro e auxílio na coleta de populações de *Helicoverpa armigera e Spodoptera frugiperda*.

A todos os amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Entomologia (ESALQ/USP) pelo agradável convívio e companheirismo.

Aos amigos do Laboratório de Resistência de Artrópodes a Táticas de Controle (ESALQ/USP), Rogério Machado, Mariana Durigan, Marcelo Mocheti, Eric Cordeiro, Fernando Semmelroth, Anderson Bolzan, Ewerton Lira, Antônio Rogério Nascimento, Osmar Arias, Ingrid Schimidt Kaiser, José Paulo Bentivenha, Rubens Kanno, Sandy Spineli e Dyrson Abbade Neto, pela amizade, convívio, companheirismo e auxílio na condução deste trabalho.

Aos amigos e colegas que foram do Laboratório de Resistência de Artrópodes a Táticas de Controle (ESALQ/USP), Oderlei Bernardi, Aline Guidolin, Renato Jun Horikoshi, Daniela Miyuki Okuma, Felipe Antônio Domingues e Natália Alves Leite, pela amizade, convívio e troca de conhecimento.

À pesquisadora Dra. Eloisa Salmeron do Laboratório de Resistência de Artrópodes a Táticas de Controle, pelo convívio e ensinamentos.

À técnica Gislaine Aparecida Amâncio de Oliveira Campos do Laboratório de Resistência de Artrópodes a Táticas de Controle (ESALQ/USP), pelo convívio agradável, amizade e auxílios prestados.

Aos estagiários do Laboratório de Resistência de Artrópodes a Táticas de Controle, Marcelo Mocheti, Alessandra Tokarski, Pedro Henrique Campos, Alexandre Colli, Mariana Colli e Natasha Umezu, pela amizade e ajuda durante a execução deste trabalho.

Aos amigos com quem morei em Piracicaba, Oderlei Bernardi, Daniel Bernardi e Marcio Blanco das Neves, pelo convívio agradável, companheirismo e incentivo.

A todos os funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, pela dedicação e aos serviços prestados.

Às bibliotecárias Silvia Maria Zinsly e Eliana Maria Garcia, da Biblioteca Central da ESALQ/USP, pelo auxílio na formatação deste trabalho.

Aos meus pais Ernesto Amado e Nilce Bigatton Amado e minha irmã Mara Luiza Amado pelo amor, incentivo, apoio, confiança e por me ajudarem a conquistar meus objetivos.

À minha namorada e companheira Marilis Yoshie Hayashi Shimano, pelo amor, paciência, carinho, confiança, incentivo e por estar sempre ao meu lado nos momentos bons e ruins, pois sem ela o meu caminho teria sido solitário.

SUMÁRIO

RESUMO 8
ABSTRACT 9
LISTA DE FIGURAS 10
LISTA DE TABELAS 11
1 INTRODUÇÃO 13
Referências 15
2 REVISÃO DE LITERATURA 19
2.1 Aspectos bioecológicos de *Helicoverpa armigera* 19
2.2 Aspectos bioecológicos de *Spodoptera frugiperda* 20
2.3 Inseticidas reguladores de crescimento de insetos 21
2.4 Casos de resistência a inseticidas reguladores de crescimento de insetos 23
2.5 Métodos de detecção e monitoramento de resistência 24
Referências 26
3 VARIABILIDADE GEOGRÁFICA E TEMPORAL NA SUSCETIBILIDADE A LUFENURON E METHOXIFENOZIDE EM POPULAÇÕES DE *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) DO BRASIL 33
Resumo 33
Abstract 33
3.1 Introdução 34
3.2 Material e Métodos 36
3.2.1 Criação e manutenção das populações de *H. armigera* 36
3.2.2 Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide 38
3.2.3 Monitoramento da suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide 38
3.2.4 Seleção de linhagens suscetível e resistente de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide 39
3.3 Resultados 40
3.3.1 Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide 40
3.3.2 Monitoramento da suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide 44
3.3.3 Seleção de linhagens suscetível e resistente de *H. armigera* a lufenuron methoxifenozide 46
3.4 Discussão 48

3.5 Conclusões.....51
Referências.....51
4 CARACTERIZAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE A METHOXIFENOZIDE EM POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) DO BRASIL.....57
Resumo.....57
Abstract.....57
4.1 Introdução.....58
4.2 Material e Métodos.....59
4.2.1 Insetos.....59
4.2.2 Criação e manutenção de *S. frugiperda* em laboratório.....61
4.2.3 Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide.....61
4.2.4 Monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide.....62
4.2.5 Seleção de linhagen resistente de *S. frugiperda* a methoxifenozide.....62
4.3 Resultado.....63
4.3.1 Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade a methoxifenozide em populações de *S. frugiperda* do Brasil.....63
4.3.2 Monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* ao inseticida methoxifenozide.....64
4.3.3 Seleção de linhagem resistente de *S. frugiperda* a methoxifenozide.....65
4.4 Discussão.....66
4.5Conclusões.....68
Referências.....69

RESUMO

Caracterização da suscetibilidade a inseticidas reguladores de crescimento de insetos em populações de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda (*Lepidoptera: Noctuidae) do Brasil

Os reguladores de crescimento de insetos têm sido um dos mais importantes grupos de inseticidas recomendados para o controle de *Helicoverpa armigera* (Hübner) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) no Brasil, que são consideradas pragas-chave de vários sistemas de produção agrícola. Para implementar programas de manejo da resistência de insetos, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a suscetibilidade a inseticidas reguladores de crescimento de insetos em populações de *H. armigera* e *S. frugiperda* do Brasil. A caracterização das linhas-básica de suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide e de *S. frugiperda* a methoxifenozide foi realizada com bioensaio de tratamento superficial da dieta artificial com inseticida, utilizando-se lagartas de 3º instar. Foram verificadas baixa variabilidade na suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron, com DL_{50} variando de 0,30 a 1,02 µg de i.a./cm^2 de dieta, e a methoxifenozide, com DL_{50} de 2,61 a 8,02 µg de i.a./cm^2 de dieta, em populações coletadas em diferentes regiões agrícolas na safra 2013/2014. As doses diagnósticas, baseadas na $DL_{99,}$ foram de 6,36 µg de i.a/cm^2 de dieta para lufenuron e 31,10 µg de i.a/cm^2 de dieta para methoxifenozide. Foram observadas variações geográfica e temporal na suscetibilidade a lufenuron e methoxifenozide em populações de *H. armigera* coletadas nas safras de 2013/2014 a 2016/2017; contudo, não foi possível isolar linhagens de *H. armigera* resistentes a estes inseticidas, mediante o uso de técnicas de "F_2 screen" e seleção massal. Uma baixa variabilidade na suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide foi observada para as populações coletadas na segunda safra de 2016, com DL_{50} variando de 0,5 a 2,1 µg de i.a/cm^2 de dieta. A dose diagnóstica (DL_{99}) para monitoramento da suscetibilidade a methoxifenozide em populações de *S. frugiperda* foi de 6 µg de i.a/cm^2 de dieta. Na 2ª safra de 2016, a sobrevivência das populações de *S. frugiperda* avaliadas foram baixas, com valores inferiores a 10% na dose diagnóstica. Por outro lado, na 1ª safra de 2017, houve aumento na sobrevivência das populações testadas, atingindo valores de até 62%. A linhagem de *S. frugiperda* resistente a methoxifenozide selecionada em condições de laboratório apresentou uma baixa razão de resistência (≈5 vezes). Os resultados da presente pesquisa confirmaram a alta suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide e de *S. frugiperda* a methoxyfenozide. As informações obtidas no presente estudo servirão para a implementação de programas proativos de manejo da resistência a esses inseticidas.

Palavras-chave: Lufenuron; Methoxifenozide; Manejo da resistência de insetos

ABSTRACT

Characterization of the susceptibility to insect growth regulator insecticides in populations of *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) from Brazil

Insect growth regulators have been one of the most important group of insecticides recommended for controlling *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) in Brazil which are considered key pests of several crop production systems. To implement insect resistance management programs, the objective of this research was to characterize the susceptibility to insect growth regulators in *H. armigera* and *S. frugiperda* populations from Brazil. Baseline susceptibilities of *H. armigera* to lufenuron and methoxifenozide and *S. frugiperda* to methoxifenozide were conducted with artificial diet overlay bioassays using 3rd instar larvae. There was low variability in the susceptibility of *H. armigera* to lufenuron, with LD_{50} ranging from 0.30 to 1.02 μg of a.i./cm^2 of diet, and to methoxifenozide, with LD_{50} of 2.61 to 8.02 μg of a.i./cm^2 of diet across populations collected in different agricultural regions in 2013/2014 growing season. The diagnostic doses, based on DL_{99}, were 6.36 μg of a.i./cm^2 of diet for lufenuron and 31.10 μg of a.i./cm^2 of diet for methoxifenozide. Geographic and temporal variations in susceptibility to lufenuron and methoxifenozide were observed in populations of *H. armigera* collected from 2013/2014 to 2016/2017 growing seasons; however, it was not possible to isolate resistant strains to these insecticides using F_2 screen and massal selection approaches. There was also a low variability in the susceptibility of *S. frugiperda* to methoxifenozide across populations collected in the 2nd crop season in 2016, with LD_{50} ranging from 0.5 to 2.1 μg of a.i./cm^2 of diet. The diagnostic dose (DL_{99}) for monitoring the susceptibility to methoxifenozide in *S. frugiperda* populations was 6 μg of a.i./cm^2 of diet. In the 2nd crop season of 2016, the survival at diagnostic dose of *S. frugiperda* populations evaluated was low (< 10%). On the other hand, in the 1st crop season of 2017, there was a significant increase in the survival across the populations tested, with values reaching up to 62% at diagnostic dose. The laboratory-selected resistant strain of *S. frugiperda* to methoxifenozide showed a low resistance ratio (≈5 times). We confirmed the high susceptibility of *H. armigera* to lufenuron and methoxifenozide and *S. frugiperda* to methoxifenozide in Brazil. The information collected in this study will be important for implementing a proactive resistance management programs to these insecticides.

Keywords: Lufenuron; Methoxyfenozide; Insect resistance management

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Curvas de dose-resposta de lufenuron em populações de *H. armigera* do Brasil. 42
Figura 3.2. Curvas de dose-resposta de methoxifenozide em populações de *H. armigera* do Brasil. 43
Figura 3.3 Monitoramento da suscetibilidade a lufenuron em populações de *H. armigera* do Brasil 45
Figura 3.4 Monitoramento da suscetibilidade a methoxifenozide em populações de *H. armigera* do Brasil 46
Figura 4.1 Curvas de dose-resposta de methoxifenozide em populações de *S. frugiperda* do Brasil. 64
Figura 4.2 Monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide na segunda safra de 2016 e primeira safra de 2017.. 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 Procedência, geração avaliada, data de coleta, cultura de coleta e código das populações de *H. armigera* utilizadas para o monitoramento da suscetibilidade e seleção de linhagens resistentes. 37

Tabela 3.2. Caracterização da linha-básica de suscetibilidade a lufenuron com populações de *H. armigera* coletadas em diferentes culturas na safra 2013/2014. 41

Tabela 3.3. Caracterização da linha-básica de suscetibilidade a methoxifenozide com populações de *H. armigera* coletadas em diferentes culturas na safra 2013/2014. 41

Tabela 3.4 Estimativa da DL_{99} através das populações de campo de *H. armigera* da safra 2013/2014. 43

Tabela 3.5 Seleção de populações resistentes de *H. armigera* a lufenuron via técnica de "F_2 screen" em populações de campo da safra 2014/2015. 47

Tabela 3.6 Seleção de populações resistentes de *H. armigera* aos inseticidas lufenuron e methoxifenozide via seleção massal nas safras 2013/2014, 2014/2015, 2015/2016 e 2016/2017. 48

Tabela 3.7. Suscetibilidade da população BA33 a lufenuron e methoxifenozide, após 24 gerações. 48

Tabela 4.1 Populações de *S. frugiperda* testada em estudos de caracterização e monitoramento da suscetibilidade. 60

Tabela 4. 2 Caracterização da linha-básica de suscetibilidade a methoxifenozide com populações de *S. frugiperda* de laboratório e coletadas na cultura do milho na 1ª safra de 2016. 63

Tabela 4.3 Seleção de populações resistentes de *H. armigera* ao inseticida methoxifenozide via seleção massal na 1ª safra de 2016. 66

Tabela 4.4 Suscetibilidade de populações selecionadas na 2ª safra de 2016 e 1ª safra de 2017 a methoxifenozide na dose diagnóstica de 6 µg de i.a/cm^2 de dieta. 66

1 INTRODUÇÃO

Após a revolução verde, que ocorreu na década de 70, o Brasil passou a adotar o sistema de monocultura com a expansão da agricultura para a região do cerrado, aumentando assim a produção de grãos e fibras, tornando-se um grande exportador de *commodities* agrícolas como soja, algodão e milho. Com clima favorável o ano todo e o avanço da mecanização, o sistema de cultivo passou a ser de sobreposição e/ou sucessão, proporcionando assim o estabelecimento e aumento populacional de insetos-praga (OLIVEIRA et al., 2014). Isso promoveu grandes perdas econômicas em produtividade agrícola, levando ao aumento no uso de inseticidas. Porém, com o uso intensivo de inseticidas, casos de resistência de insetos começaram a ser registrados reduzindo o número de moléculas eficientes para o controle de determinadas espécies. Em virtude disto, a busca de novas moléculas inseticidas de baixo risco ao ambiente, ao homem e com seletividade a inimigos naturais. Assim, foram descobertos e sintetizados inseticidas do grupo dos neonicotinoides, avermectinas, espinosinas, reguladores de crescimento de insetos (RCI), diamidas, entre outros (KODANDARAM; RAI; HALDAR, 2010).

Os inseticidas RCI apresentam moderada toxicidade a insetos não-alvo, tornando-se uma ferramenta para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) (DHADIALLA; CARLSON; LE, 1998). Dentre os RCI podemos destacar o grupo dos inibidores da síntese de quitina, como por exemplo, o lufenuron. Este inseticida impede a formação da cutícula, em decorrência de falhas na deposição de quitina (MULDER; GIJSWIJT, 1973). O inseto cresce normalmente até o momento da ecdiese, porém o exoesqueleto não está devidamente formado, levando-o à morte. Outro grupo muito importante é o dos agonistas de receptores de ecdisteroides, como por exemplo, o inseticida methoxifenozide. Este inseticida acelera a ecdiese dos insetos, sem que o inseto esteja preparado para realizá-la. Isto acarreta na não esclerotização da cutícula, com rompimento do intestino posterior e perda de hemolinfa, levando o inseto à morte (DHADIALLA; CARLSON; LE, 1998). Esses inseticidas têm como principais alvos de controle espécies-praga da ordem Lepidoptera (DHADIALLA; CARLSON; LE, 1998). Com o aumento de problemas no controle de pragas no Brasil, o uso de inseticidas RCI tem sido uma opção no manejo de pragas como *Helicoverpa armigera* (Hübner) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith).

H. armigera é uma praga extremamente polífaga (FITT, 1989; ZALUCKI et al., 1986) e tem como principal característica uma alta capacidade de dispersão (FITT, 1989). Logo foi identificada no Brasil em 2013 (CZEPAK et al., 2013; SPECHT et al., 2013), Porém *H.*

armigera tem como origem países dos continente asiático, europeu e oceania, onde há relatos de falhas no controle, devido à resistência a alguns inseticidas (LEITE et al., 2014). Até o momento, o banco de dados de resistência de artrópodes da Michigan State University relata mais de 750 casos de resistência para *H. armigera* (ARTHROPOD PESTICIDE RESISTANCE DATABASE, 2017). Na Austrália foram relatados casos de resistência a inseticidas piretroides (FORRESTER et al., 1993), carbamatos (GUNNING; MOORES; DEVONSHIRE, 1998) e espinosinas (WANG et al., 2009). Há registros em outros países a distintos inseticidas, tais como abamectin no Paquistão (ALVI et al., 2012), endosulfam na Espanha (AVILLA; GONZÁLEZ-ZAMORA, 2010), lambda cyhalothrin na Turquia (KONUS; KARAAGAC; ISCAN, 2014) e baixa razão de resistência aos RCI lufenuron e methoxifenozide no Paquistão (HUSSAIN; SALEEM; SALEEM, 2014).

Outra espécie de grande importância no Brasil é *S. frugiperda* (CRUZ, 1995a). Trata-se de uma praga polífaga, tendo como principal hospedeiro o milho (CRUZ, 1995b), mas também relatada em soja (MOSCARDI, F.; KASTELIC, 1985) e algodão (SANTOS et al., 2011), promovendo grandes perdas de produtividade agrícola. No Brasil, o controle dessa praga tem sido realizado com o uso de inseticidas e de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas Bt (*Bacillus thurigiensis*, Berliner). No entanto, há registros de falhas no controle devido à resistência a diversos inseticidas como lambda cyhalothrin (DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001; CARVALHO et al., 2013), chlorpyrifos (CARVALHO et al., 2013) e lufenuron (NASCIMENTO et al., 2016), bem como a plantas Bt (FARIAS et al., 2014; OMOTO, 2016).Também foram registrados casos de resistência em outros países do continente americano, por exemplo, a piretroides, organofosforados e carbamatos no sul da Flórida dos EUA (YU, 1992) e a lambda cyhalothrin e deltamethrin no México (LEON-GARCIA et al., 2012). De acordo com o banco de dados de resistência de artrópodes da Michigan State University (2017), há mais de 60 registros de resistência a inseticidas para essa espécie.

Com o intuito de prolongar a vida útil dos inseticidas RCI como lufenuron e methoxifenozide, estudos que avaliem o risco de resistência em populações de *H. armigera* e *S. frugiperda* são essenciais para subsidiar de forma proativa o Manejo da Resistência de Insetos (MRI) (ROUSH; MCKENZIE, 1987a; ROUSH; MILLER, 1986). Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivos específicos:

- Avaliar a variabilidade geográfica e temporal na suscetibilidade aos inseticidas RCI lufenuron e methoxifenozide em populações de *H. armigera* do Brasil.

- Caracterizar e monitorar a suscetibilidade a methoxifenozide em populações de *S. frugiperda* do Brasil.

Referências

ALVI, A. H. K. et al. Field evolved resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in Pakistan. **Plos One**, v. 7, n. 10, p. e47309, 15 out. 2012.

AVILLA, C.; GONZÁLEZ-ZAMORA, J. E. Monitoring resistance of *Helicoverpa armigera* to different insecticides used in cotton in Spain. **Crop Protection**, v. 29, n. 1, p. 100–103, jan. 2010.

CARVALHO, R. A. et al. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Plos One**, v. 8, n. 4, p. e62268, 17 abr. 2013.

CRUZ, I. **Manejo integrado de pragas de milho com ênfase para o controle biológico**. Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de Pragas. **Anais**...Campinas: 1995

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: [s.n.]. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/475779>.

CZEPAK, C. et al. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 1, p. 110–113, mar. 2013.

DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R.; LE, D. P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annual Review of Entomology**, v. 43, n. 1, p. 545–569, jan. 1998.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) a lambda-cialotrina. **Proteção de Plantas**, v. 30, n. 2, p. 311–316, 2001.

DOURADO, P. M. et al. Correction: high susceptibility to Cry1Ac and low resistance allele frequency reduce the risk of resistance of *Helicoverpa armigera* to Bt soybean in Brazil. **Plos One**, v. 11, n. 10, p. e0165142, 17 out. 2016.

FARIAS, J. R. et al. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150–158, out. 2014.

FITT, G. P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, v. 34, p. 17–52, 1989.

FORRESTER, N. W. et al. Management of pyrethroid and endosulfan resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera, Noctuidae) in Australia. **Bulletin of Entomological Research**, n. 1, p. R1-132, 1993.

GUNNING, R. V.; MOORES, G. D.; DEVONSHIRE, A. L. Insensitive acetylcholinesterase and resistance to organophosphates in Australian *Helicoverpa armigera*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 62, n. 3, p. 147–151, dez. 1998.

HUSSAIN, D.; SALEEM, H. M.; SALEEM, M. Monitoring of insecticides resistance in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner .) (Lepidoptera : Noctuidae). v. 2, n. 6, p. 1–8, 2014.

KODANDARAM, M. H.; RAI, A. B.; HALDAR, J. Novel insecticides for management of insect pest in vegetable crops: **A Review Vegetable Science**, 2010. Disponível em: <https://www.google.com.br/?gws_rd=ssl#q=NOVEL+INSECTICIDES+FOR+MANAGEMENT+OF+INSECT+PESTS+IN+VEGETABLE+CROPS+:+A+REVIEW>. Acesso em: 11 fev. 2017

KONUS, M.; KARAAGAC, S. U.; ISCAN, M. Analysis of molecular resistance mechanisms in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Noctuidae: Lepidoptera) populations under pyrethroid stress in Turkey. **Journal Of The Entomological Research Society**, v. 16, n. 2, p. 81–92, 2014.

LEITE, N. A. et al. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **Plos One**, v. 9, n. 11, nov. 2014.

LEON-GARCIA et al. Insecticide susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associated with turfgrass at Quintana Roo, México. **Agrociencia**, v. 46, p. 279–287, 2012.

MOSCARDI, F.; KASTELIC, J. G. Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja/ PR**. EMBRAPA.** Centro Nacional de Soja. Resultados da pesquisa de soja 1984/85**.** Londrina: [s.n.].

MULDER, R.; GIJSWIJT, M. J. The laboratory evaluation of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition. **Pesticide Science**, v. 4, n. 5, p. 737–745, out. 1973.

NASCIMENTO, A. R. B. DO et al. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science**, v. 72, n. 4, p. 810–815, abr. 2016.

OLIVEIRA, C. M. et al. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50–54, fev. 2014.

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

ROUSH, R. T.; MILLER, G. L. Considerations for design of insecticide resistance monitoring programs. **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 2, p. 293–298, 1 abr. 1986.

SANTOS, V. C. et al. Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 2, p. 264–270, 2011.

SPECHT, A. et al. Morphological and molecular identification of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and expansion of its occurrence record in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 689–692, 2013.

WANG, D. et al. Resistance selection and biochemical characterization of spinosad resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 95, n. 2, p. 90–94, out. 2009.

YU, S. J. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 85, n. 3, p. 675–682, 1 jun. 1992.

ZALUCKI, M.; DAGLISH, G.; FIREMPONG, S.; TWINE, P. The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hubner) and *Heliothis punctigera* Wallengren (Lepidoptera, Noctuidae) in Australia - What do we know. **Australian Journal of Zoology**, v. 34, n. 6, p. 779, 1986.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos bioecológicos de *Helicoverpa armigera*

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga polífaga, com mais de 170 plantas hospedeiras, incluindo algodão, milho, soja, tomate e outras (FITT, 1989). A espécie está presente na Ásia, Oceania, Europa, África (ZALUCKI et al., 1986) e foi recentemente identificada no continente americano (ARNEODO et al., 2015; KRITICOS et al., 2015; MURÚA et al., 2014; SPECHT et al., 2013b). No Brasil *H. armigera* foi detectacta na safra agrícola 2012/2013, baseada na morfologia da genitália do macho e análise molecular (CZEPAK et al., 2013; SPECHT et al., 2013b). Contudo, a introdução de *H. armigera* no Brasil se deu em períodos anteriores ao da detecção oficial desta espécie em 2013, visto que a presença foi comprovada em alguns exemplares amostrados em 2008 (SOSA-GÓMEZ et al., 2016).

Os adultos de *H. armigera* apresentam três tipos de movimentação, sendo todos eles, iniciados no começo da noite (FARROW; DALY, 1987). O movimento curto tem duração de 1-2 horas e tem por finalidade a alimentação, oviposição e acasalamento, podendo atingir distâncias de 100-1000 m. O movimento longo, abrange distâncias entre 1 e 10 km, variando de acordo com o tempo de voo e a velocidade dos ventos; sendo que este movimento tem por objetivo o deslocamento entre áreas distintas de plantas hospedeiras. O movimento de dispersão pode chegar a centenas de quilômetros, dependendo das altitudes alcançadas pelas mariposas e o tempo de voo. Este movimento de dispersão ocorre por indução de uma alimentação pouco nutritiva, proporcionando atraso na maturidade sexual dos insetos (HACKETT; GATEHOUSE 1982). Isso indica que a dispersão é facultativa, e portanto, a mudança de região ou hospedeiro poderá ocorrer quando as condições locais para reprodução forem desfavoráveis, como a escassez de alimento e condições climáticas adversas (FITT, 1989).

As características das plantas hospedeiras influenciam o desenvolvimento, a fecundidade e o número de ovos de *H. armigera*. Maior período de tempo em estágio larval foi observado em milho e tomate, e maior peso de lagartas de 6º ínstar nas culturas de milho e algodão (LIU et al., 2004; RAJAPAKSE; WALTER, 2007). O período larval é de aproximadamente 17 dias, sendo geralmente composta por 6 ínstares (ALI; CHOUDHURY, 2008). Lagartas em estágio final de desenvolvimento tendem a causar os maiores danos às culturas. Lagartas no 5º ínstar chegam a ingerir em média, 21,6 mg de alimento (BROWNE; RAUBENHEIMER, 2003), causando severos danos à planta e até mesmo à parte reprodutiva de interesse

econômico (FITT, 1989; ZALUCKI et al., 1986).

A fase pupal tem duração média de 12 dias e ocorre no solo (BROWNE; RAUBENHEIMER, 2003). Nessa fase, o inseto pode entrar em diapausa, dependendo das condições climáticas. Condições de baixa temperatura e clima seco levam a espécie a entrar em processo de diapausa, por até 80 dias (FITT, 1989).

O sucesso de *H. armigera* como praga deve-se em parte ao potencial reprodutivo da espécie. A fecundidade das fêmeas desta espécie está diretamente ligada à temperatura, umidade e nutrição do seu período larval (FITT, 1989). Estudo utilizando 13 genótipos de soja, verificou a capacidade de fêmeas em ovipositar de 2200 a 3000 ovos (NASERI et al., 2011). A fêmea realiza a oviposição normalmente durante o período noturno e coloca os ovos de forma isolada ou em pequenos agrupamentos normalmente na face adaxial das folhas ou sobre os talos, flores, frutos e brotações terminais (MENSAH, 1996). Essa alta fecundidade combinada a um tempo de geração curto dá a essa espécie uma capacidade de aumento populacional elevado.

O Brasil, devido ao clima tropical e sistema de cultivo intensivo, proporciona alimento o ano todo para o inseto, contribuindo no grande potencial de incidência de *H. armigera* no país. Nessas condições, pode ocorrer de 10 a 11 gerações por ano da espécie, levando em conta que o inseto apresenta período de desenvolvimento (ovo-adulto) de 28-30 dias (COAKER, 1959; FITT, 1989).

O conhecimento da possível origem dessa espécie e das características biológicas são de fundamental importância ao manejo de resistência de *H. armigera* a inseticidas, pois, uma vez que estes indivíduos vieram de países do velho mundo, nos quais existem relatos de resistência, há uma grande possibilidade de que estes indivíduos que colonizaram o Brasil tenham sofrido pressão de seleção nos locais de origem; carregando assim, os alelos de resistência a alguns inseticidas (LEITE et al., 2014).

2.2 Aspectos bioecológicos de *Spodoptera frugiperda*

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) tem ocorrência em todo território brasileiro. Esta espécie também apresenta alta polifagia, sendo o milho, a principal planta hospedeira (VALICENTE; CRUZ, 1991), porém encontrada também em algodão (MARTINELLI et al., 2006), arroz (BOTTON et al., 1998), soja (MOSCARDI, F.; KASTELIC, 1985), sorgo (CORTEZ; WAQUIL, 1997), trigo (TAKAHASHI; NAKANO; OSI, 1980) entre outros. Além da polifagia, outro fator que ajuda a ampla distribuição é a

capacidade de dispersão (SPARKS, 1979). Essas características são favoráveis para que esta praga seja encontrada durante todo ano e em várias regiões do território agrícola brasileiro devido ao sistema intensivo de cultivos (CRUZ, 1995).

Outro fator que contribui para o sucesso como praga é a alta capacidade reprodutiva. Segundo (VALICENTE, F. H.; CRUZ, 1991) fêmeas de *S. frugiperda* chegam a ovipositar até 1000 ovos, sendo a oviposição agrupada, formando uma massa de ovos. A fase jovem é constituída de 4 a 7 ínstares, dependendo do tipo de planta hospedeira, temperatura, sexo e genética (ZALUCKI et al., 1986).

A fase pupal ocorre geralmente no solo, exceto em solos compactados, em que a lagarta produz um envoltório com folhas ou outros materiais que são encontrados na superfície, formando um casulo. As pupas apresentam coloração castanho-avermelhado, cujo período de incubação varia de 8 a 30 dias, dependendo da temperatura do ambiente (VICKERY, 1929).

Por *S. frugiperda* ser uma praga polífaga, há estudos que mostram que diferentes hospedeiros podem mudar o comportamento e a fisiologia (PROWELL; MCMICHAEL; SILVAIN, 2004). Foram encontradas raças idênticas morfologicamente, porém, distintas geneticamente (BUSATO et al., 2004), e também aos hábitos reprodutivos e desenvolvimento larval (JUAREZ et al., 2012). PASHLEY; JOHNSON; SPARKS, (1985) identificaram duas possíveis raças de *S. frugiperda*, sendo uma encontrada em milho e algodão (Raça C) e outra encontrada em arroz (Raça R). Diferentes raças em diferentes hospedeiros influenciam diretamente no manejo da resistência de insetos.

2.3. Inseticidas reguladores de crescimento de insetos

O primeiro relato dos inseticidas reguladores de crescimento (RCI), ocorreu em 1956, quando o hormônio juvenil foi isolado do extrato proveniente do abdome de mariposas macho de *Hyalophora cecropia* (L.) (Lepdoptera: Saturniidae). O potencial de uso foi descoberto em 1965, quando criações de *Pyrrhocoris apterus* (L.) (Heteroptera: Pyrrhocoridae) começaram a apresentar baixa eclosão de larvas, impossibilitando-as de chegar à fase adulta. Logo em seguida, descobriu-se que as anomalias ocorriam devido à presença de tiras de papel toalha nos frascos de criação. As tiras de papel apresentavam concentrações do componente juvabione, composto pertencente a árvore *Abis balsamea* da qual é feito o papel. Este composto é um éster metílico do ácido domautico, sendo ele um mímico do hormônio juvenil muito específico da família de hemípteros Pyrrhocoridae. Tal acontecimento ficou conhecido como "*Paper Factor*". Este fato provocou o interesse da indústria na utilização do composto

provenientes de plantas, como uma ferramenta de controle de insetos. Além dos derivados de plantas, outros compostos foram desenvolvidos a partir do conhecimento da bioquímica e fisiologia de desenvolvimento de insetos, conhecidos como inseticidas reguladores de crescimento de insetos (RCI) (TUNAZ; UYGUN, 2004).

Os inseticidas do grupo dos RCI vêm sendo muito utilizados na agricultura e merecem destaque pelo controle efetivo de diversas espécies de insetos-praga. Este grupo de inseticidas atua em sistemas específicos dos insetos, com seletividade a inimigos naturais e baixa toxicidade a mamíferos (KODANDARAM; RAI; HALDAR, 2010).

Um dos integrantes desse grupo é lufenuron, que apresenta ação inseticida por inibição seletiva da síntese de quitina em insetos (POST; VINCENT, 1973). A ação baseia-se na interrupção da formação das estruturas composta por quitina, tendo como consequência, uma deposição endocuticular anormal e muda abortiva (MULDER; GIJSWIJT, 1973).

Inseticidas inibidores da biossíntese de quitina apresentam ação lenta quando comparados a inseticidas neurotóxicos. O lufenuron atua especificamente na cutícula do inseto e exerce ação tóxica sobre formas imaturas, principalmente durante a ecdise. Este composto inseticida tem um papel importante no manejo integrado de pragas, devido à baixa toxicidade para parasitoides, predadores e outros inimigos naturais (COHEN, 1987; MERZENDORFER, 2006).

Outro integrante do grupo de inseticidas RCI é methoxifenozide. Esse inseticida pertence à classe das diacilhidrazinas, que atuam como agonistas de receptores de ecdisteroides e é considerado mais efetivo que os predecessores halofenozide e tebufenozide (CARLSON et al., 2001). O modo de atuação de methoxifenozide consiste na ligação ao receptor de ecdisteroides, iniciando assim o processo de ecdiese. Por se tratar de uma ligação irreversível, a molécula não é eliminada do inseto. Dessa forma, não há uma redução dos níveis de 20E no inseto, o que impede a liberação do hormônio da ecdise, fazendo com que o inseto desenvolva a nova cutícula, irregularmente, não conseguindo sair do tegumento antigo. O desenvolvimento da larva é paralisado neste estágio, e o inseto morre, pois ela expele o intestino posterior e perde o fluído de muda (DHADIALLA; CARLSON; LE, 1998). Insetos mastigadores são mais suscetíveis, pois os análogos de ecdisteroides atuam mais efetivamente por ingestão (RETNAKARAN et al., 2003).

O inseticida methoxifenozide inibe a ecdise em larvas de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera; Pyralidae) e *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Crambidae) (TRISYONO; CHIPPENDALE, 1998). Também tem atuação inseticida sobre a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e sobre *Spodoptera littoralis* Boisd.

(Lepidoptera: Noctuidae) (ISHAAYA; YABLONSKI; HOROWITZ, 1995). Além de se mostrar efetivo sobre vários insetos-praga, outra vantagem desse tipo de inibidor de crescimento consiste na baixa toxicidade perante outros organismos, tornando-o atraente em programas de manejo integrado de pragas. No entanto, um dos grandes entraves no uso de inseticidas está na evolução da resistência (ISHAAYA; YABLONSKI; HOROWITZ, 1995; SWEVERS et al., 2008).

2.4 Casos de resistência a inseticidas reguladores de crescimento de insetos

O Comitê de Ação a Resistência a Inseticidas (IRAC – "Insecticide Resistance Action Committee") define a resistência como uma redução na suscetibilidade de uma determinada população de praga a um inseticida que é observada mediante fracassos repetidos de controle com o uso do mesmo inseticida. Na tentativa de obter níveis populacionais abaixo do nível de dano econômico, o uso massivo de compostos inseticidas levou à seleção de indivíduos com capacidade de sobreviver a aplicação de inseticidas. Por se tratar de um processo natural resultante da pressão de seleção exercida sobre a variabilidade genética presente na população de inseto (CROW, 1957), a evolução da resistência de pragas a inseticidas tem se tornado um dos grandes problemas em programas de controle de pragas envolvendo o uso de produtos químicos. Dessa forma, diversos estudos são realizados para entender a evolução com o intuito de implementar estratégias para o manejo da resistência em condições de campo.

De acordo com ARTHROPOD PESTICIDE RESISTANCE DATABASE, (2017), foram registrados 32 e 102 casos de resistência a lufenuron e methoxifenozide, respectivamente.

A lufenuron, estudos realizados com *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) encontraram uma resistência de 100 vezes em duas linhagens de campo de regiões afastadas nos Estados Unidos da América (EUA) em relação a linhagem suscetível de laboratório (WILSON; CAIN, 1997). Em *Musca domestica* Linnaeus (Diptera: Muscidae) foi registrado baixa resistência cruzada para os produtos pyriproxifen e lufenuron (SHAH et al., 2015). Já no Brasil, foi registrado uma razão de resistência a lufenuron de aproximadamente 705 vezes em populações de *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae) (SANTOS et al., 2011) e 907 vezes para *S. frugiperda* (NASCIMENTO et al., 2016), identificando um extenso uso desse produto no Brasil. No Paquistão, populações de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) apresentaram uma razão de resistência a lufenuron que variou 2,4 a 59 vezes em relação à população suscetível de referência (ISHTIAQ; SALEEM; RAZAQ, 2012). Há relatos de casos de resistência para outros

inseticidas do grupo dos inibidores de síntese de quitina, tais como em populações de campo de *Cydia pomonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Tortricidae) que apresentaram razão de resistência de 29 vezes a diflubenzuron nos EUA (MOFFITT et al., 1988), *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) no Brasil com uma razão de resistência de 222 vezes para triflumuron (SILVA et al., 2011), em *P. xylostella* na China com razão de resistência a chlorfluazuron de 16,8 a 133,4 vezes (XIA et al., 2014).

Para methoxifenozide, populações de *C. pomonella* apresentaram razão de resistência 14 e 16 vezes em relação à população suscetível de referência nos EUA (MOTA-SANCHEZ et al., 2008). Para *S. exigua*, na China, a razão de resistência foi muito alta, variando de 104 a 672 vezes, enquanto 13 gerações de seleção de *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) para resistência a methoxifenozide, no Paquistão, obteve uma razão de resistência de 2358 vezes em relação à população suscetível de laboratório. O inseticida tebufenozide tem sido muito usado em outros países e alguns casos de resistência foram reportados com razões de resistência de 94 e 122 vezes, respectivamente (CAO; HAN, 2006; ZHANG et al., 2014). Por outro lado, populações de *S. littoralis* em algodão não apresentaram resistência a tebufenozide, apesar do uso deste inseticida no controle desta praga (SMAGGHE; DEGHEELE, 1997).

Faheem et al. (2013) identificaram razão de resistência a dois inseticidas reguladores de crescimento lufenuron e methoxifenozide de apenas 2 a 7 vezes no Paquistão. No Brasil ainda não há registro de resistência a esses dois produtos para *H. armigera*. Para evitar a perda de eficiência desses produtos que são excelentes ferramentas para o Manejo Integrado de Pragas, é de fundamental importância que se realize o monitoramento de resistência, antes que a mesma ocorra no campo, permitindo assim a sustentabilidade e eficácia destes inseticidas e que medidas proativas possam ser tomadas em programas de Manejo da Resistência de Insetos a inseticidas.

2.5 Métodos de detecção e monitoramento de resistência

A resistência a inseticidas tem sido detectada e monitorada mediante caracterizações da suscetibilidade de populações de campo com estimativas de DL_{50} obtidas por meio da regressão de Probit (FFRENCH-CONSTANT; ROUSH, 1990). Tal procedimento permite calcular a razão de resistência e comparar estatisticamente as DL_{50} entre as populações. No entanto, caracterização da suscetibilidade permite distinguir fenótipos resistentes em

populações naturais quando estas estão em alta frequência, logo esta abordagem não é sensível para detectar indivíduos resistentes quando são raros na população. Considerando que no início da evolução da resistência, estima-se que a frequência de alelos de resistência em uma população seja baixa, na ordem de 10^{-13} a 10^{-2} (ROUSH; MCKENZIE, 1987a), recomendam-se a determinação e o uso de concentrações diagnósticas e se possível discriminatórias, as quais serão testadas em um número maior de insetos, somente nas concentrações mais informativas sobre as alterações dos fenótipos resistentes em populações naturais.

Dentre os métodos utilizados no monitoramento de resistência destacam-se os métodos fenotípicos e os genotípicos. Como programas de manejo da resistência são mais efetivos quando implementados no início da evolução da resistência (ROUSH; MCKENZIE, 1987), os métodos fenotípicos não são sensíveis para detectar pequenas alterações na frequência de resistência, uma vez que são eficientes no caso de alelos aditivos ou dominantes em alta frequência na população natural (ANDOW; ALSTAD, 1998). Dessa forma, os métodos genotípicos como "F_1 Screen" (GOULD et al., 1997) ou "F_2 Screen" (ANDOW; ALSTAD, 1998) são mais apropriados. Embora seja trabalhoso e de alto custo, o segundo método é vantajoso por, dispensar o uso de linhagem resistente, necessitar de menor número de insetos amostrados, e ser considerado o único método sensível e capaz de estimar, em pouco tempo, variações na frequência de um alelo recessivo ou parcialmente recessivo, mesmo quando a frequência inicial é baixa (ANDOW; ALSTAD, 1998). Além disso, permite selecionar alelos de resistência presentes em populações de campo e estabelecer linhagens resistentes em laboratório, que carregam os mesmos alelos presentes em indivíduos do campo (ANDOW; ALSTAD, 1998).

Em síntese o método de "F_2 Screen" se constitui das seguintes etapas: a) inicialmente, larvas ou fêmeas adultas e fecundadas devem ser coletadas no campo; b) no laboratório, devem ser estabelecidas diferentes linhagens das fêmeas trazidas do campo; c) em seguida, os indivíduos resultantes da geração F_1 devem ser criados e reproduzidos dentro da respectiva linhagem; d) as neonatas da geração F_2 devem ser utilizadas em bioensaios discriminatórios para se verificar a suscetibilidade dos indivíduos. Dessa forma, a estimativa da frequência de resistência e seleção de linhagens resistentes via "F_2 screen" pode refinar estratégias de manejo e, consequentemente, aumentar a vida útil dos inseticidas no campo (ANDOW; ALSTAD, 1998).

O manejo da resistência a campo requer um monitoramento efetivo, independente de qual organismo ou das estratégias a serem adotadas. O monitoramento de pragas permite detectar

as alterações na suscetibilidade de populações praga antes que a frequência crítica de resistência seja atingida, orientar a tomada de decisão de controle e, principalmente, retardar a evolução da resistência (ROUSH; MILLER, 1986).

Referências

ALI, A.; CHOUDHURY, R. A. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. **Journal Of Plant Protection**, v. 4, n. 1, p. 99–106, 2008.

ANDOW, D. A.; ALSTAD, D. N. F_2 screen for rare resistance alleles. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n. 3, p. 572–578, 1 jun. 1998.

ARNEODO, J. D. et al. Molecular identification of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) in Argentina and development of a novel PCR-RFLP method for its rapid differentiation from *H. zea* and *H. gelotopoeon*. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 6, p. 2505–2510, dez. 2015.

BOTTON, M. et al. Preferência alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz e capim-arroz. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 2, p. 207–212, jun. 1998.

BROWNE, L. B.; RAUBENHEIMER, D. Ontogenetic changes in the rate of ingestion and estimates of food consumption in fourth and fifth instar *Helicoverpa armigera* caterpillars. **Journal Of Insect Physiology**, v. 49, n. 1, p. 63–71, jan. 2003.

BUSATO, G. R. et al. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas às culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 6, p. 709–716, dez. 2004.

CAO, G.; HAN, Z. Tebufenozide resistance selected in *Plutella xylostella* and its cross-resistance and fitness cost. **Pest Management Science**, v. 62, n. 8, p. 746–751, 2006.

CARLSON, G. R. et al. The chemical and biological properties of methoxyfenozide, a new insecticidal ecdysteroid agonist. **Pest Management Science**, v. 57, n. 2, p. 115–119, fev. 2001.

COAKER, T. H. Investigations on *Heliothis armigera* (HB.) in Uganda. **Bulletin of Entomological Research**, v. 50, n. 3, p. 487–506, 1959.

COHEN, E. Chitin biochemistry - synthesis and inhibition. **Annual Review Of Entomology**, v. 32, p. 71–93, 1987.

CORTEZ, M. G. R.; WAQUIL, J. M. Influência de cultivar e nível de infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no rendimento do sorgo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 2, p. 407–410, ago. 1997.

CROW, J. F. Genetics of insect resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology**, v. 2, n. 1, p. 227–246, jan. 1957.

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: [s.n.]. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/475779>.

CZEPAK, C. et al. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 1, p. 110–113, mar. 2013.

DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R.; LE, D. P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annual Review of Entomology**, v. 43, n. 1, p. 545–569, jan. 1998.

FAHEEM, U.; NAZIR, T.; SALEEM, M. A. Status of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) in southern Punjab , Pakistan. **Sarhad J. Agric**, v. 29, n. 4, 2013.

FARROW, R. A.; DALY, J. C. Long-range movements as an adaptive strategy in the Genus *Heliothis* (Lepidoptera, Noctuidae) - a review of its occurrence and detection in 4 pest species. **Australian Journal of Zoology**, v. 35, n. 1, p. 1–24, 1 jan. 1987.

FFRENCH-CONSTANT, R. H.; ROUSH, R. T. Resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assays. In: **Pesticide Resistance in Arthropods**. Boston, MA: Springer US, 1990. v. 34p. 4–38.

FITT, G. P. The ecology of heliothis species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, v. 34, p. 17–52, 1989.

GOULD, F. et al. Initial frequency of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in field populations of *Heliothis virescens*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, n. 8, p. 3519–3523, 1997.

HACKETT, D. S.; GATEHOUSE, A. G. Studies on the biology of *Heliothis* spp. in Sudan [Cotton pest]Proceedings of the International Workshop on *Heliothis* Management, ICRISAT Center, Patancheru, India, 15-20 November 1981 / editors W. Reed and V. KumbleAndhra Pradesh, India : **International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics**, 1982.

ISHAAYA, I.; YABLONSKI, S.; HOROWITZ, A. R. Comparative toxicity of 2 ecdysteroid agonists, RH-2485 AND RH-5992, on susceptible and pyrethroid-resistant strains of the egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. **Phytoparasitica**, v. 23, n. 2, p. 139–145, 1995.

ISHTIAQ, M.; SALEEM, M. A.; RAZAQ, M. Monitoring of resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of the Southern Punjab, Pakistan to four conventional and six new chemistry insecticides. **Crop Protection**, v. 33, p. 13–20, mar. 2012.

JUAREZ, M. L. et al. Host association of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) corn and rice strains in Argentina, Brazil, and Paraguay. **Journal of economic entomology**, v. 105, n. 2, p. 573–582, abr. 2012.

KODANDARAM, M. H.; RAI, A. B.; HALDAR, J. Novel insecticides for management of insect pest in vegetable crops: A reviewVegetable Science, 2010. Disponível em: <https://www.google.com.br/?gws_rd=ssl#q=NOVEL+INSECTICIDES+FOR+MANAGEMENT+OF+INSECT+PESTS+IN+VEGETABLE+CROPS+:+A+REVIEW>. Acesso em: 11 fev. 2017

KRITICOS, D. J. et al. The potential distribution of invading *Helicoverpa armigera* in north america: is it just a matter of time? **Plos One**, v. 10, n. 3, p. e0119618, 18 mar. 2015.

LEITE, N. A. et al. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **Plos One**, v. 9, n. 11, nov. 2014.

LIU, Z. D. et al. Life table studies of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera : Noctuidae), on different host plants. **Environmental Entomology**, v. 33, n. 6, p. 1570–1576, 2004.

MARTINELLI, S. et al. Molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. **Journal of economic entomology**, v. 99, n. 2, p. 519–526, abr. 2006.

MENSAH, R. K. Suppression of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition by use of the natural enemy food supplement Envirofeast®. **Australian Journal Of Entomology**, v. 35, n. 4, p. 323–329, 1996.

MERZENDORFER, H. Insect chitin synthases: A review. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 176, n. 1, p. 1–15, 2006.

MOFFITT, H. R. et al. Resistance to diflubenzuron in the codling moth (Lepidoptera, Tortricidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 81, n. 6, p. 1511–1515, 1988.

MOSCARDI, F.; KASTELIC, J. G. Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja/ PR.**EMBRAPA.** Centro Nacional de Soja. Resultados da pesquisa de soja 1984/85. Londrina: [s.n.].

MOTA-SANCHEZ, D. et al. Resistance of codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera : Tortricidae), larvae in Michigan to insecticides with different modes of action and the impact on field residual activity. **Pest Management Science**, v. 64, n. 9, p. 881–890, 2008.

MULDER, R.; GIJSWIJT, M. J. The laboratory evaluation of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition. **Pesticide Science**, v. 4, n. 5, p. 737–745, out. 1973.

MURÚA, M. G. et al. First Record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 2, p. 854–856, jun. 2014.

NASCIMENTO, A. R. B. DO et al. Genetic basis of Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science**, v. 72, n. 4, p. 810–815, abr. 2016.

NASERI, B. et al. Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. **Journal Of Agricultural Science And Technology**, v. 13, n. 1, p. 17–26, 2011.

PASHLEY, D. P.; JOHNSON, S. J.; SPARKS, A. N. Genetic population structure of migratory moths: the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 78, n. 6, p. 756–762, 1 nov. 1985.

POST, L. C.; VINCENT, W. R. A new insecticide inhibits chitin synthesis. **Die Naturwissenschaften**, v. 60, n. 9, p. 431–432, 1973.

PROWELL, D. P.; MCMICHAEL, M.; SILVAIN, J.-F. Multilocus genetic analysis of host use, introgression, and speciation in host strains of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 97, n. 5, p. 1034–1044, 1 set. 2004.

RAJAPAKSE, C. N. K.; WALTER, G. H. Polyphagy and primary host plants: oviposition preference versus larval performance in the lepidopteran pest *Helicoverpa armigera*. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 1, n. 1, p. 17–26, 17 abr. 2007.

RETNAKARAN, A. et al. Ecdysone agonists: Mechanism and importance in controlling insect pests of agriculture and forestry. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 54, n. 4, p. 187–199, 2003.

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

ROUSH, R. T.; MILLER, G. L. Considerations for design of insecticide resistance monitoring programs. **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 2, p. 293–298, 1 abr. 1986.

SANTOS, V. C. et al. Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 2, p. 264–270, 2011.

SHAH, R. M. et al. Inheritance mode, cross-resistance and realized heritability of pyriproxyfen resistance in a field strain of *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Acta Tropica**, v. 142, p. 149–155, 2015.

SILVA, G. A. et al. Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. **Pest Management Science**, v. 67, n. 8, p. 913–920, 2011.

SMAGGHE, G.; DEGHEELE, D. Comparative toxicity and tolerance for the ecdysteroid mimic tebufenozide in a laboratory and field strain of cotton leafworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 2, p. 278–282, 1 abr. 1997.

SOSA-GÓMEZ, D. R. et al. Timeline and geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliothinae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 60, n. 1, p. 101–104, jan. 2016.

SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armyworm. **The Florida Entomologist**, v. 62, n. 2, p. 82–87, 1979.

SPECHT, A. et al. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 6, p. 689–692, jun. 2013.

SWEVERS, L. et al. Ecdysteroid signaling in ecdysteroid-resistant cell lines from the polyphagous noctuid pest *Spodoptera exigua*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 38, n. 9, p. 825–833, 2008.

TAKAHASHI, M.K.; NAKANO, O.; OSI, J. R. Avaliação de danos causados por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultura de trigo. **Solo**, v. 72, p. 43–44, 1980.

TRISYONO, A.; CHIPPENDALE, G. M. Effect of the ecdysone agonists, RH-2485 and tebufenozide, on the Southwestern corn borer, *Diatraea grandiosella*. **Pesticide Science**, v. 53, n. 2, p. 177–185, 1998.

TUNAZ, H.; UYGUN, N. Insect growth regulators for insect pest control. **Turkish Journal Of Agriculture And Forestry**, v. 28, n. 6, p. 377–387, 2004.

VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus**.** Sete Lagoas: [s.n.]. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/37470/1/circ-15-1.pdf>.

VICKERY, R. A. Studies of the fall armyworm in the Gulf coast region of Texas. [s.l: s.n.].

WILSON, T. G.; CAIN, J. W. Resistance to the insecticides lufenuron and propoxur in natural populations of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). **Journal Of Economic Entomology**, v. 90, n. 5, p. 1131–1136, 1997.

XIA, Y. et al. Resistance monitoring for eight insecticides in *Plutella xylostella* in central China. **Crop Protection**, v. 63, p. 131–137, 2014.

ZALUCKI, M. et al. The Biology and Ecology of *Heliothis armigera* (Hubner) and *Heliothis punctigera* Wallengren (Lepidoptera, Noctuidae) in Australia - What Do We Know. **Australian Journal of Zoology**, v. 34, n. 6, p. 779, 1986.

ZHANG, P. et al. Resistant levels of *Spodoptera exigua* to eight various insecticides in Shandong, China. **Journal Of Pesticide Science**, v. 39, n. 1–2, p. 7–13, 2014.

3 VARIABILIDADE GEOGRÁFICA E TEMPORAL NA SUSCETIBILIDADE A LUFENURON E METHOXIFENOZIDE EM POPULAÇÕES DE *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) DO BRASIL

Resumo

Com a recente identificação e surtos populacionais de *Helicoverpa armigera* (Hübner) no Brasil em 2013, o registro emergencial de alguns inseticidas foi concedido, com destaque para os inseticidas do grupo dos reguladores de crescimento de insetos, tais como lufenuron e methoxifenozide. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a variabilidade geográfica e temporal na suscetibilidade de *H. armigera* aos inseticidas lufenuron e methoxifenozide. Inicialmente foram caracterizadas as linhas básicas de suscetibilidade a lufenuron e methoxifenozide em 6 populações de *H. armigera* coletadas em direrente regiões agrícolas do Brasil nas safras de 2013/2014 e 2014/2015. Foram utilizadas lagartas de 3º instar mediante utilização de bioensaios com tratamento superficial da dieta artificial. Foram verificadas baixa variabilidade na suscetibilidade a lufenuron, com DL_{50} variando de 0,30 a 1,02 µg de i.a./cm^2 de dieta, e também a methoxifenozide, com DL_{50} de 2,61 a 8,02 µg de i.a./cm^2 de dieta. As doses diagnósticas, baseadas na DL_{99}, foram de 6,36 µg de i.a/cm^2 de dieta para lufenuron e 31,10 µg de i.a/cm^2 de dieta para methoxifenozide. Foram observadas variações geográfica e temporal na suscetibilidade a lufenuron e methoxifenozide em populações de *H. armigera* coletadas nas safras de 2013/2014 a 2016/2017; contudo, não foi obtido sucesso no isolamento de linhagens de *H. armigera* resistentes a esses inseticidas, mediante uso de técnicas de "F_2 screen" e seleção massal. As informações obtidas no presente estudo serão importantes para a implementação de programas proativos de manejo da resistência de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide.

Palavras-chave: Inibidores da biossíntese de quitina; Agonistas de receptores de ecdisteroides; Manejo da resistência de insetos

Abstract

With a recent identification and outbreaks of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in Brazil, emergency registration of some insecticides was granted, highlighting the group of insect growth regulators, such as lufenuron and methoxifenozide. The objective of this research was to evaluate geographic and temporal variability in the suscetibility of *H. armigera* to lufenuron and methoxifenozide insecticides. Initially, baseline susceptibility to lufenuron and methoxifenozide were characterized in six populations of *H. armigera* collected in different Brazilian agricultural regions in the 2013/2014 and 2014/2015 growing seasons. Third instar larvae were testes in diet overly bioassays. There was low variability in the susceptibility of *H. armigera* to lufenuron, with LD_{50} ranging from 0.30 to 1.02 µg of a.i./cm^2 of diet, and to methoxifenozide, with LD_{50} of 2.61 to 8.02 µg of a.i./cm^2 of diet across populations collected in different agricultural regions in 2013/2014 growing season. The diagnostic doses, based on DL_{99}, were 6.36 µg of a.i./cm^2 of diet for lufenuron and 31.10 µg of a.i./cm^2 of diet for methoxifenozide. Geographic and temporal variations in susceptibility to lufenuron and methoxifenozide were observed in populations of *H. armigera* collected from 2013/2014 to 2016/2017 growing seasons; however, it was not possible to isolate

resistant strains to these insecticides using F_2 screen and massal selection approaches. The information obtained herein wil be important to implementing a proactive resistance management of *H. armigera* to lufenuron and methoxifenozide.

Keywords: Chitin synthesis inhibitors; Ecdysone receptor agonists; Insect resistance management

3.1 Introdução

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga encontrada nos continentes Asiático, Oceania, Europeu, Africano (ZALUCKI et al., 1986) e, recentemente, no continente americano (ARNEODO et al., 2015; CZEPAK et al., 2013; KRITICOS et al., 2015; MURÚA et al., 2014). Esta distribuição é possível por se tratar de uma praga com alta capacidade de dispersão, dependendo das altitudes alcançadas e o tempo de voo realizado pela mariposa, sendo mais amplo do que outras espécies-praga (FITT, 1989). *H. armigera* é também altamente polífaga. *H. armigera* foi registrada em mais de 70 hospedeiros de 29 famílias (FITT, 1989; ZALUCKI et al., 1986). Estas características bioecológicas favorecem o estabelecimento e aumento populacional em condições de campo durante o ano todo, tornando então o controle desta espécie-praga muito difícil.

No Brasil, a ocorrência de *H. armigera* foi registrada em 2013 (CZEPAK et al., 2013; SPECHT et al., 2013). O possível centro de origem das populações de *H. armigera* encontradas no Brasil são os países do velho mundo, com destaque para China, Índia, Paquistão e do continente europeu, possuindo uma alta diversidade genética, o que sugere que *H. armigera* estava instalada no Brasil antes da identificação oficial (SOSA-GÓMEZ et al., 2016; LEITE et al., 2014; TAY et al., 2013). Sendo assim há grande possibilidade de os indivíduos introduzidos no Brasil serem resistentes a uma série de inseticidas, pois há vários casos de resistência registrados nos prováveis países de origem.

O uso de inseticidas é um dos métodos de controle de pragas mais utilizados. No entanto, o uso intensivo desses produtos pode levar à seleção de indivíduos resistentes. Há relatos de resistência de *H. armigera* a vários grupos de inseticidas, tais como: piretroides (FORRESTER et al., 1993), carbamatos (GUNNING; MOORES; DEVONSHIRE, 1996), organofosforados (GUNNING; MOORES; DEVONSHIRE, 1998), espinosinas (WANG et al., 2009), abamectinas (ALVI et al., 2012) e ciclodienos (AVILLA; GONZÁLEZ-ZAMORA, 2010). Com relação a inseticidas reguladores de crescimento de inseto (RCI), há diversos registros de evolução da resistência a lufenuron para *Spodoptera exigua* (ISHTIAQ; SALEEM; RAZAQ, 2012), *Spodoptera litura* (SALEEM et al., 2016) e *Spodoptera*

frugiperda (NASCIMENTO et al., 2016) e a methoxifenozide para *S. litura* (SALEEM et al., 2016), *Spodoptera exigua* (ISHTIAQ; SALEEM; RAZAQ, 2012; ZHANG et al., 2014) e *Musca domestica* (SHAH; ABBAS; SHAD, 2015). Até o momento, as razões de resistência reportadas para *H. armigera* a lufenuron foram baixas (< 3 vezes) (HUSSAIN; SALEEM; SALEEM, 2014) e methoxifenozide (< 7 vezes) (FAHEEM; NAZIR; SALEEM, 2013).

Os inseticidas RCI têm sido utilizados na agricultura e merecem destaque pelo controle efetivo de diversos insetos-praga. Este grupo atua em sistemas fisiológicos específicos dos insetos, com seletividade a inimigos naturais e baixa toxicidade a mamíferos. Dentre os RCI está o lufenuron, o qual pertence ao grupo das benzoilureias. Este inseticida impede a formação da cutícula, em decorrência de falhas na deposição de quitina. No momento da ecdiese, o exoesqueleto não estará devidamente formado, ocasionando a morte (MULDER; GIJSWIJT, 1973). Outro integrante do grupo dos RCI está o inseticida methoxifenozide. Este inseticida atua como agonista de receptores de ecdisteroides, sendo muito efetivo para o controle de insetos-praga da ordem Lepidoptera e com baixa ou nenhuma letalidade para inimigos naturais ((DHADIALLA; CARLSON; LE, 1998).

Uma das ameaças à sustentabilidade e eficácia dos inseticidas RCI tem sido a possibilidade de rápida evolução da resistência, se as estratégias do manejo da resistência de insetos (MRI) forem negligenciadas. Diversos fatores genéticos, bioecológicos e operacionais favorecem a evolução da resistência (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977; ROUSH; DALY, 1991). Assim, para que esses inseticidas continuem atuantes é preciso que estratégias de MRI sejam eficientes. Estudos básicos de evolução da resistência em populações de pragas são de extrema importância a fim de gerar informações que possibilitem o estabelecimento de programas de manejo da resistência. Esses programas são mais efetivos quando implementados de modo preventivo, ou seja, no início da evolução da resistência (ROUSH; MCKENZIE, 1987b; ROUSH; MILLER, 1986). Porém, pesquisas nesta área são iniciadas somente após a constatação de falhas no controle de uma praga com o uso de um determinado produto químico. Com isso, são necessários estudos para caracterização da linha-básica de suscetibilidade para o monitoramento da suscetibilidade e detecção da evolução da resistência.

Neste contexto, para implementar um programa proativo de MRI os objetivos deste trabalho foram:

- Caracterizar as linhas-básicas de suscetibilidade aos inseticidas lufenuron e methoxifenozide em populações de *H. armigera* coletadas em diferentes regiões do Brasil na safra 2013/2014;

- Avaliar a variabilidade geográfica e temporal na suscetibilidade a lufenuron e methoxifenozide em populações de *H. armigera* coletas nas safras de 2013/2014 a 2016/2017.
-

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Criação e manutenção das populações de *H. armigera*

As populações de *H. armigera* oriundas de campo foram coletadas em algodão, milho, e soja nas safras de 2013/2014, 2014/2015, 2015/2016 e 2016/2017 nos estados da Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e São Paulo (Tabela 3.1). Aproximadamente 800 lagartas foram coletadas em campo e acondicionadas em porta-comprimidos com oito células, contendo dieta artificial. Após a coleta as lagartas foram enviadas ao Laboratório de Resistência de Artrópodes a Táticas de Controle da ESALQ/USP em Piracicaba - SP.

Em laboratório, as lagartas foram retiradas dos recipientes plásticos e acondicionadas individualmente em copos plásticos (50 mL) contendo dieta artificial modificado de GREENE; LEPPLA; DICKERSON, (1976). As pupas obtidas foram retiradas da dieta com auxílio de uma pinça, higienizadas com solução de sulfato de cobre a 0,65% e acondicionadas em gaiolas cilíndricas de PVC (20 cm altura × 25 cm de diâmetro), revestidas internamente com papel jornal e fechadas na parte superior com tecido tipo "*tule*". Em cada gaiola foram colocadas aproximadamente 60 pupas. Como alimento para os adultos foi oferecido uma solução aquosa de mel a 10%. As gaiolas foram mantidas em sala de criação a 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14 horas. As posturas foram retiradas a cada três dias, quando também era substituído a solução de mel. As posturas contidas no papel jornal e no tecido "*tule*" foram recortadas e colocadas em copos plásticos transparentes (500 mL), juntamente com um pedaço de papel filtro umedecido com água destilada, para manter a umidade interna. Os copos com as posturas foram mantidos em câmaras climatizadas reguladas à 25±2°C e fotofase 14h até a eclosão das lagartas.

As lagartas recém-eclodidas foram transferidas com auxílio de um pincel fino para copos plásticos transparentes de 100 mL contendo dieta artificial, num total de aproximadamente 15 lagartas por copo. Ao atingirem o 3º ínstar, uma parte das lagartas foram individualizadas em copos plásticos de 50 mL com dieta artificial, e mantidas até a fase de pupa. O restante das lagartas de 3º ínstar foram destinadas aos bioensaios toxicológicos para caracterização da suscetibilidade e monitoramento.

Tabela 3.1 Procedência, data de coleta, cultura de coleta e código das populações de *H. armigera* utilizadas para a caracterização da linha básica de suscetibildiade e monitoramento.

Código da população	Município/Estado	Data de Coleta	Cultura de Coleta
	Safra 2013/2014		
BA 33	Luís Eduardo Magalhães/BA	20/09/2013	Feijão
MS 05	Costa Rita/MS	19/10/2013	Algodão
BA 34	Luís Eduardo Magalhães/BA	31/01/2014	Soja
BA 43	São Desidério /BA	31/01/2014	Soja
	Safra 2014/2015		
BA 45	São Desidério /BA	26/02/2014	Algodão
GO 02	Mineiros/GO	01/03/2014	Soja
BA 52	São Desidério /BA	11/07/2014	Soja
MT 11	Primavera do Leste/MT	23/10/2014	Soja
BA 58	Barreiras/BA	02/11/2014	Soja
SP 15	Viradouro /SP	15/01/2015	Soja
GO 05	Stº Ant. do Rio Verde/GO	25/02/2015	Soja
MT 15	Campo Verde/MT	15/05/2015	Algodão
BA 64	Luís Eduardo Magalhães/BA	13/06/2015	Algodão
BA 66	Luís Eduardo Magalhães/BA	01/10/2015	Feijão
BA 68	Luis Eduardo Magalhães/BA	01/12/2015	Soja
	Safra 2015/2016		
BA 69	Luis Eduardo Magalhães/BA	11/01/2016	Soja
GO 06	Mineiros/GO	03/01/2016	Soja
SP 19	Limeira/SP	08/04/2016	Feijão
MT 19	Primavera do Leste/MT	16/03/2016	Soja
	Safra 2016/2017		
BA 74	Barreiras/BA	13/10/2016	Milheto
MT 26	Campo Novo do Parecis/MT	24/10/2016	Soja
MS 08	Chapadão do Sul/MS	13/12/2016	Soja
GO 08	Rio Verde/GO	20/12/2016	Soja

3.2.2 Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide

Para a caracterização das linhas-básica de suscetibilidade de *H. armigera* foram utilizadas seis populações, sendo elas dos estados da Bahia (BA 33, BA 45), Mato Grosso (MT 11), Mato Grosso do Sul (MS 05) e Goiás (GO 02) para o inseticida lufenuron (Match, 5 g i.a./l) e cinco populações (BA 33, BA 43, MT 11, MS 05, GO 02) para o inseticida methoxifenozide (Inteprid 240 SC, 24 g i.a./l) (Tabela 3.1), na safra 2013/2014. Foram testadas seis a sete doses distribuídas logaritimicamente proporcionando uma mortalidade entre 5 e 95%.

Para o bioensaio de ingestão foram utilizadas placas de acrílico de 24 células (Costar®) com 1,25 mL de dieta artificial por célula. Após a geleificação da dieta, foi aplicado 30 µL de solução inseticida na dose a ser testada em cada célula com o auxílio de uma micropipeta automática. Cada dose foi diluída em água destilada mais surfactante Triton® X-100 a 0,1%. Para secagem da solução inseticida as placas foram levadas para câmara de fluxo laminar. Posteriormente, lagartas de terceiro ínstar foram inoculadas individualmente em cada célula com o auxílio de uma pinça. O tratamento controle foi realizado apenas com água destilada e o surfactante Triton® a 0,1%. Em cada dose foram testadas 96 lagartas (4 repetições de 24 lagartas por dose). Após a infestação, as placas foram fechadas com as tampas e transparências plásticas perfuradas para permitir a aeração e prevenir a condensação na placa. As placas foram mantidas em câmaras climatizadas a 25± 2°C e fotofase de 14h. Após 120h foi avaliada a mortalidade, considerando-se mortos os indivíduos sem movimento aparente após serem tocados com uma pinça.

Os dados de mortalidade de cada população foram submetidos à análise de Probit mediante o uso do software POLO PLUS (LEORA SOFTWARE, 2002), para a estimativa de valores das DL_{50} e os respectivos intervalos de confiança (I.C. 95%). Para a estimativa da dose diagnóstica (DL_{99}), a qual foi utilizada para o monitoramento da suscetibilidade, foram agrupados os dados de mortalidade das cinco populações e analisados conjuntamente (SIMS et al., 1996). Os dados de mortalidade foram submetidos ao modelo binomial com função de ligação complemento log-log (gompertz; PROC PROBIT, SAS INSTITUTE, 2000).

3.2.3 Monitoramento da suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide

O monitoramento da suscetibilidade das populações de *H. armigera* aos inseticidas lufenuron e methoxifenozide foi realizado nas safras 2013/2014, 2014/2015, 2015/2016 e 2016/2017 em populações provenientes dos estados da Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e São Paulo (Tabela 3.1). Como referencial de suscetibilidade, foi utilizada a população BA 33 por ser a população mais antiga e ter sido coletada na safra 2013/2014 ano da identificação oficial de *H. armigera*. Para tanto, foram realizados bioensaios de ingestão (mesmo procedimento descrito no item 3.2.2) utilizando-se as doses diagnósticas, foram testadas 240 lagartas por população. Os dados de sobrevivência (X) foram transformados por arcsen $\sqrt{X/100}$ e submetidos a análise de variância. Para discriminação dos tratamentos, as médias foram comparadas em relação a população suscetível de refência BA 33 da Safra 2013/2014 pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$) utilizando o software SAS (SAS INSTITUTE, 2000).

3.2.4 Seleção de linhagens suscetível e resistente de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide

A seleção de linhagens resistentes foi realizada pela técnica de "F_2 screen", em que lagartas de *H. armigera* provenientes do campo eram transferidas para bandejas plásticas de 32 células (Advento do Brasil, São Paulo, Brasil), contendo a dieta artificial, onde permaneceram até a fase de pupa (1 lagarta por célula). As pupas foram então individualizadas em copos de plástico (50 ml) invertidos sobre papel de filtro umedecido, permanecendo até a emergência dos adultos. Adultos foram acasalados aos pares (macho × fêmea) em gaiolas cilíndricas de PVC (20 cm altura × 25 cm de diâmetro), revestidas internamente com papel sulfite branco e fechadas na parte superior com tecido tipo "*tule*", em que cada casal foi considerado uma isofamília. As gaiolas foram colocadas sobre pratos plásticos contendo um disco de papel. Os adultos eram alimentados com uma solução aquosa de mel a 10% fornecida em algodão. Os ovos eram recolhidos a cada 3 dias e a solução de mel substituída. Após a eclosão, as neonatas foram transferidas para copos de plástico (100 mL) contendo dieta artificial. No terceiro ínstar, 128 larvas de cada isofamília foram individualizadas em bandejas plásticas com 32 células (Advento do Brasil, São Paulo, Brasil) contendo dieta artificial, onde permaneceram até a fase de pupa. Todas as pupas de cada isofamília foram mantidas em gaiolas de PVC (30 cm de altura × 25 cm de diâmetro) (uma isofamília por gaiola), revestidas internamente com papel jornal e fechadas na parte superior com tecido tipo "*tule*". A cada três dias, os ovos eram recolhidos e mantidos em copos

plásticos (100 mL) com um papel filtro umedecido com água destilada. As neonatas de geração F_2 eram então acondicionadas em copos plásticos (100 mL) com dieta até o terceiro ínstar, as quais foram utilizadas nos bioensaios de aplicação superficial em dieta na dose diagnóstica dos inseticidas lufenuron e methoxifenozide como descrito no item (3.2.2). A partir dos bioensaios com lagartas provenientes da geração F_2 utilizando-se a dose diagnóstica, as isofamílias cujas lagartas apresentaram 100% de mortalidade foram consideradas suscetíveis e as isofamílias com lagartas sobreviventes foram consideradas resistentes.

A seleção massal foi realizada com populações provenientes do campo e matidas em dieta até alcançar o 3º ínstar, em que nessa fase foram realizados os bioensaios de ingestão como descrito no item 3.2.2. Nestes bioensaios foram utilizadas as doses diagnósticas de lufenuron e methoxyfenozide. As populações que chegaram a fase adulta e geraram progênies, foram consideradas resistentes.

3.3 Resultados

3.3.1 Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide

Foram observadas baixas variações na suscetibilidade a lufenuron e metoxifenozide em populações de *H. armigera* coletadas na safra 2013/2014. Para o inseticida lufenuron, as DL_{50} variaram de 0,30 a 1,02 µg de i.a./cm^2 de dieta entre as populações avaliadas, apresentando uma variação de 4 vezes (Tabela 3.2) entre a populações testadas. Para o inseticida methoxifenozide, as DL_{50} variaram de 2,61 a 8,02 µg de i.a./cm^2 de dieta, com variação de 3 vezes (Tabela 3.3). A população do Mato Grosso do Sul (MS 5) se mostrou mais suscetível ao inseticida lufenuron com DL_{50} de 0,30 µg de i.a./cm^2 de dieta e do estado da Bahia (BA 43) a methoxifenozide com DL_{50} de 2,61 µg de i.a./cm^2 de dieta na safra 2013/2014. Comparando as DL_{50} é possível verificar que para lufenuron a população BA 33 não difere estatísticamente da população GO 2 e esta não difere significativamente da população MT 11. Isto é possível de observar pelos valores estimados dos respectivos intervalos de confiança que não se sobrepõem.

A população da safra 2013/2014 BA 33, tomada como referêncial de suscetibilidade apresentou coeficiente angular de 3,45 (±0,48) para o inseticida lufenuron e 1,70 (±0,31) para o inseticida methoxifenozide.

Tabela 3.2. Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade a lufenuron para populações de *H. armigera* coletadas em diferentes culturas na safra 2013/2014.

População	n[a]	Coef. Ang. (± EP)	DL_{50} (IC 95%)[b]	χ^2	gl[c]
BA 33	295	3,45±0,48	1,02(0,79-1,22)	1	4
BA 45	287	1,56±0,19	0,42(0,21-0,64)	5	4
MT 11	368	2,15±0,24	0,53(0,41-0,65)	3	4
MS 5	386	1,18±0,16	0,30(0,18-0,43)	1	4
GO 2	254	2,16±0,32	0,84(0,61-1,08)	1	4

a número de lagartas
b µg de i.a./cm^2 de dieta
c grau de liberdade

Tabela 3.3. Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade a methoxifenozide para populações de *H. armigera* coletadas em diferentes culturas na safra 2013/2014.

População	n[a]	Coef. Ang. (± EP)	DL_{50} (IC 95%)[b]	χ^2	gl[c]
BA 33	310	1,70±0,31	5,05(3,37-7,23)	3	4
BA 43	311	1,52±0,15	2,61(1,69-4,23)	4	4
MT 11	290	1,79±0,19	5,46(2,72-13,20)	14	4
MS 5	342	2,56±0,26	3,69(2,88-4,77)	4	4
GO 2	658	2,36±0,25	8,02(6,93-9,47)	3	4

a número de lagartas
b µg de i.a./cm^2 de dieta
c grau de liberdade

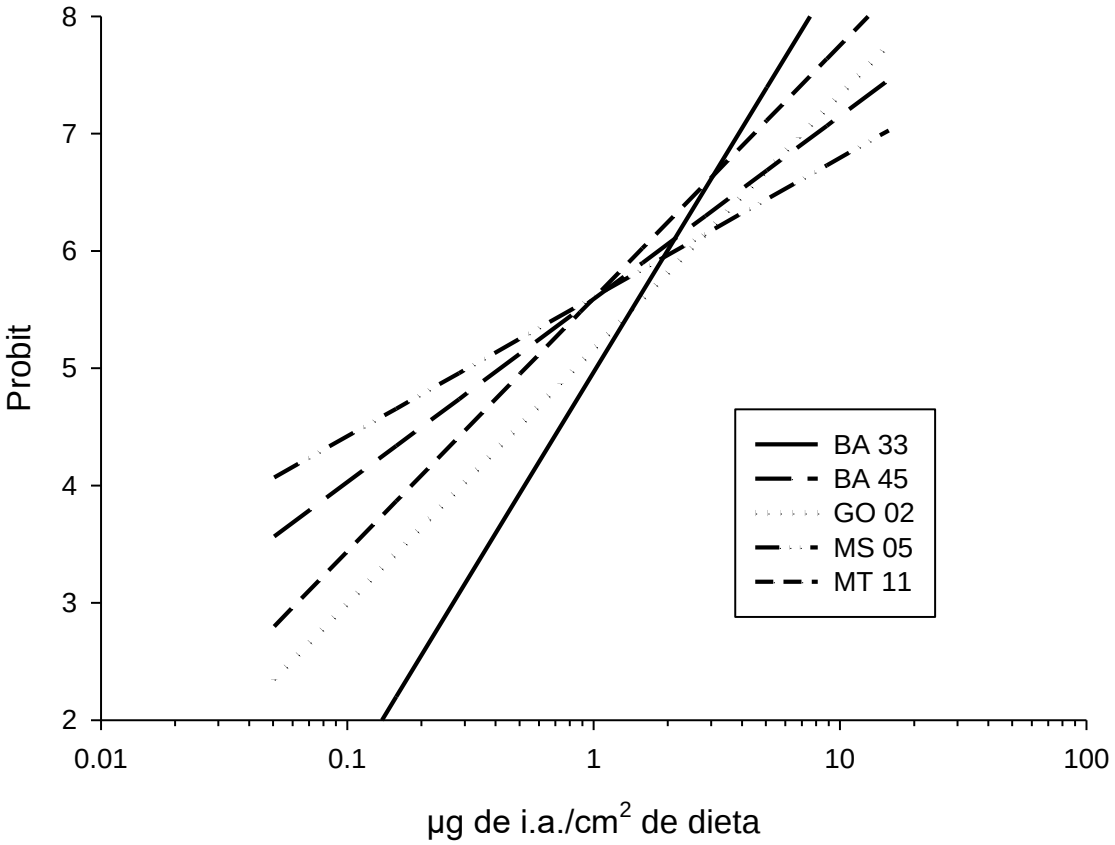

Figura 3.1. Curvas de dose-resposta de lufenuron em populações de *H. armigera* do Brasil.

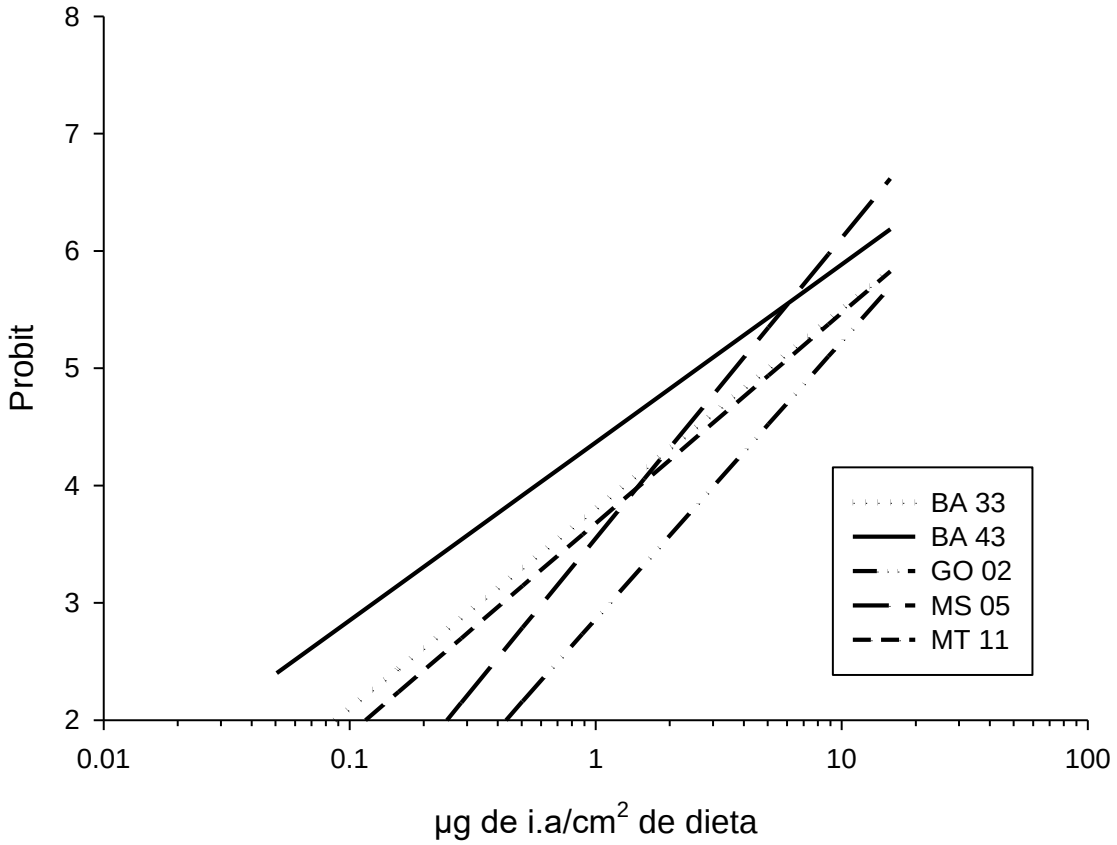

Figura 3.2. Curvas de dose-resposta de methoxifenozide em populações de *H. armigera* do Brasil.

Com a análise conjunta dos dados de dose-mortalidade das populações de *H. armigera* da safra 2013/2014 foram estimadas as DL_{99} = 6,36 (I.C. 5,33-7,61) µg de i.a/cm^2 de dieta, para lufenuron e DL_{99} = 31,10 (I.C. 95% 26,17-38,60) µg de i.a/cm^2 de methoxifenozide (Tabela 3.4). As DL_{99} foram definidas como dose diagnóstica para o monitoramento da suscetibilidade a esses inseticidas em populações de *H. armigera* coletadas em diferentes localidades e safras agrícolas.

Tabela 3.4 Estimativa da DL_{99} através das populações de campo de *H. armigera* da safra 2013/2014.

Produto	**n[a]**	**Coef. Ang. (± EP)**	**DL_{99} (IC 95%)[b]**	**χ^2**	**gl[c]**
Lufenuron	1720	1,80±0,10	6,36 (5,33-7,61)	8,37	5
Methoxifenozide	1863	2,61±0,16	31,10 (26,17-38,60)	8,79	7

a número de lagartas
b µg de i.a./cm^2 de dieta
c grau de liberdade

3.3.2 Monitoramento da suscetibilidade de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide

Foram verificadas reduções significativas na suscetibilidade a lufenuron e methoxifenozide em populações de *H. armigera* coletadas nas safras agrícolas de 2013/2014 a 2016/2017. Na safra 2013/2014 a sobrevivência das populações avaliadas na dose diagnóstica apresentou 100% de mortalidade a lufenuron (Figura 3.3) e methoxifenozide (Figura 3.4). Contudo, na safra 2014/2015 foram verificadas diferenças estatísticas na sobrevivência a lufenuron para as populações BA 52, BA 68 e MT 15 em relação a população referencial de suscetibilidade BA 33 da safra 2013/2014 ($F = 5,49$; $df = 16$; $P < 0,0001$), essas populações apresentaram 7% de sobrevivência. Para methoxifenozide nesta mesma safra as populações SP 15 (3%), MT 15 (8%) e BA 64 (17%) também apresentaram diferença estatística ($F=13,78$; $df= 16$; $P<0,0001$) em relaçãoa população BA 33. Na safra 2015/2016 a lufenuron apenas as populações BA 69 (8%) e SP 19 (11%) foram significativamente diferentes e a methoxifenozide somente a população GO 6 (12%) apresentou significância, quando comparadas a população BA 33. Para os dois inseticidas lufenuron e methoxifenozide as populações da safra 2016/2017 BA 74, MT 26, MS 8 e GO 8 não apresentaram diferença estatística.

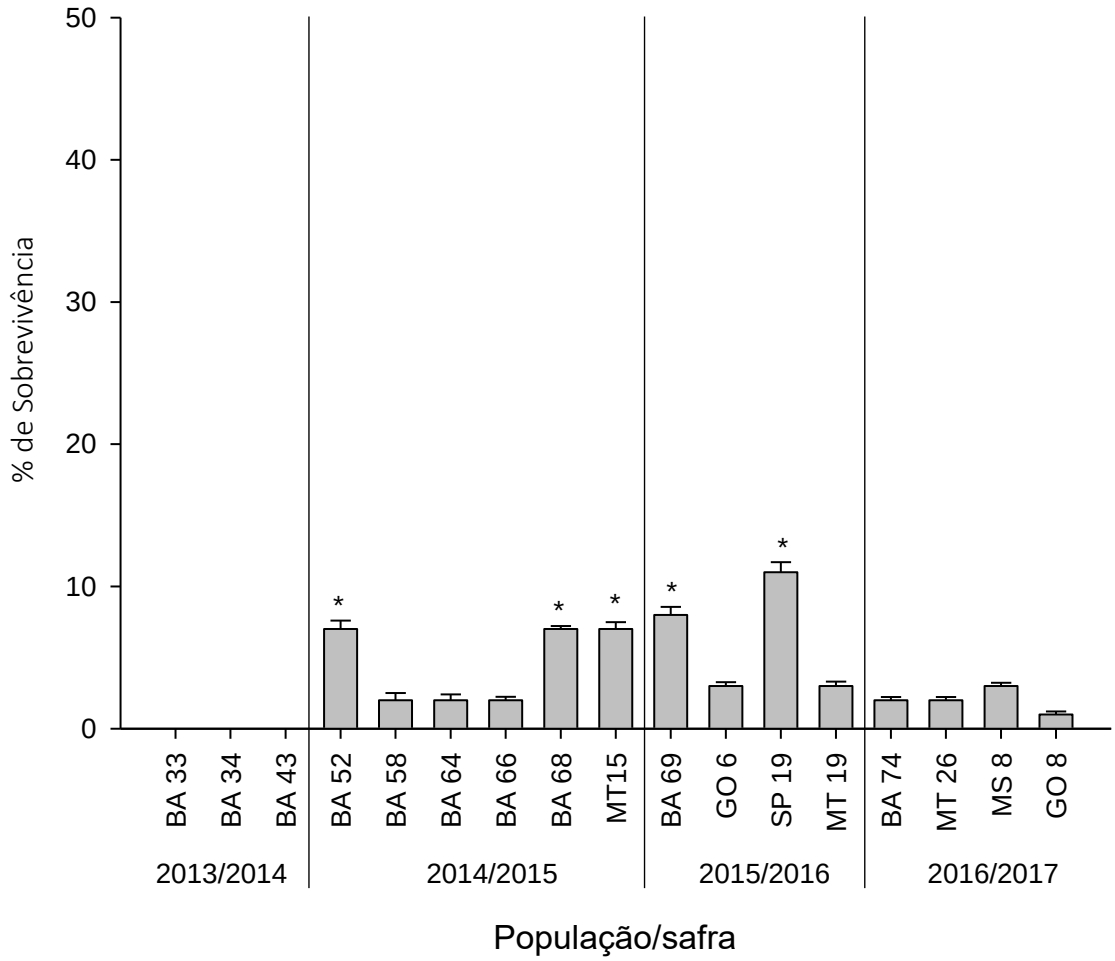

Figura 3.3 Monitoramento da suscetibilidade a lufenuron em populações de *H. armigera* no Brasil. Populações com *, são significativamente diferentes em relação a população suscetível de referência BA 33.

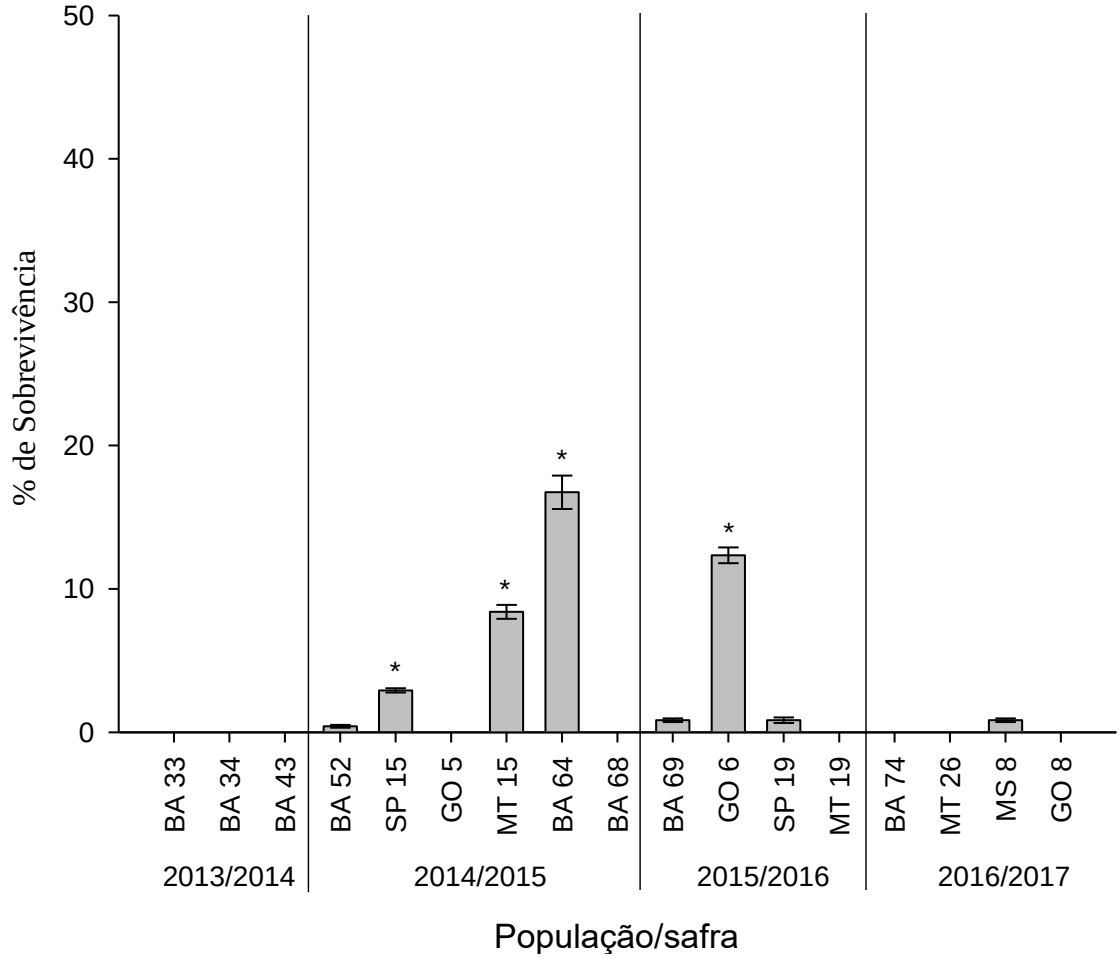

Figura 3.4 Monitoramento da suscetibilidade a methoxifenozide em populações de *H. armigera* no Brasil. Populações com *, são significativamente diferentes em relação a população suscetível de referência BA 33.

3.3.3 Seleção de linhagens suscetível e resistente de *H. armigera* a lufenuron methoxifenozide

A seleção de linhagens resistentes foi realizada pela técnica de "F_2 Screen" na safra 2014/2015 com as populações BA 45, SP 15 para lufenuron (Tabela 3.5). Do total de 57 isolinhas da geração P montadas de BA 45 e 124 de SP 15 foi possível testar apenas 13 isolinhas de BA 45 e 19 de SP 15. Todas as isolinhas não apresentaram sobreviventes quando testadas na dose diagnóstica (DL_{99}) de 6,36 (I.C. 5,33-7,61) µg de i.a/cm^2 de lufenuron. Foram consideradas isolinhas positivas aquelas em que os indivíduos resgatados chegaram a fase adulta. A seleção massal foi realizada com 19 populações provenientes dos estados da Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e São Paulo nas safras 2013/2014,

2014/2015, 2015/2016 e 2016/2017 (Tabela 3.1). Essas populações foram testadas nas respectivas doses diagnósticas dos inseticidas em estudo (Tabela 3.5). Apesar de algumas populações apresentarem indivíduos sobreviventes aos dois produtos, alguns destes indivíduos não chegaram a fase adulta e os que chegaram não geraram descendentes.

A população BA45 foi tida como suscetível de referência por ser a população mais antiga de laboratório e ter sido coletada no ano de identificação. Na geração 7 essa população apresentou DL_{50} = 1,02 (I.C. 95% 0,8-1,22) µg de i.a/cm^2 e 5,05 (I.C. 95% 3,37-7,23) µg de i.a/cm^2 a lufenuron e methoxifenozide respectivamente. Após 24 gerações a população BA45 apresentou DL_{50} = 0,23 (I.C. 95% 0,18-0,27) µg de i.a/cm^2 e 0,98 (I.C. 95% 0,76-1,21) µg de i.a/cm^2**,** respectivamente, a lufenuron e methoxifenozide. Houve aumento na suscetibilidade da população suscetível de referência a lufenuron de aproximadamente 4 vezes e a methoxifenozide de 5 vezes (Tabela 3.7).

Tabela 3.5 Seleção de populações resistentes de *H. armigera* a lufenuron via técnica de "F_2 screen" em populações de campo da safra 2014/2015.

População	**Local**	**Nº Isolinhas montadas**	**Nº Isofamílias testadas**	**Nº Indivíduos testados**	**Sobreviventes**
BA 45	São Desidério/BA	57	13	456	0
SP 15	Viradouro/SP	124	19	1128	0

Tabela 3.6 Seleção de populações resistentes de *H. armigera* aos inseticidas lufenuron e methoxifenozide via seleção massal nas safras 2013/2014, 2014/2015, 2015/2016 e 2016/2017.

Pop	n	% Sobrevivência Lufenuron	n	% Sobrevivência Methoxifenozide
BA 33	237	0	212	0
BA 34	143	0	94	0
BA 43	168	0	235	0
BA52	237	7	239	0
BA 58	143	2	-	-
BA 64	239	2	239	17
BA 66	120	2	-	-
BA 68	232	7	237	0
MT 15	240	7	238	8
BA 69	240	8	238	1
GO 5	-	-	119	0
GO 6	235	3	235	12
SP 15	-	-	240	3
SP 19	236	11	238	1
MT 19	-	-	236	0
BA 74	240	2	222	0
MT 26	240	2	229	0
MS 8	240	3	238	1
GO 8	236	1	234	0

Tabela 3.7. Suscetibilidade da população de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide, após 24 gerações.

Produto	População	n[a]	Coef. Ang. (± EP)	DL_{50} (IC 95%)[b]	χ^2	gl[c]
Lufenuron	BA 33 F_7	295	3,45 (±0,48)	1,02 (0,8-1,22)	1,13	4
	BA 33 F_{31}	548	2,17 (±0,19)	0,23 (0,18-0,27)	3,7	5
Methoxifenozide	BA 33 F_7	310	1,70 (±0,31)	5,05 (3,37-7,23)	2,5	4
	BA 33 F_{31}	595	1,87 (±0,21)	0,98 (0,76-1,21)	3	5

a número de lagartas
b µg de i.a./cm^2 de dieta
c grau de liberdade

3.4 Discussão

As populações de *H. armigera* apresentaram alta suscetibilidade a lufenuron e methoxifenozide, com pequenas variações intraespecíficas em populações geograficamente distintas coletadas na safra 2013/2014. Baixas variações na suscetibilidade intraespecífica

foram relatadas em populações de *H. armigera* no Paquistão a lufenuron e methoxifenozide, com variações de aproximadamente sete vezes (AHMAD; ARIF; AHMAD, 2003). Variações na suscetibilidade de populações de *H. armigera* também foram registradas a outras classes de inseticidas, como a organofosforados (MARTIN et al., 2003), emamectin benzoate, chlorantraniliprole e indoxacarb (BIRD, 2015). *H. armigera* também apresentou baixa variação na suscetibilidade à proteína Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* em 24 populações de diferentes regiões da China (WU; GUO; LV, 1999).

A pequena variação intraespecífica da suscetibilidade em populações de regiões distintas pode estar relacionada à variabilidade natural limitada de *H. armigera*, por se tratar de uma espécie invasora no Brasil, com afunilamento da variabilidade genética. De acordo com LEITE et al., (2014), populações de *H. armigera* encontradas no Brasil possuem variabilidade genética, porém, não apresentam estruturação a diferentes regiões e hospedeiros.

Na safra 2013/2014 não houve sobrevivência de *H. armigera* nas doses diagnósticas de lufenuron (6,36 µg de i.a/cm^2) e methoxifenozide (31,10 µg de i.a/cm^2).

Nas safras seguintes 2014/2015 e 2015/2016 as populações de *H. armigera* apresentaram pequenas variações na sobrevivência a lufenuron e methoxifenozide, principalmente em regiões como Bahia, Mato Grosso e Goiás, onde o cultivo de soja, algodão e milho são sucessivos, proporcionando maior pressão de seleção. Na Austrália populações de *H. armigera* apresentaram variações na suscetibilidade ao longo dos anos. GUNNING; EASTON, (1994) relataram que no início dos anos 70, *H. armigera* apresentava baixa suscetibilidade a endosulfan, em virtude da substituição do DDT. Por outro lado, no período de 1980 a 1983 houve um aumento na suscetibilidade a endosulfan, em virtude da introdução e da utilização de inseticidas piretroides. KRANTHI et al., (2001) observaram reduções na suscetibilidade de *H. armigera* a piretroides em seis safras (1993 a 1999) na Índia. Os autores relacionam esse aumento na sobrevivência ao número de aplicações de piretroides em diferentes épocas do ano. Por outro lado, populações de campo de *H. armigera* no Paquistão apresentaram alta suscetibilidade aos inseticidas chlorpyrifos, profenofos e thiodicarb (AHMAD; ARIF; AHMAD, 1995). Na Espanha, AVILLA; GONZÁLEZ-ZAMORA, (2010) avaliaram quatro populações de campo de *H. armigera* em duas épocas diferentes (1999 e 2004). Este estudo mostrou que as populações nas duas épocas apresentaram alta suscetibilidade aos inseticidas endosulfan, methomyl, chlorpyrifos e lambda-cyhalothrin. Com relação aos inseticidas reguladores de crescimento, lufenuron e methoxifenozide apresentaram baixa suscetibilidade a outras espécies praga como *Spodoptera litura* (AHMAD

et al., 2008), *Spodoptera exigua* (MOSALLANEJAD; SOIN; SMAGGHE, 2008), *Cydia pomonella* (MOTA-SANCHEZ et al., 2008).

A variação da suscetibildiade nestas safras pode estar relacionada também a possível resistência cruzada a outros inseticidas promovendo assim sobrevivência mesmo quando os inseticidas reguladore de crescimento não são usados. População resistente de *Plutella xylostela* a fufenozide na China, apresentou altos níveis de resistência cruzada a inseticidas do grupo das benzoilfenilureias (SUN; LIANG; GAO, 2012). Uma população de *Musca domestica* resistente a methoxifenozide, apresentou baixa resistência cruzada a cyromazine, fipronil e chlorpyrifos (SHAH; SHAD; ABBAS, 2016). Assim, a pressão de outros inseticidas no campo, podem levar a variação na suscetibilidade de *H. armigera* aos inseticidas lufenuron e methoxyfenozide.

Na safra 2016/2017, houve um aumento na suscetibilidade de populações de *H. armigera* a lufenuron e methoxifenozide. De acordo com FAHEEM; NAZIR; SALEEM, (2013), *H. armigera* no Paquistão, também apresentou alta suscetibilidade a esses inseticidas reguladores de crescimento. O aumento da suscetibilidade na safra 2016/2017 pode estar relacionado a substituição de lufenuron e methoxifenozide por outras moléculas inseticidas, bem como pela crescente utilização de variedades transgênicas de plantas *Bt*. A não utilização de lufenuron e methoxifenozide promoveu o restabelecimento da suscetibilidade, pois indivíduos com fenótipo resistentes aos inseticidas reguladores de crescimento apresentam custo adaptativo. Portanto, em um ambiente que não exista pressão de seleção a esses inseticidas, indivíduos suscetíveis se sobressaem em relação a indivíduos resistentes. SHAH; SHAD; ABBAS, (2016), tomando uma população resistente de *M. domestica* como modelo de estudo, verificaram que após cinco gerações sem pressão de seleção, ou seja, sem a utilização do inseticida methoxifenozide, a suscetibilidade aumentou em relação a população que foi mantida sob pressão de seleção.

Por *H. armigera* ser suscetível aos inseticidas reguladores de crescimento lufenuron e methoxifenozide não foi possível selecionar linhagens resistentes, mesmo por meio da técnica de "F_2 Screen". Esta ténica é eficiente para detecção da frequência inicial do alelo que confere resistência quando essa frequência ainda é baixa (ANDOW; ALSTAD, 1998). Sendo assim, os estudos com a técnica de "F_2 screen" devem ser continuados para que alterações nas frequências do alelo que conferem resistência sejam identificadas antes que ocorram de fato no campo, levando a perda da eficiência dos produtos. Além disso, outra característica que pode estar relacionada é o custo adaptativo associado à resistência, impossibilitando a seleção de populações resistentes a estes inseticidas até o momento. Por mais que o indivíduo

sobreviva a uma determinada dose, só será considerado resistente o individuo que sobreviver a dose que seria letal para a maioria dos indivíduos da população e deixar descendentes que sobrevivam na mesma dose (CROFT; VAN DE BAAN, 1988).

As populações de *H. armigera* foram suscetíveis a lufenuron e methoxifenozide no decorrer das safras agrícolas de 2013/2014 a 2016/2017. Nesse contexto, os dados de linhas básica de suscetibilidade e as doses diagnósticas do presente trabalho fornecem subsídios para futuros estudos de monitoramento da suscetibilidade de populações de *H. armigera* aos inseticidas lufenuron e methoxyfenozide do Brasil.

3.5 Conclusões

- As diferenças na suscetibilidade a lufenuron e methoxifenozide em populações de *H. armigera* coletadas no Brasil na safra 2013/2014 foram baixas (< 4 vezes)
- Foram observadas variações geográfica e temporal na suscetibilidade a lufenuron em methoxifenozide em populações de *H. armigera* coletadas nas safras de 2013/2014 a 2016/2017; contudo, não foi possível isolar linhagens resistentes a esses inseticidas.

Referências

AHMAD, M. et al. Evidence for field evolved resistance to newer insecticides in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. **Crop Protection**, v. 27, n. 10, p. 1367–1372, out. 2008.

AHMAD, M.; ARIF, I. M.; AHMAD, Z. Monitoring insecticide resistance of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. **Journal of Economic Entomology**, v. 88, n. 4, p. 771–776, ago. 1995.

AHMAD, M.; ARIF, M. I.; AHMAD, Z. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to new chemistries in Pakistan. **Crop Protection**, v. 22, n. 3, p. 539–544, abr. 2003.

ALVI, A. H. K. et al. Field evolved resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in Pakistan. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. e47309, 15 out. 2012.

ARNEODO, J. D. et al. Molecular identification of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) in Argentina and development of a novel PCR-RFLP method for its rapid differentiation from *H. zea* and *H. gelotopoeon*. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 6, p. 2505–2510, dez. 2015.

AVILLA, C.; GONZÁLEZ-ZAMORA, J. E. Monitoring resistance of *Helicoverpa armigera* to different insecticides used in cotton in Spain. **Crop Protection**, v. 29, n. 1, p. 100–103, jan. 2010.

BIRD, L. J. Baseline susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to indoxacarb, emamectin benzoate, and chlorantraniliprole in Australia. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 1, p. 294–300, 1 fev. 2015.

CZEPAK, C. et al. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 1, p. 110–113, mar. 2013.

DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R.; LE, D. P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annual Review of Entomology**, v. 43, n. 1, p. 545–569, jan. 1998.

EMBRAPA. Ações emergenciais propostas pela embrapa para o manejo integrado de. p. https://www.google.com.br/search?biw=1280&bih=656&, 2013.

FAHEEM, U.; NAZIR, T.; SALEEM, M. A. Status of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) in Southern Punjab , Pakistan. **Sarhad J. Agric**, v. 29, n. 4, 2013.

FITT, G. P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, v. 34, p. 17–52, 1989.

FORRESTER, N. W. et al. Management of pyrethroid and endosulfan resistance in *Helicoverpa-armigera* (lepidoptera, noctuidae) in Australia. **Bulletin of Entomological Research**, n. 1, p. R1-132, 1993.

GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. Genetic and Biological Influences in the Evolution of Insecticide Resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 70, n. 3, p. 319–323, 1 jun. 1977.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487–488, 1 ago. 1976.

GUNNING, R. V.; EASTON, C. S. Endosulfan resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. **Journal of the Australian Entomological Society**, v. 33, p. 9, 1994.

GUNNING, R. V.; MOORES, G. D.; DEVONSHIRE, A. L. Insensitive acetylcholinesterase and resistance to thiodicarb in Australian *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 55, n. 1, p. 21–28, maio 1996.

GUNNING, R. V.; MOORES, G. D.; DEVONSHIRE, A. L. Insensitive acetylcholinesterase and resistance to organophosphates in Australian *Helicoverpa armigera*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 62, n. 3, p. 147–151, dez. 1998.

HUSSAIN, D.; SALEEM, H. M.; SALEEM, M. Monitoring of insecticides resistance in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hub.) (Lepidoptera : Noctuidae). v. 2, n. 6, p. 1–8, 2014.

ISHTIAQ, M.; SALEEM, M. A.; RAZAQ, M. Monitoring of resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of the Southern Punjab, Pakistan to four conventional and six new chemistry insecticides. **Crop Protection**, v. 33, p. 13–20, mar. 2012.

KONUS, M.; KARAAGAC, S. U.; ISCAN, M. Analysis of molecular resistance mechanisms in *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Noctuidae: Lepidoptera) populations under pyrethroid stress in Turkey. **Journal of the Entomological Research Society**, v. 16, n. 2, p. 81–92, 2014.

KRANTHI, K. R. et al. Pyrethroid resistance and mechanisms of resistance in field strains of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 1, p. 253–263, fev. 2001.

KRITICOS, D. J. et al. The potential distribution of invading *Helicoverpa armigera* in North America: Is it just a matter of time? **Plos One**, v. 10, n. 3, p. e0119618, 18 mar. 2015.

LEITE, N. A. et al. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **Plos One**, v. 9, n. 11, nov. 2014.

LEORA SOFTWARE. Polo-Plus, POLO for windows, LeOra software**,** Petaluma, CA, 2002.

MARTIN, T. et al. Organophosphorus insecticides synergize pyrethroids in the resistant strain of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) from West Africa. **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 2, p. 468–474, 1 abr. 2003.

MOSALLANEJAD, H.; SOIN, T.; SMAGGHE, G. Selection for resistance to methoxyfenozide and 20-hydroxyecdysone in cells of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 67, n. 1, p. 36–49, jan. 2008.

MOTA-SANCHEZ, D. et al. Resistance of codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera : Tortricidae), larvae in Michigan to insecticides with different modes of action and the impact on field residual activity. **Pest Management Science**, v. 64, n. 9, p. 881–890, 2008.

MULDER, R.; GIJSWIJT, M. J. The laboratory evaluation of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition. **Pesticide Science**, v. 4, n. 5, p. 737–745, out. 1973.

MURÚA, M. G. et al. First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 2, p. 854–856, jun. 2014.

NASCIMENTO, A. R. B. DO et al. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science**, n. April, p. n/a-n/a, 2015.

ROUSH, R. T.; DALY, J. C. **Pesticide Resistance in Arthropods**. Boston, MA: Springer US, 1991.

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

ROUSH, R. T.; MILLER, G. L. Considerations for design of insecticide resistance monitoring programs. **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 2, p. 293–298, 1 abr. 1986.

SALEEM, M. et al. Monitoring of insecticide resistance in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of Punjab, Pakistan to conventional and new chemistry insecticides. **Crop Protection**, v. 79, p. 177–184, 2016.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide statistics** Cary, 2000.

SHAH, R. M.; ABBAS, N.; SHAD, S. A. Assessment of resistance risk in *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) to methoxyfenozide. **Acta Tropica**, v. 149, p. 32–37, set. 2015.

SHAH, R. M.; SHAD, S. A.; ABBAS, N. Methoxyfenozide resistance of house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae): Cross-resistance patterns, stability and associated fitness costs. **Pest Management Science**, abr. 2016.

SIMS, S. B. et al. Monitoring strategies for early detection of lepidoptera resistance to Bacillus thuringiensis insecticidal proteins. In: BROWN, T. M. (Ed.). **Molecular Genetics and Evolution of Pesticide Resistance**. ACS Symposium Series. Washington, DC: American Chemical Society, 1996. v. 645p. 229–242.

SOSA-GÓMEZ, D. R. et al. Timeline and geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliothinae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 60, n. 1, p. 101–104, jan. 2016.

SPECHT, A. et al. Morphological and molecular identification of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and expansion of its occurrence record in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 689–692, 2013.

TABASHNIK, B. E. Evolution of resistance to *Bacillus Thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, v. 39, n. 1, p. 47–79, jan. 1994.

TAY, W. T. et al. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Plos One**, v. 8, n. 11, nov. 2013.

WANG, D. et al. Resistance selection and biochemical characterization of spinosad resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 95, n. 2, p. 90–94, out. 2009.

WU, K.; GUO, Y.; LV, N. Geographic variation in susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein in China. **Journal of Economic Entomology**, v. 92, n. 2, p. 273–278, 1 abr. 1999.

ZALUCKI, M. et al. The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hubner) and *Heliothis punctigera* Wallengren (Lepidoptera, Noctuidae) in Australia - What do we know. **Australian Journal of Zoology**, v. 34, n. 6, p. 779, 1986.

ZHANG, P. et al. Resistant levels of *Spodoptera exigua* to eight various insecticides in Shandong, China. **Journal of Pesticide Science**, v. 39, n. 1–2, p. 7–13, 2014.

4 CARACTERIZAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE A METHOXIFENOZIDE EM POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) DO BRASIL

Resumo

A evolução da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) foi documentada para alguns inseticidas convencionais e proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* Berliner no Brasil. Sendo assim, inseticidas com diferentes mecanismos de ação tais como methoxifenozide (agonistas de receptores de ecdisteroide) tem sido recomendado para controle dessa praga. Para subsidiar programas de Manejo da Resistência de Insetos, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar a suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide em populações coletadas em diferentes regiões agrícolas do Brasil. Inicialmente foram estabelecidas as linhas-básica de suscetibilidade a methoxifenozide para 5 populações de *S. frugiperda*, mediante a avaliação de lagartas de 3º instar expostas ao inseticida aplicado superficialmente em dieta artificial. As populações de *S. frugiperda* apresentaram baixa variação na suscetibilidade a methoxifenozide, com DL_{50} variando de 0,5 a 2,1 µg de i.a/cm^2 de dieta. Posteriormente, foram conduzidos bioensaios para o monitoramento da suscetibilidade em 12 populações de *S. frugiperda* coletadas na 2ª safra de 2016 e 13 na 1ª safra de 2017, utilizando-se a dose diagnóstica (DL_{99}) de 6 µg de i.a/cm^2 de dieta. Na 2ª safra de 2016, as sobrevivências das populações avaliadas foram baixas, com valores inferiores a 10% na dose diagnóstica. Por outro lado, na 1ª safra de 2017, houve aumento na sobrevivência das populações testadas, atingindo valores de até 62%. A linhagem de *S. frugiperda* resistente a methoxifenozide selecionada em condições de laboratório apresentou uma baixa razão de resistência (≈5 vezes). Os resultados obtidos no presente trabalho serão úteis em programas proativos de manejo da resistência de *S. frugiperda* a methoxifenozide.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho; Manejo da resistência de insetos; Methoxifenozide

Abstract

The resistance evolution of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) has already been documented to some conventional insecticides and insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* Berliner in Brazil. Therefore, insecticides with different mode of action such as methoxifenozide (ecdyson receptor agonists) have been used to controlling this pest. To implement an Insect Resistance Management, the objective of this research was to characterize the susceptibility of *S. frugiperda* to methoxifenozide in populations collected across different Brazilian agricultural regions. Initially, we established the baseline susceptibility to methoxifenozide in 5 populations of *S. frugiperda* using artificial diet overly bioassays with 3rd instar larvae. There was also a low variability in the susceptibility of *S. frugiperda* to methoxifenozide across populations collected in the second crop season in 2016, with LD_{50} ranging from 0.5 to 2.1 µg of a.i./cm^2 of diet. Then, we monitor the susceptibility to methoxifenozide, using the diagnostic dose (DL_{99}) of 6 µg of a.i./cm^2 of diet,

in 12 populations collected in th 2nd crop season of 2016 and 13 populations in the 1st crop season of 2017. In the 2nd crop season of 2016, the survival at diagnostic dose of *S. frugiperda* populations evaluated was low (< 10%). On the other hand, in the 1st crop season of 2017, there was a significant increase in the survival across the populations tested, with values reaching up to 62% at diagnostic dose. The laboratory-selected resistant strain of *S. frugiperda* to methoxifenozide showed a low resistance ratio (≈5 times). The information collected in this study will be important for implementing a proactive resistance management of *S. frugiperda* to methoxifenozide.

Keywords: Fall armyworm; Insect resistance management; Methoxyphenozide

4.1 Introdução

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), apresenta uma ampla distribuição no continente americano (SPARKS, 1986). É uma praga de grande importância em milho, algodão, arroz, entre outras culturas (BOTTON et al., 1998; CORTEZ; WAQUIL, 1997; MARTINELLI et al., 2006; MOSCARDI, F.; KASTELIC, 1985; TAKAHASHI; NAKANO; OSI, 1980; VALICENTE, F. H.; CRUZ, 1991). Em milho, por exemplo, as perdas de produtividade podem variar de 20 a 100%, dependendo do híbrido utilizado e das condições de cultivo (CRUZ et al., 1999).

Historicamente, no Brasil, o manejo de *S. frugiperda* foi realizado com inseticidas, entretanto, desde 2007, o manejo também tem sido realizado com o uso de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas inseticida de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt). Dentre os inseticidas utilizados para controle de *S. frugiperda* temos os inseticidas do grupo de reguladores de crescimento de insetos (RCI), sendo methoxifenozide uma das opções para o manejo de *S. frugiperda*. Esse inseticida pertence ao grupo das diacilhidrazinas e atua ligando-se ao receptor de ecdisteroides, iniciando então o processo de muda, sem que o inseto esteja pronto para realizá-la. Além disso, possui baixa toxicidade a organismos não-alvos e ao ambiente (DHADIALLA; CARLSON; LE, 1998).

Devido ao uso excessivo de inseticidas e milho Bt sem a implementação de estratégias de manejo da resistência, casos de resistência de *S. frugiperda* têm sido reportados no Brasil para inseticidas organofosforados, piretroides e RCI (CARVALHO et al., 2013; DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001; NASCIMENTO et al., 2016), assim como para milho *Bt* (FARIAS et al., 2014; OMOTO et al., 2016). Entre os casos de resistência de *S. frugiperda* a inseticidas RCI no Brasil, destaca-se lufenuron, um inibidor de biossíntese de quitina, apresentando razão de resistência > 900 vezes (NASCIMENTO et al. 2015). Em outros países da América também foram registrados casos de resistência a piretroides, organofosforados e

carbamatos no sul da Flórida nos EUA (YU, 1992) e a lambda cyhalothrin e deltamethrin no México (LEON-GARCIA et al., 2012).

Alguns fatores como exposição contínua da praga a um mesmo agente de controle e um cenário de sobreposição e/ou cultivo sucessivo de plantas hospedeira, além de fatores genéticos e bioecológicos da espécie favorecem a evolução da resistência (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977; ROUSH; DALY, 1991) e contribui para o aumento de casos de resistência. Portanto, estudos do risco de evolução da resistência são necessários para que programas de manejo da resistência sejam implantados efetivamente (ROUSH; MCKENZIE, 1987b; ROUSH; MILLER, 1986). Dessa forma, com o intuito de prolongar o uso do inseticida methoxifenozide para o controle de *S. frugiperda* foram realizadas a caracterização e o monitoramento da suscetibilidade a methoxifenozide em populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões na segunda safra de 2016 e na primeira safra de 2017.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Insetos

A população suscetível de referência (SUS) foi proveniente da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagos-MG e mantida sem pressão de seleção com inseticidas por mais de 15 anos. As populações de *S. frugiperda* destinadas ao monitoramento foram coletadas em culturas de milho na 2ª safra de 2016 e 1ª safra de 2017 nas principais regiões produtoras de milho do Brasil (Tabela 4.1). Para cada população foram coletadas a campo cerca de 800 lagartas e armazenadas em placas de 16 células (Advento do Brasil, São Paulo, Brasil) com dieta artificial (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976) e enviadas para o Laboratório de Resistência de Artrópodes a Táticas de Controle – ESALQ/USP.

Tabela 4.1 Populações de *S. frugiperda* testada em estudos de caracterização e monitoramento da suscetibilidade a methoxifenozide**.**

Código da População	Geração Avaliada	Município/Estado	Data de Coleta
		2ª Safra 2016	
GO 37	F5	Rio Verde/Goiás	18/12/2015
GO 38	F2	Rio Verde/Goiás	14/03/2016
MT 35	F2	Sapezal/Mato Grosso	23/03/2016
MS 23	F2	Chapadão do Sul/Mato Grosso do Sul	29/03/2016
MT 36	F2	Lucas do Rio Verde/Mato Grosso	30/03/2016
BA 44	F2	Anel da Soja/Bahia	30/03/2016
PR 64	F3	Cornélio Procópio/Paraná	12/04/2016
PR 65	F2	Peabirú/Paraná	15/04/2016
PR 66	F2	Palotina/Paraná	18/04/2016
SP 22	F2	Casa Branca/São Paulo	20/04/2016
MG 24	F2	Divisa Nova/Minas Gerais	20/04/2016
PR 67	F2	Cornélio Procópio/Paraná	05/05/2016
GO 39	F2	Rio Verde/Goiás	27/07/2016
		1ª Safra 2017	
BA 46	F1	São Desidério/Bahia	9/11/2016
PR 68	F1	Palotina/Paraná	9/11/2016
PR 69	F1	Tibagi/Paraná	16/11/2016
PR 70	F1	Cascavel/Paraná	16/11/2016
RS 22	F1	Stº Ant. do Planalto/Rio Grande do Sul	21/11/2016
RS 23	F1	Santo Ângelo/Rio Grande do Sul	21/11/2016
GO 42	F1	Cristalina/Goiás	23/12/2016
BA 47	F1	Luis Eduardo Magalhães/Bahia	23/12/2016
SC 06	F1	Guatambu/Santa Catarina	28/11/2016
MG 25	F1	Tupaciguara/Minas Gerais	28/11/2016
GO 40	F2	Rio Verde/Goiás	06/12/2016
GO 41	F1	Rio Verde/Goiás	12/12/2016
SP 24	F1	Casa Branca/São Paulo	30/12/2016

4.2.2 Criação e manutenção de *S. frugiperda* em laboratório

As lagartas provenientes do campo foram mantidas nos mesmo recipientes até a fase de pupa. As pupas obtidas das lagartas de campo foram retiradas da dieta e higienizadas com solução de água e sulfato de cobre a 10%. Cerca de 40 pupas foram colocadas em gaiolas de PVC de 10 cm de diâmetro por 20 cm de altura revestidas com papel jornal para oviposição. Uma vez emergidos, os adultos foram colocados no interior da gaiola um recipiente de plástico com algodão embebido em solução de água e mel 10% para alimentação. O substrato para postura e a solução de mel foram trocados a cada dois dias. As gaiolas foram mantidas em condições controladas em sala climatizada com temperatura de 25±2 ºC, umidade de 70% e fotofase de 14h. As posturas contidas nos substratos foram recortadas e armazenadas em copos plásticos (100 ml), junto com um pedaço de papel filtro umedecido para manter a umidade interna e tampados com tampa própria. Os copos com posturas foram mantidos em câmaras climatizadas (B.O.D) reguladas a temperatura de 25±2 ºC e fotofase de 14h até a eclosão das lagartas. Essas lagartas foram transferidas com o auxílio de um pincel para copos plásticos (100 ml) com dieta e mantidas até o terceiro instar. Uma parte das lagartas foi utilizada para os bioensaios e outra parte retornou para manutenção da mesma.

4.2.3 Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide

Para a caracterização das linhas-básica de suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide foi utilizada uma população suscetível de laboratório (SUS) e quatro populações de campo (MS 23, MG 24, GO 37 e SP 22) coletadas na 2ª safra de 2016 em diferentes regiões do país. Os bioensaios foram realizados em placas acrílicas com 24 células (Costar®), contendo 1,25 ml de dieta artificial por célula. Após a geleificação da dieta, 30µL da solução inseticida foi aplicada sobre sua superfície. No bioensaio da população SUS e demais populações usadas para caracterização da suscetibilidade, foram utilizadas 5 a 7 doses de methoxifenozide (Intepride® 240 SC, 24 g i.a./l), variando de 0,16 a 5,05 µg de i.a/cm^2 de dieta. As doses de methoxifenozide foram obtidas mediante a diluição em água destilada e 0,1% de surfactante Triton® X-100 para cada dose utilizada, para o tratamento controle foram utilizados apenas água destilada e surfactante. Após o período de secagem do inseticida nas placas, uma lagarta de 3º ínstar foi colocada por célula. As placas de bioensaio foram acondicionadas em câmaras climatizadas à temperatura de 25±2 ºC e 14h de fotofase. As

avaliações da mortalidade foram realizadas após 120h da transferência de lagartas nas células tratadas, sendo consideradas mortas as lagartas que quando tocadas com uma pinça não apresentavam movimento aparente.

Os dados de mortalidade de cada população de *S. frugiperda* foram submetidos à análise de Probit mediante o uso do software POLO PLUS (LEORA SOFTWARE, 2002) para a estimativa dos valores de DL_{50} e seus respectivos intervalos de confiança (I.C. 95%). Para a estimativa da dose diagnóstica (DL_{99}), a qual foi utilizada para o monitoramento da suscetibilidade, foram agrupados os dados de mortalidade das cinco populações e analisados conjuntamente (SIMS et al., 1996). Os dados de mortalidade foram submetidos ao modelo binomial com função de ligação complemento log-log (gompertz; PROC PROBIT, SAS INSTITUTE, 2000).

4.2.4 Monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide

A suscetibilidade de populações de *S. frugiperda* a methoxifenozide foi avaliada em 5 estados na 2ª safra de 2016: Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás, e 6 estados na 1ª safra de 2017: Goiás, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Bahia, Minas Gerais, Paraná e São Paulo (Tabela 4.1). O monitoramento da suscetibilidade foi realizado por meio do bioensaio de ingestão (mesmo procedimento descrito no item 4.2.3), utilizando-se uma dose diagnóstica (DL_{99}) definida anteriormente. Foram utilizadas no mínimo 480 lagartas por população e avaliada 120h após a infestação. Os dados de mortalidade (X) foram transformados por arcsen$\sqrt{X/100}$ e submetidos à análise de variância. Para discriminação dos tratamentos, as médias foram comparadas em relação a população suscetível de referência SUS pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0{,}05$) utilizando o software SAS (SAS INSTITUTE, 2000).

4.2.5 Seleção de linhagen resistente de *S. frugiperda* a methoxifenozide

A seleção foi realizada por meio da técnica de seleção massal, em que foram utilizadas 18 populações provenientes dos estados da Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul na 2ª safra de 2016 e primeira safra de 2017 (Tabela 4.1). Foram utilizadas no mínimo 480 indivíduos por população. Essas populações foram testadas na dose diagnóstica estabelecida previamente para o inseticida methoxyfenozide, por meio do biensaio de ingestão (descrito no item 4.2.3). Foram

consideradas populações resistentes aquelas que sobreviveram a dose diagnóstica e geraram progênies.

4.3 Resultado

4.3.1 Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade a methoxifenozide em populações de *S. frugiperda* do Brasil

As populações de *S. frugiperda* apresentaram DL_{50} que variaram de 0,5 a 2,1 µg de methoxifenozide/cm^2 de dieta, com uma variação de 4 vezes entre as populações avaliadas. A população do Mato Grosso do Sul (MS 23) foi a mais suscetível a methoxifenozide das populações coletadas na primeira safra de 2016, apresentando diferenças estatísticas na resposta a methoxifenozide (Tabela 4.2). O coeficiente angular da curva de dose mortalidade da população do estado de Minas Gerais (MG 24) foi a que apresentou maior valor 4,5 (±0,34) (Tabela 4.2, Figura 4.1), indicando maior homogeneidade desta população. Pela análise conjunta dos dados de concentração-mortalidade das populações de *S. frugiperda* da 1ª safra de 2016 foi estimada a DL_{99} de 6 µg de i.a/cm^2 de dieta para o methoxifenozide, sendo esta definida como dose diagnóstica para programas de monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a este inseticida.

Tabela 4. 2 Caracterização das linhas-básica de suscetibilidade a methoxifenozide para populações de *S. frugiperda* de laboratório e coletadas na cultura do milho na 1ª safra de 2016.

População	n[a]	Coef. Ang. (±EP)	DL_{50} (IC 95%) [b]	DL_{90} (IC 95%) [b]	χ^2	gl[c]
SUS	734	5,72±0,61	0,5 (0,43-0,51)	0,78 (0,72-0,90)	1,32	3
MS 23	762	3,25±0,07	1 (0,89-1,30)	2,7 (2,15-3,74)	8,09	5
MG 24	922	4,5±0,34	1,7 (1,43-1,97)	3,42 (2,50-7,14)	8,9	5
GO 37	907	2,92±0,27	1,56 (1,38-1,76)	4,3 (3,58-5,47)	0,7	4
SP 22	718	4,23±0,48	2,1 (1,72-2,47)	4,25 (3,49-6)	6,9	4

a número de lagartas
b µg de i.a/cm^2 de dieta
c grau de liberdade

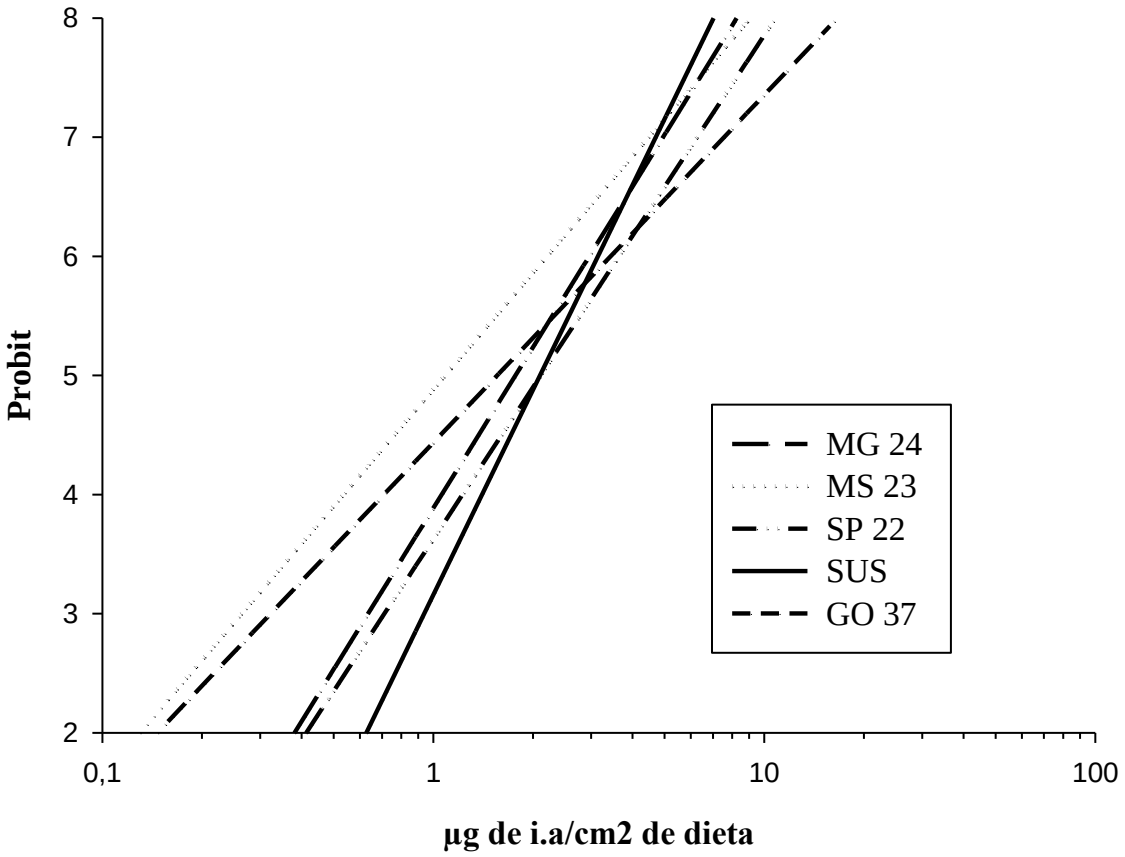

Figura 4.1 Curvas de dose-resposta de methoxifenozide em populações de *S. frugiperda* do Brasil.

4.3.2 Monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* ao inseticida methoxifenozide

As populações monitoradas na segunda safra de 2016 foram mais suscetíveis do que as populações monitoradas na primeira safra de 2017. Em 2016, apenas as populações MS 22, GO 38, GO 39 e BA 44 diferiram estatisticamente em relação a população suscetível de referência (F= 9,14; df= 12; P< 0,0001). Em 2017, apenas a população PR 70 não diferiu estatisticamente (F= 29,73; df= 13; P< 0,0001) (Figura 4.1). As populações dessa safra que diferiram estaticamente apresentaram sobrevivência variando de 7 % para MG 25 até 62% para BA 47.

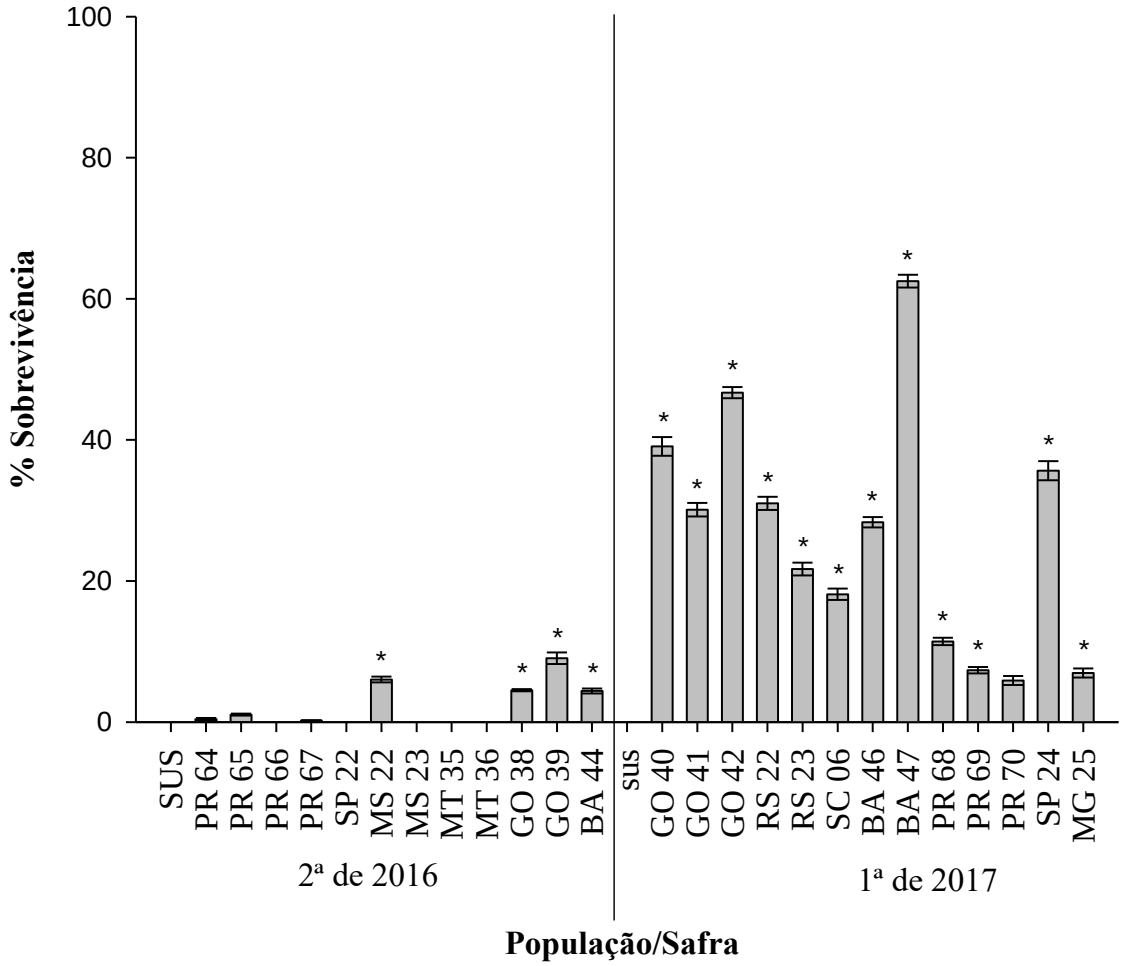

Figura 4.2 Monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide na segunda safra de 2016 e primeira safra de 2017. Populações com * são significativamente diferentes em relação a população suscetível de referência SUS**.**

4.3.3 Seleção de linhagem resistente de *S. frugiperda* a methoxifenozide

Para a seleção de linhagens resistentes a methoxifenozide foram utilizadas na dose diagnóstica 12 populações coletadas na 2ª safra de 2016 e 13 populações coletadas na 1ª safra de 2017 provenientes dos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia e São Paulo (Tabela 4.3). Apesar de algumas populações apresentarem indivíduos sobreviventes a methoxifenozide, alguns destes indivíduos não chegaram a fase adulta e os que chegaram não geraram descendentes. Com as populações da primeira safra de 2017 foi possível selecionar uma linhagem resistente a partir da população BA 47 que apresentou DL_{50} = 2,52 µg de i.a/cm^2 de dieta (Tabela 4.4). De todas as populações avaliadas foi mantida somente a população BA 47, pois foi a que apresentou maior sobrevivência.

Tabela 4.3 Seleção de populações resistentes de *S. frugiperda* ao inseticida methoxifenozide via seleção massal na 2ª safra de 2016 e 1ª safra de 2017.

Safra	Pop	n	% Sobrevivência
2ª safra 2016	MS 22	480	6
	GO 38	288	5
	GO 39	475	9
	BA 44	476	4
	PR 65	476	2
1ª safra 2017	GO 40	471	39
	GO 41	475	30
	GO 42	471	46
	RS 22	471	31
	RS 23	446	21
	SC 06	477	18
	BA 46	473	28
	BA 47	478	62
	PR 68	473	11
	PR 69	476	7
	PR 70	475	6
	SP 24	477	36
	MG 25	475	7

Tabela 4.4 Suscetibilidade de populações selecionadas na 2ª safra de 2016 e 1ª safra de 2017 a methoxifenozide na dose diagnóstica de 6 μg de i.a/cm^2 de dieta.

População	n[a]	Coef. Ang. (±EP)	DL_{50} (IC 95%) [b]	χ^2	gl[c]	RR
SUS	734	5,72±0,61	0,5 (0,43-0,51)	1,32	3	1
BA 47_R F_1	833	3,12±0,25	2,52 (1,73-3,27)	6.68	3	5

4.4 Discussão

As variações na suscetibilidade a methoxifenozide em populações de *S. frugiperda* coletadas na 2ª safra de 2016 foram de apenas 4 vezes, baseado nas comparações da DL_{50}. Resultados semelhantes foram relatados para *Spodoptera litura*, com variação na suscetibilidade de 1 a 4 vezes (SALEEM et al., 2016). Além disso, *Cydia pomonella* apresentou variação um pouco maior, chegando a 16 vezes (MOTA-SANCHEZ et al., 2008). Populações de campo de *H. armigera* no Paquistão mostraram também pequenas variações a methoxifenozide (HUSSAIN; SALEEM; SALEEM, 2014). Essas diferenças entre as DL_{50} podem ser devido à variabilidade natural intraespecífica das populações testadas. Segundo

KONDIDIE, (2011), as populações de diferentes regiões, como Estados Unidos, Argentina, Panamá e Porto Rico apresentaram baixa variabilidade interpopulacional, porém, a variabilidade intraespecífica é alta, aproximadamente 70%. O mesmo foi verificado por meio de marcadores moleculares em populações de *S. frugiperda* no Brasil, em que a variação intraespecífica foi de aproximadamente 80% (MARTINELLI et al., 2006).

Na 2ª safra de 2016, populações de *S. frugiperda* foram suscetíveis a methoxifenozide. Estes dados podem estar relacionados à pouca utilização do methoxifenozide para controle de *S. frugiperda* no campo, mantendo então a suscetibilidade. Porém na 1ª safra de 2017, as populações de *S. frugiperda* apresentaram altos índices de sobrevivência a methoxifenozide na dose diagnóstica. Esta redução na suscetibilidade pode estar relacionada ao aumento no uso de methoxifenozide para o controle de *S. frugiperda*. Além disso, no sistema de produção brasileiro existem várias plantas hospedeiras ao mesmo tempo e ao longo do ano, e essa espécie possui movimentação entre as diferentes culturas hospedeiras, o que proporciona a constante pressão de seleção desta praga a inseticidas.

Os inseticidas reguladores de crescimento podem apresentar resistência cruzada a outros inseticidas, característica que poderia levar a perda da eficiência do methoxifenozide. Uma população resistente de *Plutella xylostela* ao inseticida agonista de ecdisteroide fufenozide não apresentou resistência cruzada a inseticidas do grupo dos organofosforados, carbamatos e piretroides (SUN; LIANG; GAO, 2012). Contudo, esta população resistente de fufenozide, apresentou altos níveis de resistência cruzada a inseticidas do grupo das benzoilfenilureias. Uma população de *Musca domestica* resistente a methoxifenozide, apresentou baixa resistência cruzada a cyromazine, fipronil e chlorpyrifos (SHAH; SHAD; ABBAS, 2016). Segundo (FEYEREISEN, 1999), a detoxificação de inseticidas tem atuado como um dos principais mecanismos de adaptação do inseto à alta pressão de seleção. Sendo assim, a seleção de populações resistentes de *S. frugiperda* a outros inseticidas poderia também afetar a suscetibilidade a methoxifenozide. Recentemente, foi demonstrado que uma população resistente de *S. frugiperda* a lufenuron apresentou alta expressão de enzimas codificadas pelos genes da citocromo P450 (NASCIMENTO et al., 2016), o que poderia auxiliar na degradação de outros inseticidas.

As variações na suscetibilidade de *S. frugiperda* a methoxifenozide em populações selecionadas pela dose diagnóstica foram pequenas quando comparadas com a população suscetível. Geralmente, as populações selecionadas em laboratório apresentam um padrão de herança da resistência poligênica e isto pode ser resultado da canalização seletiva da variação fenotípica inicial (ROUSH; MCKENZIE, 1987a). Estudos com outras espécies pragas

identificaram baixa razão de resistência a methoxifenozide. Uma população de *S. exigua* apresentou aumento da CL_{50} de aproximadamente 9 vezes após sete gerações sob pressão de seleção (GORE; ADAMCZYK, 2004). A suscetibilidade a methoxifenozide em uma população de *S. litura* diminuiu após 12 gerações sob pressão de seleção, passando a ter uma razão de resistência de aproximadamente 4 vezes (WANG JIAN-JUN,TIAN DA-JUN, 2009).

Apesar de altos níveis de sobrevivência de *S. frugiperda* no presente estudo para as populações coletadas na primeira safra de 2017, possivelmente os indíviduos resistentes a methoxifenozide possuem custo adaptativo, ou seja em um ambiente sem pressão de seleção, os indivíduos resistentes apresentam desvantagem adaptativa em relação aos indivíduos da linhagem suscetível. A presença de custo adaptativo a methoxifenozide tem sido demonstrada também em outras espécies de inseto. Por exemplo, uma população do Paquistão de *S. litura* que foi mantida por 30 gerações sob pressão de seleção apresentou razão de resistência de 2358,6 vezes; contudo, após 5 gerações sem pressão de seleção a razão de resistência dimuniu para aproximadamente 164 vezes (REHAN; FREED, 2014). Além disso, SHAH; SHAD; ABBAS, (2016) observaram que em *M. domestica* também houve o restabelecimento da suscetibilidade após 5 gerações. Os autores identificaram que a linhagem resistente de *M. domestica* apresentou menor taxa de sobrevivência, número de neonatas, taxa reprodutiva líquida, taxa intrínseca de aumento natural, quando comparado com a população suscetivel de referência.

As informações obtidas no presente trabalho servirão para a implementação de estratégias de manejo da resistência de *S. frugiperda* a methoxifenozide no Brasil.

4.5 Conclusões

- As variações na suscetibilidade a methoxifenozide em populações de *S. frugiperda* coletadas no Brasil na 2ª safra de 2016 foram baixas (≈ 4 vezes);
- Houve redução significativa na suscetibilidade a methoxyfenozide em populações de *S. frugiperda* na 1ª safra de 2017;
- A razão de resistência de *S. frugiperda* a methoxyfenozide foi baixa (≈ 5 vezes).

Referências

BOTTON, M. et al. Preferência alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz e capim-arroz. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 2, p. 207–212, jun. 1998.

CARVALHO, R. A. et al. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e62268, 17 abr. 2013.

CORTEZ, M. G. R.; WAQUIL, J. M. Influência de cultivar e nível de infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no rendimento do sorgo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 2, p. 407–410, ago. 1997.

CRUZ, I. et al. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **International Journal of Pest Management**, v. 45, n. 4, p. 293–296, jan. 1999.

DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R.; LE, D. P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annual Review of Entomology**, v. 43, n. 1, p. 545–569, jan. 1998.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) a Lambda-Cialotrina. **Proteção de plantas**, v. 30, n. 2, p. 311–316, 2001.

DOURADO, P. M. et al. Correction: High susceptibility to Cry1ac and low resistance allele frequency reduce the risk of resistance of Helicoverpa armigera to *Bt* soybean in Brazil. **Plos One**, v. 11, n. 10, p. e0165142, 17 out. 2016.

FARIAS, J. R. et al. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150–158, out. 2014.

FEYEREISEN, R. Insect P450 enzymes. **Annual Review of Entomology**, v. 44, n. 1, p. 507–533, jan. 1999.

GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 70, n. 3, p. 319–323, 1 jun. 1977.

GORE, J.; ADAMCZYK, J. J. Laboratory selection for beet armyworm (lepidoptera: noctuidae) resistance to methoxyfenozide. **Florida Entomologist**, v. 87, n. 4, p. 450–453, dez. 2004.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean Caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487–488, 1 ago. 1976.

HORIKOSHI, R. J. et al. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to *Bt* maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific Reports**, v. 6, n. October, p. 34864, 2016.

HUSSAIN, D.; SALEEM, H. M.; SALEEM, M. Monitoring of insecticides resistance in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hub .) (Lepidoptera : Noctuidae). v. 2, n. 6, p. 1–8, 2014.

ISHTIAQ, M.; SALEEM, M. A.; RAZAQ, M. Monitoring of resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of the Southern Punjab, Pakistan to four conventional and six new chemistry insecticides. **Crop Protection**, v. 33, p. 13–20, mar. 2012.

KONDIDIE, D. B. Genetic variability and gene flow of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in the western hemisphere and susceptibility to insecticides, 2011.

LEON-GARCIA et al. Insecticide susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) associated with turfgrass at Quintana Roo, México. **Agrociencia**, v. 46, p. 279–287, 2012.

LEORA SOFTWARE. **Polo-Plus, POLO for windows, LeOra software** Petaluma, CA, 2002.

MARTINELLI, S. et al. Molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 2, p. 519–526, abr. 2006.

MOSCARDI, F.; KASTELIC, J. G. Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja/

PR.EMBRAPA. Centro Nacional de Soja. **Resultados da pesquisa de soja 1984/85.** Londrina: [s.n.].

MOTA-SANCHEZ, D. et al. Resistance of codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera : Tortricidae), larvae in Michigan to insecticides with different modes of action and the impact on field residual activity. **Pest Management Science**, v. 64, n. 9, p. 881–890, 2008.

NASCIMENTO, A. R. B. DO et al. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science**, n. April, p. n/a-n/a, 2015.

REHAN, A.; FREED, S. Resistance selection, mechanism and stability of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) to methoxyfenozide. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, v. 110, p. 7–12, mar. 2014.

ROUSH, R. T.; DALY, J. C. **Pesticide Resistance in Arthropods**. Boston, MA: Springer US, 1991.

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

ROUSH, R. T.; MILLER, G. L. Considerations for design of insecticide resistance monitoring programs. **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 2, p. 293–298, 1 abr. 1986.

SALEEM, M. et al. Monitoring of insecticide resistance in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of Punjab, Pakistan to conventional and new chemistry insecticides. **Crop Protection**, v. 79, p. 177–184, 2016.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide statistics**Cary, 2000.

SHAH, R. M.; ABBAS, N.; SHAD, S. A. Assessment of resistance risk in *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) to methoxyfenozide. **Acta Tropica**, v. 149, p. 32–37, set. 2015.

SHAH, R. M.; SHAD, S. A.; ABBAS, N. Methoxyfenozide resistance of house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae): Cross-resistance patterns, stability and associated fitness costs. **Pest Management Science**, abr. 2016.

SILVA, G. A. et al. Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. **Pest Management Science**, v. 67, n. 8, p. 913–920, 2011.

SIMS, S. B. et al. Monitoring strategies for early detection of lepidoptera resistance to *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins. In: [s.l: s.n.]. p. 229–242.

SPARKS, A. N. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): Potential for area-wide management. **The Florida Entomologist**, v. 69, n. 3, p. 603, set. 1986.

SUN, J.; LIANG, P.; GAO, X. Cross-resistance patterns and fitness in fufenozide-resistant diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Pest Management Science**, v. 68, n. 2, p. 285–289, fev. 2012.

TAKAHASHI, M.K.; NAKANO, O.; OSI, J. R. Avaliação de danos causados por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultura de trigo. **Solo**, v. 72, p. 43–44, 1980.

VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus. Sete Lagoas: [s.n.]. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/37470/1/circ-15-1.pdf>.

WANG JIAN-JUN,TIAN DA-JUN, Z. J. Selection and risk assessment of *Spodoptera litura* (Fabricius) resistance to methoxyfenozide. **Jiangsu Journal of Agricultural Sciences**, 2009.

XIA, Y. et al. Resistance monitoring for eight insecticides in *Plutella xylostella* in central China. **Crop Protection**, v. 63, p. 131–137, 2014.

YU, S. J. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 85, n. 3, p. 675–682, 1 jun. 1992.

ZHANG, L.; HARADA, K.; SHONO, T. Cross resistance to insect growth regulators in pyriproxyfen-resistant housefly. **Applied Entomology and Zoology**, v. 33, n. 1, p. 195–197, 1998.