

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

**Resistência de *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) a
inseticidas na cultura da soja no Brasil**

Cristiane Maria Tibola

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

**Piracicaba
2021**

**Cristiane Maria Tibola
Engenheira Agrônoma**

Resistência de *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) a inseticidas na cultura da soja no Brasil

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011.

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

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

**Piracicaba
2021**

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

Tibola, Cristiane Maria

Resistência de *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) a inseticidas na cultura da soja no Brasil / Cristiane Maria Tibola. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2021.

77 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Bioensaio 2. Percevejo-marrom 3. Controle químico 4. Manejo da resistência
I. Título

A **Deus**, pelo dom da vida;

Aos meus pais que sempre me apoiaram, **Helena** e **Agenor**;

Ao meu maior incentivador, meu marido **Leandro**;

A maior alegria da minha vida, meu filho **Vítor**;

As melhores amigas, minhas irmãs **Casiane** e **Carine**.

DEDICO E AGRADEÇO.

AGRADECIMENTOS

Eis que chegou o momento de expressar sinceros agradecimentos aos meus familiares e amigos, tanto aos “velhos” e queridos quanto aos que se revelaram ao longo desse tempo.

A caminhada para a construção desta tese não foi breve, mas uma travessia que parecia sem fim, porém os percalços, longe de obscurecerem o trajeto, aumentaram-lhe o brilho e ao invés de me deterem, impulsionaram-me com mais força.

Se o desafio desse processo de construção da tese era enorme, as motivações eram grandiosas, somadas às espontâneas generosidades, em meio a uma conjugação de afetos e amizades. Dessa forma, dedico algumas palavras àqueles que dela fizeram parte direta ou indiretamente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Celso Omoto, a quem admiro imensamente pelo profissionalismo, seriedade, competência na realização de seus trabalhos. Além disso, agradeço pelo incentivo constante em continuar a caminhada, a confiança em mim depositada e pelas oportunidades oferecidas.

Aos meus pais, Agenor e Helena, os mais profundos agradecimentos por suas sábias lições de esperança, pelo incentivo, amor, compreensão, alegria, apoio e confiança necessária para realizar os meus sonhos. A simplicidade e garra que vocês sempre me ensinaram a ter, foram essenciais neste período.

Às minhas irmãs, Casiane e Carine, pela amizade, carinho, apoio em todos os momentos. Casi, obrigada pela ajuda na escolha da minha profissão, você é um exemplo para mim. Carine, seu sorriso e alegria espontânea são o remédio para qualquer momento de desânimo.

Ao meu amado marido Leandro, pelos ensinamentos como profissional e como pessoa, um exemplo de força, caráter e superação. Obrigada pelo apoio e incentivo para que eu continuasse e concluísse esta etapa na minha vida.

Ao meu filho Vítor pelo amor, carinho e por me fazer renascer em vida, apesar de tão pequeno me ensinou a ser mais forte a cada dia, essa conquista foi por você.

Ao Thiago pelo companheirismo e amizade, pela ajuda incansável em estatística e pelos inúmeros momentos de alegria e descontração.

Aos colegas do Laboratório de Resistência de Artrópodes (ESALQ/USP) pelo convívio e companheirismo.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), que com seus conhecimentos, contribuíram significativamente para meu engrandecimento pessoal e profissional.

À equipe da empresa Pragas.com, em especial aos pesquisadores Leandro Silva, Fernanda Sgubin, Cindy Domeneguetti, Fernanda Mendes e Luis Miguel de Paula, pelo incansável auxílio, simplicidade, dedicação e competência com que me ajudaram a executar os experimentos. Obrigada por acreditarem neste trabalho.

Há outros mais a quem agradecer... A todos aqueles que, embora não nomeados, me brindaram com seus inestimáveis apoios em distintos momentos e por suas presenças afetivas, o meu reconhecido e carinhoso muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. <i>Euschistus heros</i> na cultura da soja.....	13
2.2. Fatores que afetam a evolução da resistência de <i>Euschistus heros</i> a inseticidas.....	15
2.3. Resistência de <i>Euschistus heros</i> a inseticidas.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1. Coleta de populações de <i>Euschistus heros</i>	27
3.2. Criação de <i>Euschistus heros</i> em laboratório.....	27
3.3. Inseticidas.....	28
3.4. Métodos de Bioensaio.....	31
3.5. Monitoramento da suscetibilidade de populações de <i>Euschistus heros</i> a inseticidas ..	34
3.6. Caracterização da resistência de <i>Euschistus heros</i> a inseticidas.....	36
3.7. Mistura de lambda-cyhalothrin com thiamethoxam no manejo da resistência.....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1. Métodos de Bioensaio.....	41
4.2. Linha-básica de suscetibilidade de <i>Euschistus heros</i> a inseticidas.....	45
4.3. Monitoramento da suscetibilidade de populações de <i>Euschistus heros</i> a inseticidas ...	46
4.4. Caracterização da resistência de <i>Euschistus heros</i> a inseticidas.....	51
4.5. Mistura de lambda-cyhalothrin com thiamethoxam no manejo da resistência.....	58
5. CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS.....	67

RESUMO

Resistência de *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) a inseticidas na cultura da soja no Brasil

O percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) é atualmente a principal praga da soja no Brasil, provocando danos significativos e, muitas vezes, irreversíveis à cultura. A principal estratégia de controle para regular as populações de percevejos tem sido o uso de inseticidas, principalmente do grupo dos neonicotinoides, entretanto, a pulverização destes inseticidas não tem alcançado a eficiência esperada de controle. Diante disso, para o aprimoramento de programas de detecção e monitoramento da resistência de *E. heros* a inseticidas, foram realizados estudos para (i) caracterizar a linha-básica de suscetibilidade de *E. heros* a thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin, (ii) monitorar a suscetibilidade a esses inseticidas em 46 populações de *E. heros* coletadas nas principais regiões produtoras de soja no Brasil nas safras agrícolas de 2018 a 2020, (iii) selecionar e caracterizar a resistência de *E. heros* a lambda-cyhalothrin, thiametoxam e imidacloprid e (iv) avaliar a mistura de thiamethoxam e lambda-cyhalothrin no manejo da resistência de *E. heros* a inseticidas. Inicialmente, um novo método de bioensaio por ingestão mediante encapsulação de dieta artificial foi comparada com os métodos tradicionais de bioensaios de contato tarsal e de aplicação tópica. Para thiamethoxam e imidacloprid, o melhor método de bioensaio foi o de ingestão. Já para o inseticida lambda-cyhalothrin, o melhor resultado foi obtido por aplicação tópica. Mediante uso do melhor método de bioensaio para cada inseticida, foram definidas as concentrações diagnósticas, baseada na CL₉₉ da linhagem suscetível de referência, de 5.65 µl de i.a./ml para thiametoxam; 12.45 µl de i.a./ml para imidacloprid e 0.20 µg de i.a./inseto para lambda-cyhalothrin. Foram obtidas alta variação na suscetibilidade a thiamethoxam (razões de resistência de 1.6 a 22.0 vezes), imidacloprid (razões de resistência de 1.6 a 22.0 vezes) e lambda-cyhalothrin (razões de resistência de 5.0 a 40.0 vezes) entre as populações de *E. heros* avaliadas. Posteriormente, foram realizados estudos de seleção de uma linhagem resistente de *E. heros* a inseticidas neonicotinoides a partir de uma população proveniente de Luiz Eduardo Magalhães-BA e outra linhagem resistente a lambda-cyhalothrin a partir de uma população de Londrina-PR. As razões de resistência obtidas após sete a oito ciclos de seleção foram de 66 vezes para thiamethoxam; 41 vezes para imidacloprid e 44 vezes para lambda-cyhalothrin. As linhagens de *E. heros* resistente a thiamethoxam e a lambda-cyhalothrin apresentaram indícios de resistência comportamental pela maior rejeição em permanecer na área tratada com os respectivos inseticidas em comparação com a resposta da linhagem suscetível. A mistura de thiamethoxam e lambda-cyhalothrin apresentou efeito antagônico no controle de *E. heros*. Portanto, o novo método de bioensaio por ingestão mediante encapsulação de dieta artificial foi eficiente para a detecção e monitoramento da resistência de *E. heros* a inseticidas neonicotinoides. A resistência de *E. heros* a inseticidas neonicotinoides e piretroides foi comprovada no presente estudo. Embora a mistura de inseticidas neonicotinoides e piretroides seja uma prática comum no controle de *E. heros*, essa estratégia precisa ser revisada diante do antagonismo observado na mistura de thiamethoxam e lambda-cyhalothrin no manejo da resistência a inseticidas em populações de *E. heros* no Brasil.

Palavras-chave: Bioensaio, Percevejo-marrom, Controle químico, Manejo da resistência

ABSTRACT

Resistance of *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) to insecticides in soybean crop in Brazil

The Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) is currently the main soybean pest in Brazil, causing damage and often irreversible to the crop. The main control strategy for regulating brown stink bug populations has been the use of insecticides, especially those belonging to the neonicotinoid class; however, the spraying of these insecticides has not achieved an expected standard of control efficiency in some locations. Therefore, to improve the programs for detecting and monitoring *E. heros* resistance to insecticides, we conducted studies to (i) characterize the baseline susceptibility of *E. heros* to thiamethoxam, imidacloprid and lambda-cyhalothrin, (ii) monitor the susceptibility to these insecticides in 46 populations of *E. heros* collected from major soybean-growing regions of Brazil from 2018 to 2020, (iii) select and characterize the resistance of *E. heros* to thiamethoxam, imidacloprid and lambda-cyhalothrin and (iv) evaluate the mixture of thiamethoxam and lambda-cyhalothrin for managing resistance of *E. heros* to insecticides. Initially, a novel ingestion bioassay method by liquid diet encapsulation was evaluated in comparison with the traditional bioassay methods by tarsal contact (vial test) and topical application. For thiamethoxam and imidacloprid, the best bioassay method was by ingestion. For lambda-cyhalothrin, the best result was obtained by topical application. Using the best bioassay method for each insecticide, diagnostic concentrations were defined, based on the LC₉₉ of the susceptible reference strain, of 5.65 µl a.i./ml for thiamethoxam, 12.45 µl a.i./ml for imidacloprid, 20 µg from a.i./insect to lambda-cyhalothrin. High variations in susceptibility to thiamethoxam (resistance ratios 1.6 to 22-fold), imidacloprid (resistance ratios of 1.6 to 22-fold), and lambda-cyhalothrin (resistance ratios of 5 to 40-fold) were detected among the evaluated *E. heros* populations. Subsequently, studies were carried out to select a resistant strain of *E. heros* to neonicotinoid insecticides from a population of Luiz Eduardo Magalhães-BA and another strain resistant to lambda-cyhalothrin from a population of Londrina-PR. The resistance ratios after seven to eight selection cycles were 66-fold for thiamethoxam; 41-fold for imidacloprid and 44-fold for lambda-cyhalothrin. Some evidence of behavioral resistance was detected in the thiamethoxam-resistant and lambda-cyhalothrin-resistant strains of *E. heros* because of the higher avoidance to stay in treated areas with these insecticides in compare to the response of the susceptible strain. Although the mixture of neonicotinoid and pyrethroid insecticides is a common practice in the control of *E. heros*, this strategy needs to be revised given the antagonism observed in the mixture of thiamethoxam and lambda-cyhalothrin in the management of insecticide resistance of *E. heros* in Brazil.

Keywords: Bioassay, Neotropical brown stink bug, Chemical control, Resistance management

1. INTRODUÇÃO

O percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) é atualmente a principal praga da soja *Glycine max* (Merril) no Brasil, provocando danos significativos e, muitas vezes, irreversíveis à cultura (SILVA et al., 2012, SMANIOTTO; PANIZZI, 2015; SOSA-GÓMEZ et al., 2019). Os percevejos ocorrem na soja desde a fase vegetativa e são prejudiciais a partir do início da formação das vagens até a maturação dos grãos. Os danos causados por esta espécie resultam da inserção do aparelho bucal sugador nas plantas ou vagens de soja, onde injetam secreções salivares que facilitam o processo de alimentação. Além disso, podem abrir caminho para doenças fúngicas e causar distúrbios fisiológicos, como a retenção foliar, podendo comprometer os rendimentos em até 30%, quando se alimentam de vagens ao longo dos estágios reprodutivos (GALILEO; HEINRICHS, 1978a,b; CORRÊA-FERREIRA; AZEVEDO, 2002, LOURENÇÃO et al. 2002; VIVIAN; DEGRANDE, 2011, SILVA et al., 2012, LUCINI; PANIZZI, 2018). Devido ao severo dano causado, alguns autores classificam os percevejos fitófagos como as pragas mais importantes na cultura da soja (BUENO et al., 2015; AQUINO et al., 2018; SOARES et al., 2018).

O percevejo *E. heros* é um inseto polífono, podendo se alimentar e se desenvolver em outras plantas, sejam elas cultivadas ou não, como milho, trigo, algodão, girassol, plantas daninhas, principalmente no período da entressafra (SILVA, et. al., 2006; SMANIOTTO; PANIZZI, 2015). No inverno, especialmente no Sul do Brasil, estas espécies passam por um período de diapausa, a qual é induzida pelo fotoperíodo curto e pelas baixas temperaturas, provocando alterações no comportamento, fazendo com que fiquem abrigados, muitas vezes, na palhada remanescente das lavouras, reduzindo o desenvolvimento e a reprodução (CHOCOROSQUI; PANIZZI, 2003; MOURÃO; PANIZZI, 2000; ZERBINO; PANIZZI, 2019). Após o inverno, os insetos migram novamente para as áreas de cultivo (CORRÊA-FERREIRA, 2005; PANIZZI et al., 2013).

O controle de pragas em soja se baseia praticamente no uso de produtos químicos tanto para insetos e ácaros, como para plantas daninhas e doenças que acometem a cultura (BUENO, et al. 2013; PANIZZI, 2013). Estima-se que atualmente são realizadas de quatro a oito pulverizações de inseticidas por ciclo da cultura da soja (BUENO et al. 2015, KLEFFMANN, 2016; CONTE et al. 2018). As pulverizações de inseticidas para o controle de percevejos fitófagos tem sido frequentes, utilizando inseticidas pertencentes a três grupos químicos: neonicotinoides, organofosforados e piretroides, que podem ser usados sozinhos ou em misturas formuladas (AGROFIT, 2021). A mistura de produtos tem sido uma estratégia bastante

discutida em programas de manejo da resistência de pragas a inseticidas, já que, frequentemente, ocorre redução das concentrações requeridas dos compostos para obter uma dada mortalidade, se os modos de ação dos produtos forem independentes e apresentarem efeito sinérgico (GEORGHIOU, 1983; TABASHNIK, 1989), porém na maioria das vezes esse efeito sinérgico não ocorre, podendo, desta forma, acarretar em problemas ainda mais graves quanto a resistência das pragas a inseticidas. Essa disponibilidade limitada de inseticidas e o uso frequente do mesmo modo de ação pode favorecer a seleção de indivíduos resistentes, principalmente se as estratégias de Manejo da Resistência a Insetos (IRM) forem negligenciadas (SOSA-GÓMEZ; OMOTO 2012; RIBEIRO et al. 2016; SOMAVILLA et al., 2020).

No Brasil, falhas de controle no campo foram reportadas para vários inseticidas, incluindo beta-cyfluthrin, bifenthrin, lambda-cyhalotrin (piretroide) e imidacloprid (neonicotinoide) (GUEDES, 2017; TUELHER et al., 2018; SOMAVILLA, et al., 2019; 2020). Até o presente momento, foram detectados pelo método de contato tarsal, casos de resistência de *E. heros* aos inseticidas endosulfan (ciclodieno), monocrotophos e methamidophos (organofosforados) (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010) e também ao inseticida imidacloprid (neonicotinoide) (CASTELLANOS, et al., 2018).

A resistência a inseticidas ocorre mediante a seleção de indivíduos raros na população que conseguem sobreviver à ação destes compostos nas doses utilizadas. Os principais mecanismos de resistência podem ser divididos em mecanismos fisiológicos e comportamentais (GEORGHIOU, 1972; BRATTSTEN et al., 1986). A evolução da resistência causa implicações para o manejo de pragas, tais como: aumento no número de aplicações de inseticidas, uso de doses acima do recomendado, utilização de misturas inadequadas de inseticidas e substituição por outros, normalmente mais tóxicos (GEORGHIOU, 1983).

Os métodos atualmente utilizados para detectar e monitorar a resistência de percevejos têm sido baseados em bioensaios de aplicação tópica e de contato tarsal (SNODGRASS, 1996; SOSA-GÓMEZ et al., 2001; WILLRICH et al., 2003; SNODGRASS et al., 2005; NIELSEN et al., 2008; SOSA-GÓMEZ et al., 2009; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010; TAKEUCHI; ENDO, 2012). Porém, é sabido, que a detecção da resistência pode ser afetada pelo método de bioensaio escolhido (COCHRAN, 1989; MILIO et al., 1987; RUST; REIERSON, 1991; LADONNI, 2001), e esses dois métodos se baseiam no contato direto do inseto com o inseticida por meio da aplicação sobre o tegumento do inseto pelo método de aplicação tópica ou pelo contato tarsal pela técnica de *vial test*. No entanto, os neonicotinoides, principal grupo de inseticidas utilizados para o controle de insetos sugadores, possuem propriedades sistêmicas, com características físico-químicas que permitem a sua entrada e translocação para todas as partes

dos tecidos vegetais (KAGABU et al., 1992; BROMILOW; CHAMBERLAIN, 1995; BONMATIN et al., 2014) e quando expostos a radiação UV sobre a planta são rapidamente degradados (De UDERZO et al., 2007).

Todavia, para o desenvolvimento de estratégias de manejo da resistência para *E. heros* é necessário a existência de um método de bioensaio que seja realístico para inseticidas de ação sistêmica e que permita a detecção de níveis baixos de frequência de resistência, servindo de base para programas de MRI e MIP (Manejo Integrado de Pragas) de percevejos na cultura da soja. Neste contexto, devido às características inerentes dos inseticidas pertencentes ao grupo químico dos neonicotinoides, principal grupo de inseticidas utilizado no controle de percevejos, além dos relatos de ineficiência no controle e aumento populacional de *E. heros* causando danos em soja e outras culturas, o presente trabalho objetivou-se:

- Caracterizar a linha-básica de suscetibilidade de *E. heros* aos inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin, testando um novo método de bioensaio por ingestão mediante encapsulação de dieta artificial em comparação com os métodos tradicionais de bioensaios de contato tarsal e de aplicação tópica.
- Monitorar a suscetibilidade aos inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin em populações de *E. heros* provenientes de diferentes regiões produtoras de soja do Brasil.
- Selecionar e caracterizar a resistência de *E. heros* resistentes aos inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin.
- Avaliar a estratégia de mistura de lambda-cyhalothrin e thiamethoxam no manejo da resistência *E. heros* a inseticidas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Euschistus heros* na cultura da soja

O percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae), assim como, a maior parte do complexo de percevejos que atacam a cultura da soja *Glycine max* (Merrill) no Brasil, provocam danos significativos e, muitas vezes, irreversíveis à cultura (SILVA et al., 2012, SMANIOTTO; PANIZZI, 2015; SOSA-GÓMEZ et al., 2019).

A cultura da soja é responsável por ocupar 38,50 milhões de hectares plantados, com uma produção de 135,40 milhões de toneladas, sendo uma das principais *commodities* do Brasil. O estado do Mato Grosso o responsável pelo maior volume da produção 35,94 milhões de toneladas (CONAB, 2021). Esta vasta extensão de área cultivada disponibiliza alimento para diversos organismos e pode ser colonizada por insetos-praga adaptados à cultura, como o complexo de percevejos *E. heros*, *Nezara viridula* (L.), *Piezodorus guildinii* (Westwood), *Diceraeus melacanthus* (Fabricius), *Diceraeus furcatus* (Dallas) e *Edessa meditabunda* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) (PANIZZI; SLANSKY JUNIOR, 1985; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

Dentre os percevejos, a espécie com maior relevância é o *E. heros* por ocorrer com maior frequência nas regiões produtoras de soja do Brasil (SILVA et al., 2012, SMANIOTTO; PANIZZI, 2015; SOSA-GÓMEZ et al., 2019). Nos últimos anos, tem-se observado aumento significativo de percevejos nas lavouras de soja, em certos casos, a população desses pentatomídeos supera mais de doze vezes o nível de ação definido para controle dessas pragas, que é de um e dois percevejos por metro linear para produção de sementes e grãos, respectivamente (DEGRANDE; VIVAN, 2009; BUENO et al., 2013). As flutuações populacionais das espécies de percevejos, bem como, a severidade dos danos ocasionados às lavouras brasileiras de soja, podem estar relacionadas respectivamente, com a temperatura, estágio fenológico das plantas e o sistema de plantio direto, que é amplamente adotados nos cultivos de soja, favorecendo a alimentação e a proteção física dos insetos por meio da palhada resultante dos restos culturais (BELORTE et al., 2003; SILVA; CORRÊA-FERREIRA; SOSA-GÓMEZ, 2006; ZERBINO; PANIZZI, 2019). Outro fator que pode contribuir para o aumento populacional de *E. heros* é a mudança do cenário agrícola brasileiro que possui áreas cultivadas praticamente durante o ano todo fornecendo condições ideais para a sobrevivência de insetos polípagos, como é o caso dessa espécie de pentatomídeo, cuja população pode aumentar a ponto de causar danos significativos em diversas culturas (CHOCOROSQUI, 2001).

O percevejo-marrom, *E. heros*, é nativo da região Neotropical, ocorrendo na América do Sul e, possivelmente, no Panamá (ROLSTON, 1983; PANIZZI, 2004). O primeiro registro

da ocorrência dessa espécie no Brasil em cultivo de soja foi na década de 70 no Estado de São Paulo (WILLIAMS et al., 1973). Posteriormente, essa espécie de percevejo dispersou-se para outras áreas de soja, sendo considerada atualmente uma das principais e mais abundantes pragas dessa cultura no Brasil, distribuindo-se desde regiões mais quentes, como norte do Paraná, Centro-Oeste brasileiro (Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás), Sudeste (São Paulo e Minas Gerais) (PANIZZI; SLANSKY JUNIOR, 1985; CIVIDANES; PARRA, 1994; CORRÊA-FERREIRA et al., 2010; DEGRANDE; VIVAN, 2010), como em áreas com temperaturas mais frias, onde sua ocorrência era rara, tal como no Estado do Rio Grande do Sul (PEREIRA; SALVADORI, 2008).

Os percevejos são insetos sugadores, introduzem os estiletes no substrato para se alimentar, podendo sugar várias estruturas das plantas, porém as sementes e os frutos são os locais preferenciais para sua alimentação (SCHUH; SLATER, 1995). Em consequência do hábito alimentar, são responsáveis por reduções no rendimento e na qualidade das sementes de soja, causando enrugamento e deformação dos grãos, redução na germinação e no vigor das sementes, alterações no teor de óleo e proteína, além de também ocasionar retenção foliar, conhecida no Brasil como “soja-louca” (PANIZZI; SLANSKY JÚNIOR, 1985; CORRÊA FERREIRA; PANIZZI, 1999; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; SILVA et al., 2012). Além disso, esses pentatomídeos favorecem a transmissão do fungo *Eremothecium coryli* (Peglion) Kurtzman, causador da doença “mancha-de-levedura” ou “mancha-fermento” (CORSO, 1984; PANIZZI; SLANSKY JUNIOR, 1985; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; BELORTE et al., 2003; DEGRANDE; VIVAN, 2010). Degrande e Vivan (2009) afirmam que o ataque desses pentatomídeos às vagens pode ocasionar perdas superiores a 30%. Em ataques severos, as sementes podem perder mais de 50% do poder germinativo, com redução de vigor e alterações nos teores de óleo e proteínas, comprometendo a qualidade e o valor final dos grãos e sementes (RAMIRO; MASSARIOL, 1977; VILLAS BOAS et al., 1990).

Dentre as estratégias de controle, o uso de inseticidas, é sem dúvida um dos principais meios utilizados para controlar as populações de *E. heros* na cultura da soja. De acordo com informações do Ministério da Agricultura, os principais inseticidas registrados para o controle do complexo de percevejos da soja são: acephate, chlorpyrifos, fenitrothion, malathion e parathion-methyl, pertencentes ao grupo químico dos organofosforados; carbosulfan, do grupo químico dos carbamatos; alpha-cypermethrin, bifenthrin, cypermethrin, esfenvaterate, fenpropathrin, lambda-cyhalothrin e zeta-cypermethrin, do grupo químico dos piretroides; acetamiprid, imidacloprid e thiamethoxam, pertencentes aos neonicotinoides, com uso isolado ou em mistura desses ingredientes ativos dependendo da formulação (AGROFIT, 2021). Sendo

que a maioria desses inseticidas utilizados para o controle de percevejos em soja contêm inseticidas sistêmicos do grupo dos neonicotinoides (HUTH et al., 2012; AGROFIT, 2021), apresentando controle via ingestão do produto, por meio de sucção da seiva da planta pelos percevejos.

Os inseticidas do grupo dos neonicotinoides, como imidacloprid e thiamethoxam, são os mais utilizados no mundo, sendo registrado como inseticida agrícola em mais de cem países. O mercado para estes compostos em 2011 correspondeu a 28,5% do mercado total de inseticida global, uma consequência provável da sua elevada eficácia contra uma ampla gama de artrópodes-praga (JESCHKE et al. 2013). No Brasil, a quantidade de aplicações de neonicotinoides aumentou consideravelmente nos últimos anos, devido, principalmente, à proibição de uso de organofosforados e endosulfan para controle de *E. heros* na cultura da soja, tornando-se o inseticida mais utilizado para controlar o percevejo-marrom (SOSA-GÓMEZ et al 2009; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010). No entanto, a densidade de ocorrência natural de populações *E. heros* tem aumentado consideravelmente nos últimos anos no Brasil.

O uso contínuo de inseticidas de mesmo modo de ação, por várias safras, pode induzir a seleção de populações resistentes dos insetos-praga (SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010; SOSA-GÓMEZ; OMOTO 2012), além de aumentar o custo de produção, afetar diretamente a qualidade do produto e estar relacionado com ressurgência de pragas secundárias (PANIZZI et al., 1977; AGUILLERA; BOTTAN, 2005). No Brasil, falhas de controle no campo foram reportadas para vários inseticidas (GUEDES, 2017; TUELHER et al., 2018; SOMAVILLA, et al., 2019; 2020). Até o presente momento, foram detectados casos de resistência de *E. heros* aos inseticidas endosulfan (ciclodieno), monocrotofos e metamidofos (organofosforados) (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010) e também ao inseticida imidacloprid (neonicotinoide) (CASTELLANOS, et al., 2018).

2.2 Fatores que afetam a evolução da resistência de *Euschistus heros* a inseticidas

São vários os fatores capazes de influenciar a evolução da resistência a inseticidas atuando diferencialmente sob os processos evolutivos, podendo ser agrupados em fatores genéticos e biológicos, ligados à praga alvo, e fatores operacionais que se referem ao produto químico e à sua utilização (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977a,b; ROUSH; MCKENZIE, 1987). Os fatores genéticos envolvem o número de alelos resistentes, padrão de herança da resistência, fluxo gênico e valor adaptativo dos indivíduos resistentes (ROUSH; MCKENZIE, 1987). Os fatores biológicos ligados à praga alvo englobam número de gerações por ano, progênie produzida em cada geração, tipo de reprodução, mobilidade e dispersão, hábito alimentar e

presença de refúgio (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977a). A evolução da resistência ligada a fatores operacionais podem ser influenciadas pelas características do produto químico, grupo químico, persistência, seletividade e formulação, e/ou características de aplicação, nível de controle, estágio de desenvolvimento da praga, método de aplicação, dose e estratégias para o uso dos produtos (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977b).

2.2.1 Fatores genéticos

Os fatores genéticos estão relacionados à frequência inicial de genes envolvidos na resistência, padrão de herança da resistência, fluxo gênico e custo adaptativo dos indivíduos resistentes. Inicialmente, a frequência de resistência é extremamente baixa, já que o processo de desenvolvimento da resistência é pré-adaptativa, com considerável variabilidade genética entre os indivíduos da mesma espécie provenientes de diferentes populações, incluindo os genes que conferem resistência a inseticidas (ROUSH; MCKENZIE, 1987).

No caso do percevejo marrom, mesmo possuindo ampla distribuição em áreas de soja no Brasil, a existência de reduzido fluxo gênico pode ser uma causa importante para que esta espécie tenha sido uma das primeiras a desenvolver resistência a inseticidas. Em estudos realizados pela Embrapa Soja, para avaliar diferenciação genética entre populações de *E. heros* do Brasil, evidenciou-se que o fluxo gênico do percevejo-marrom ($N_m = 0,8307$) foram menores que os observados para *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) ($N_m = 3,055$), sugerindo que as populações desse pentatomídeo apresentam maior isolamento geográfico que os referidos noctuídeos. Neste mesmo estudo ficou evidenciado que linhagens de *E. heros* de Centenário do Sul – PR são geneticamente diferentes das linhagens de Londrina – PR, com distância de apenas 50 km entre os dois locais (SOSA-GÓMEZ et al., 2004). Mais recentemente, foi detectado duas linhagens diferentes de *E. heros* no Brasil, usando marcadores mitocondriais, mostrando que a linhagem do norte apresenta maior diversidade de haplótipos, enquanto a linhagem do sul teve menor diversidade de haplótipos. O contato entre essas duas linhagens pode ocorrer, principalmente em áreas com agricultura intensiva, como o Cerrado, que liga o Norte e Sul, sendo uma importante fronteira agrícola. Os indivíduos adaptados a diferentes condições ambientais e para monoculturas podem estar se combinando em uma população de pragas panmíticas de difícil controle (SOARES et al., 2018). Os estudos de fluxo gênico são importantes, pois populações residentes e relativamente isoladas em um determinado local podem desenvolver resistência a inseticidas com maior facilidade em caso de exposição frequente a um mesmo grupo químico ou a toxinas através da pressão de seleção (GUSE et al., 2002).

2.2.2 Fatores Biológicos

O desenvolvimento da resistência também é favorecido pelo grande número de gerações que ocorre durante o ciclo da cultura. Quanto mais rápido é o ciclo de vida do inseto, não havendo comprometimento do custo adaptativo, mais rapidamente os fenótipos resistentes serão capazes de predominar no local, além de que novas mutações podem surgir espontaneamente. Em consequência, os insetos multivoltinos podem desenvolver resistência mais rapidamente que os univoltinos, por serem alvos de um maior número de ciclos de pressão de seleção em cada safra/ano agrícola (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012). O percevejo *E. heros* pode apresentar até oito gerações por ano, nas regiões mais quentes, enquanto *N. viridula* apresenta em torno de cinco gerações por ano (CIVIDANES; PARRA, 1994).

Além de atacar a cultura da soja, o percevejo *E. heros* explora uma ampla variedade de plantas hospedeiras de importância econômica, podendo alimentar-se de diversas espécies de Brassicaceae, Compositae, Euphorbiaceae, Leguminosae e Solanaceae (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1982; LINK; GRAZIA, 1987; PINTO; PANIZZI, 1994). Como hospedeiros alternativos para este percevejo, pode-se citar plantas de alfafa (*Medicago sativa* L.), algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.), ervilha (*Pisum sativum* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), ligustro (*Ligustrum* sp.) e mamona (*Ricinus communis* L.) (MOURÃO; PANIZZI, 2000; PANIZZI, 2003; DEGRANDE; VIVAN, 2009; SORIA; DEGRANDE; PANIZZI, 2010). Porém, já foi detectado a presença e danos de percevejos em gramíneas, como o milho, *Zea mays* L. e o trigo, *Triticum aestivum* L. (CHOCOROSQUI, 2001). Portanto, o manejo não recomendado com inseticidas, que é realizado na entressafra da soja sobre a palhada e outras culturas, também terá influência nas populações subsequentes, podendo funcionar como um dos ciclos de seleção para aumentar a resistência a inseticidas (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012).

O comportamento de alimentação e dormência na entressafra de *E. heros* estão mudando, o que instiga especulações sobre a seleção contínua de novas características biológicas destes indivíduos. Esta espécie tem capacidade de suportar dormência parcial sem alimentação por até seis meses, que pode ser considerada uma adaptação valiosa em culturas anuais como a soja (PANIZZI, 1997). Além disso, há também relatos cada vez mais frequentes de *E. heros* causando danos em algodão, sugerindo uma recente mudança na dinâmica alimentar dessa praga (SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010; BUENO et al., 2015; SORIA et al., 2017). Somado a essas recentes mudanças comportamentais, o plantio direto (propicia locais de dormência adequados), rotações de hospedeiros e mistura de linhagens geneticamente distantes podem

estar contribuindo para o problema do aumento de *E. heros* nas culturas agrícolas (ZUCCHI et al., 2019).

Conforme o alimento, o tempo de desenvolvimento ninfal, sobrevivência, longevidade e quantidade de ovos/fêmea podem ter grande variabilidade (PANIZZI, 1997). Para *E. heros*, o tempo de desenvolvimento das ninfas foi de 23,5 dias para insetos alimentados com soja e 21,0 dias quando alimentados com *E. heterophylla*, e mortalidade de 6,7% e 21,5%, respectivamente, a fecundidade variou de 61,7 a 293,8, quando alimentados com *E. heterophylla* e soja, respectivamente (PINTO; OLIVEIRA, 1994; CIVIDANES; PARRA, 1994). Além disso, entre as espécies de percevejos alimentadas com o mesmo hospedeiro apresentam elevada variabilidade nos parâmetros biológicos. Quando comparamos as espécies de percevejos *E. heros*, *N. viridula* e *P. guildinii* alimentados com soja percebemos baixa variabilidade no tempo de desenvolvimento das ninfas (2° ao 5° ínstaes) 23,5; 26,2 e 21,5 dias, respectivamente, mas elevada variabilidade na mortalidade 6,7; 60,0 e 88,0%, respectivamente (PANIZZI; ALVES, 1993; CIVIDANES; PARRA, 1994; PANIZZI, 2002). A fecundidade variou entre as espécies alimentadas com soja, sendo 293,8; 139,7 e 78,7 ovos/fêmea para *E. heros*, *N. viridula* e *P. guildinii*, respectivamente (CIVIDANES; PARRA, 1994; PANIZZI; HIROSE, 1995; PANIZZI, 2002). Isso evidencia muito bem as diferenças entre as espécies de percevejos, enfatizando fatores biológicos relacionados ao *E. heros* que justificam a elevada ocorrência dessa espécie em relação as demais.

2.2.3 Fatores operacionais

Os fatores operacionais são os únicos que podem ser manipulados pelo homem de forma a prevenir ou retardar a evolução da resistência, uma vez que os fatores genéticos e biológicos são características intrínsecas do organismo. Esses fatores operacionais podem ser divididos em dois grupos: relacionados às características do produto químico (grupo químico, persistência, seletividade e formulação) e aqueles relacionados com as características de aplicação (nível de controle, estágio de desenvolvimento da praga, método de aplicação, dose e estratégias para o uso dos produtos) (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977a,b).

A agricultura brasileira é intensiva, com grandes áreas cultivadas, possuindo uma ampla extensão de culturas disponíveis para os insetos o ano todo, podendo em algumas regiões ter até três ciclos de safra por ano, o que leva a grandes desafios quando se trata de controle de pragas. Embora as inovações tecnológicas tenham levado a rendimentos cada vez maiores de safras como soja, os agricultores ainda relatam falhas de controle de insetos com mais frequência do que seria desejável (SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010; TUELHER et al., 2018).

Essas falhas no controle podem estar relacionadas ao uso frequente de ingredientes ativos de inseticidas que apresentam o mesmo modo de ação. Estima-se que atualmente são realizadas de quatro a oito pulverizações de inseticidas por ciclo da cultura da soja (BUENO et al. 2015, KLEFFMANN, 2016; CONTE et al. 2018). É possível que o controle frequente de lagartas na cultura da soja com o mesmo grupo de inseticidas, por exemplo organofosforados, tenha ocasionado a seleção de genótipos de percevejos resistentes a este grupo de inseticidas. Dentro desse grupo, incluem-se metamidophos, profenofos, chlorpyrifos, monocrotophos e metil parathion. O único representante do grupo dos ciclodienos é o endosulfan, que, em geral, era utilizado com duplo propósito, ou seja, para controlar as populações de lagartas desfolhadoras e as três espécies mais importantes do complexo de percevejos (*E. heros*, *P. guildinii* e *N. viridula*). Provavelmente, essa característica e a seletividade para predadores nas doses recomendadas tenham feito desse um dos inseticidas mais utilizados na cultura da soja, desde a década de 1960, entretanto, a sua comercialização está proibida desde 2013 (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012).

A utilização de agroquímicos recomendados para percevejos no controle de populações iniciais de lagartas desfolhadoras pode exercer pressão de seleção nas primeiras gerações de percevejos que colonizam a lavoura. Assim, a seleção que ocorre a partir desse momento, poderá continuar com o uso dos mesmos inseticidas para o controle das gerações subsequentes de percevejos (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012), aumentando o risco de seleção de *E. heros* resistente a inseticidas.

Os inseticidas para o controle de percevejos fitófagos usados com mais frequência são pertencentes a três grupos químicos: neonicotinoides, organofosforados e piretroides, que podem ser usados sozinhos ou em misturas formuladas (AGROFIT, 2021). A mistura de produtos tem sido uma estratégia bastante discutida em programas de manejo da resistência de pragas a inseticidas, já que, frequentemente, ocorre redução das concentrações requeridas dos compostos para obter uma dada mortalidade, se os modos de ação dos produtos forem independentes e apresentarem efeito sinérgico (GEORGHIOU, 1983; TABASHNIK, 1989), porém na maioria das vezes esse efeito sinérgico não ocorre, podendo, desta forma, acarretar em problemas ainda mais graves quanto a resistência das pragas a inseticidas. Essa disponibilidade limitada de inseticidas e o uso frequente do mesmo modo de ação pode favorecer a seleção de indivíduos resistentes, principalmente se as estratégias de Manejo da Resistência a Insetos (IRM) forem negligenciadas (SOSA-GÓMEZ; OMOTO 2012; RIBEIRO et al. 2016; SOMAVILLA et al., 2020).

No Brasil, falhas de controle no campo foram reportadas para vários inseticidas, incluindo beta-cyfluthrin, bifenthrin, lambda-cyhalotrin (piretroide) e imidacloprid (neonicotinoide) (GUEDES, 2017; TUELHER et al., 2018; SOMAVILLA, et al., 2019; 2020). Até o presente momento, foram detectados pelo método de contato tarsal, casos de resistência de *E. heros* aos inseticidas endossulfan (ciclodieno), monocrotofos e metamidofos (organofosforados) (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010) e também ao inseticida imidacloprid (neonicotinoide) (CASTELLANOS, et al., 2018). Geralmente, quando um inseticida não controla adequadamente, o usuário tende a aplicar o mesmo produto, utilizando doses maiores. Essa prática deve ser desaconselhada, para não dar continuidade ao processo de seleção de indivíduos resistentes. Dessa maneira, a utilização subsequente do inseticida nessas circunstâncias, deve ser cuidadosamente revisada, sendo recomendável aplicar produtos com modos de ação diferentes (SOSA-GÓMEZ, 2017), ou fazer o uso de outros métodos de controle, como o controle biológico com *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) para *E. heros*.

Outro fator que vale ressaltar foi a adoção de plantas transgênicas Bt em todo o mundo, que representam um marco importante no controle de insetos, porém o uso de Bt também foi associado a um aumento nas densidades de insetos sugadores, em particular, hemípteros (SALUSO et al., 2011; CATARINO et al., 2015). Culturas transgênicas Bt têm sido muito eficazes contra insetos lepidópteros, permitindo produtores apliquem menos inseticidas. No entanto, esta diminuição em uso de inseticida, juntamente com o efeito insignificante do Bt sobre hemípteros, tem sido atribuída como uma das principais causas de surtos de hemípteros em campos de soja. No Brasil, esse aumento em hemípteros, a densidade populacional tem sido mais aparente na região do Cerrado, onde a produção de soja é intensiva (SPEHAR, 1995). Não por acaso, o Cerrado brasileiro também é o lugar onde tem as maiores lavouras de algodão, muitas vezes lado a lado com soja ou em rotação com a soja. Considerando todos os aspectos mencionados, entendemos que a compreensão de todos os fatores envolvidos no desenvolvimento da resistência é de fundamental importância para a implementação de programas de manejo da resistência que visam prevenir, retardar ou reverter a evolução da resistência de pragas a inseticidas (GEORGHIOU; TAYLOR, 1986).

2.3 Resistência de *Euschistus heros* a inseticidas

O uso intensivo e indiscriminado de inseticidas tem causado uma rápida evolução da resistência em muitas espécies de insetos. A resistência pode ser definida como o desenvolvimento de uma habilidade em linhagem de um organismo de tolerar doses de tóxicos

que seriam letais para a maioria dos indivíduos da população normal (suscetível) da espécie (World Health Organization citada por CROFT; VAN DE BAAN, 1988). A resistência é uma característica hereditária, portanto no contexto genético pode-se definir a resistência como "o marco na mudança da composição genética de uma determinada população em resposta à pressão de seleção" (CROW, 1957).

Os insetos possuem ciclo de vida curto e prole abundante, o que favorece o surgimento de populações com diferentes características genéticas. A propagação de resistência a inseticidas em populações de insetos está relacionada com a frequência de sua utilização e é resultante não apenas da pressão de seleção desses compostos tóxicos sobre estas populações, como das características herdadas das espécies de insetos envolvidas (HEMINGWAY; RANSON, 2000). Os indivíduos com mutações vantajosas relacionadas ao fenótipo de resistência possuem maior probabilidade de sobreviverem a tratamentos com inseticidas e contribuir com uma prole maior que aqueles indivíduos suscetíveis, resultando no aumento da frequência do gene que confere resistência nas próximas gerações (BEATY; MARQUARDT, 1996).

Como a cultura da soja é amplamente distribuída no Brasil, as aplicações recorrentes de inseticidas favorecem o desenvolvimento de resistência de diversas espécies associadas a esta cultura. Os primeiros relatos de problemas de deficiência de controle do percevejo marrom na soja ocorreram no início da década de 90. Nessa oportunidade, as falhas de controle nas propriedades rurais foram atribuídas a problemas de formulação do inseticida endossulfan (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012). Mais recentemente, falhas de controle no campo foram reportadas para vários inseticidas, incluindo beta-cyfluthrin, bifenthrin, lambda-cyhalotrin (piretroide) e imidacloprid (neonicotinoide) (GUEDES, 2017; TUELHER et al., 2018; SOMAVILLA, et al., 2019; 2020). Até o presente momento, foram detectados pelo método de contato tarsal, casos de resistência de *E. heros* aos inseticidas endossulfan (ciclodieno), monocrotofos e metamidofos (organofosforados) (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010) e também ao inseticida imidacloprid (neonicotinoide) (CASTELLANOS, et al., 2018). A evolução da resistência causa implicações para o manejo de pragas, tais como: aumento no número de aplicações de inseticidas, uso de doses acima do recomendado, utilização de misturas inadequadas de inseticidas e substituição por outros, normalmente mais tóxicos (GEORGHIU, 1983).

Os inseticidas mais utilizados para o controle de percevejos, desde a década de 1960 até meados da década de 2010, pertenceram ao grupo dos Organofosforados, inibidores da enzima acetilcolinesterase e apenas um ciclodieno (endossulfan), bloqueadores de canais de sódio

mediados pelo GABA. Atualmente, para o controle do complexo de percevejos, tem-se utilizado principalmente inseticidas pertencentes a três grupos químicos: neonicotinoides, organofosforados e piretroides, que podem ser usados sozinhos ou em misturas formuladas (AGROFIT, 2021). O uso dos neonicotinoides aumentou consideravelmente nos últimos anos, devido, principalmente, à resistência de *E. heros* aos organofosforados e endosulfan, tornando-se, portanto, o grupo químico mais utilizado para controlar o percevejo-marrom (SOSA-GÓMEZ et al., 2009; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010). Os neonicotinoides atuam no sistema nervoso central dos insetos como moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina (IRAC, 2021). O inseticida imidacloprid, pertencente ao grupo dos neonicotinoides é o inseticida mais utilizado para controlar insetos sugadores, e tem sido usado extensivamente por vários anos desde 1991 quando foi descoberto por Shinzo Kagabu (KAGABU et al., 1992; TOMIZAWA; CASIDA, 2011). A partir daí iniciou a era dos neonicotinoides como os principais inseticidas utilizados no mercado global (JESCHKE et al. 2011; CASIDA; DURKIN, 2013), sendo lançado em 1999 o thiamethoxam (MAIENFISCH et al., 2001) e o clothianidin, que é um metabolito de thiamethoxam (MEREDITH et al., 2002).

A falta de novas moléculas tem levado à utilização de produtos com modo de ação semelhante numa mesma safra, por vários anos (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012). A repetida utilização desses produtos tem favorecido a evolução da resistência (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010). Os principais mecanismos de resistência podem ser divididos em mecanismos fisiológicos e comportamentais (GEORGHIOU, 1972; BRATTSTEN et al., 1986). Os mecanismos fisiológicos podem ser divididos em mecanismos bioquímicos e fisiológicos propriamente dito. Os mecanismos bioquímicos estão relacionados ao aumento da destoxificação metabólica devido à ação de enzimas destoxificativas e à redução da sensibilidade do sítio de ação do inseticida (TAYLOR; FEYEREISEN, 1996; SCOTT, 1999). Os mecanismos fisiológicos de resistência envolvem o aumento da taxa de excreção dos compostos tóxicos pelo organismo, sequestro de substâncias tóxicas e a redução da penetração do inseticida no inseto (BRATTSTEN et al., 1986; McKENZIE, 1996). Os mecanismos comportamentais são determinados por ações que influenciam a resposta do organismo a pressões seletivas exercidas por um determinado inseticida, aumentando a capacidade de uma população de insetos escapar dos efeitos letais do inseticida, podendo estar relacionado à capacidade de aprendizagem do inseto (LOCKWOOD, et al., 1984; FFRENCH-CONSTANT, 1994).

A ocorrência de resistência a inseticidas dentro do complexo de percevejos que causam danos em soja é uma preocupação mundial, sendo foco de pesquisas em vários países,

principalmente sobre formas de controle e manejo da resistência a produtos químicos. Nos Estados Unidos, foi avaliada a toxicidade de inseticidas do grupo dos piretroides (bifenthrin, cypermethrin, cyfluthrin, lambda-cyhalothrin e permethrin) e organofosforados (acephate, dicrotophos, malathion e metil parathion) para *Euschistus servus* (Say), *Acrosternum hilare* (Say) e *N. viridula* (Hemiptera: Pentatomidae), coletados em soja, no outono de 2001 e 2002, próximo de Stoneville – MS e Eudora – AR. Os bioensaios do tipo *vial test* (impregnação de inseticida no interior de recipientes de vidro) confirmaram que o *E. servus* foi menos suscetível a piretroides e organofosforados do que as demais espécies de percevejos (SNODGRASS et al., 2005).

Uma alternativa no controle de pragas é a mistura de produtos, sendo esta uma estratégia bastante discutida em programas de manejo da resistência de pragas a pesticidas (GEORGHIOU, 1983; ROUSH, 1989; TABASHNIK, 1989). O princípio da mistura é que os indivíduos resistentes a um determinado produto A serão controlados pelo produto B e vice-versa, e que a resistência a cada composto é independente e inicialmente rara (CURTIS, 1985; MANI, 1985).

A mistura de inseticidas tem sido adotada para o controle do complexo de percevejos. Entre as misturas registradas está thiamethoxam e lambda-cyhalothrin (AGROFIT, 2021), que foi objeto de estudo neste trabalho devido a sua importância e crescente uso na agricultura. O grande risco quando se utiliza mistura sob elevada pressão de seleção, devido ao uso repetitivo do mesmo produto é ocorrer resistência aos dois compostos da mistura. A resistência a dois ou mais compostos químicos, através da resistência cruzada ou múltipla, tem sido um dos grandes problemas em programas de manejo de pragas, resultando em maiores dificuldades de controle, podendo muitas vezes limitar a efetividade de alguns novos inseticidas, que contém uma molécula química já utilizada, o que acaba comprometendo o lançamento de produtos no mercado.

2.3.1 Bioensaios para detecção de resistência de *Euschistus heros* a inseticidas

Os métodos atualmente utilizados para detectar e monitorar a resistência de percevejos têm sido baseados em bioensaios de aplicação tópica e de contato tarsal (SNODGRASS, 1996; SOSA-GÓMEZ et al., 2001; WILLRICH et al., 2003; SNODGRASS et al., 2005; NIELSEN et al., 2008; SOSA-GÓMEZ et al., 2009; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010; TAKEUCHI; ENDO, 2012). Para o percevejo-marrom, *E. heros*, tem sido relatado por alguns autores bioensaios de aplicação tópica para detectar resistência a inseticidas, sendo aplicados na região do pronoto dos percevejos adultos (SOSA-GÓMEZ et al., 2009; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010). Porém

no Japão, foi utilizada a técnica de aplicação tópica na superfície do abdome ou do tórax de ninfas de terceiro instar e adultos, para avaliar a susceptibilidade a inseticidas para as espécies *N. viridula*, *Nezara antennata* Scott, *Piezodorus hybneri* (Gmelin) e *Riptortus pedestris* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) (TAKEUCHI; ENDO, 2012).

O método de bioensaio de contato tarsal é o mais utilizado para detecção e monitoramento da resistência de percevejos a inseticidas, através do *vial test* (SNODGRASS, 1996; SOSA-GÓMEZ et al., 2001; WILLRICH et al., 2003; SNODGRASS et al., 2005; NIELSEN et al., 2008; CASTELLANOS, et al., 2018). Em estudos com *E. heros*, para detectar resistência aos inseticidas endossulfan, monocrotophos e metamidophos usando *vial test* evidenciou maior razão de resistência dessa espécie para endossulfan (SOSA-GÓMEZ et al., 2001). Para o complexo de percevejos-praga da cultura da soja nos Estados Unidos, foi avaliada a toxicidade de inseticidas do grupo dos piretroides e organofosforados para as espécies *E. servus*, *A. hilare* e *N. viridula*, pela técnica de *vial test*, ficando evidente maior tolerância do *E. servus* a todos os inseticidas testados em comparação com os demais percevejos (SNODGRASS et al., 2005).

O nível de resistência detectado pode ser afetado pelo método de bioensaio escolhido, inclusive dentro de uma mesma linhagem (COCHRAN, 1989; MILIO et al., 1987; RUST; REIERSON, 1991), como também pelo estágio de desenvolvimento do inseto (LADONNI, 2001). Conforme demonstrado no trabalho de TAKEUCHI e ENDO (2012), na avaliação de suscetibilidade do complexo de percevejos-praga da soja, para as espécies *N. viridula*, *N. antennata*, *P. hybneri* e *R. pedestris*, aos inseticidas: fenitrothion e fenthion (organofosforados), etofenprox e silafluofen (piretroides), dinotefuran e clothianidin (neonicotinoides), e ethiprole (fenilpirazois), mediante o uso de aplicação tópica na superfície do abdome ou do tórax de ninfas de terceiro instar e adultos, sendo verificado que os valores de DL50 para adultos foram 10 vezes maiores do que aqueles aplicados nas ninfas, tratados com o mesmo inseticida.

Os métodos de bioensaios de aplicação tópica e contato tarsal utilizados para detectar e monitorar resistência de percevejos a inseticidas são mais indicados para produtos com ação de contato, haja visto, a forma de detecção dos mesmos por contato direto com aplicação do produto no pronoto do percevejo ou por contato tarsal pelo caminhar dos insetos no vidro impregnado com o inseticida. Porém os neonicotinoides, principal grupo de inseticidas utilizados para o controle de insetos sugadores, possuem propriedades sistêmicas, com características físico-químicas que permitem a sua entrada e translocação para todas as partes dos tecidos vegetais (KAGABU et al., 1992; BROMILOW; CHAMBERLAIN, 1995; BONMATIN et al., 2014). Independentemente do modo de aplicação e via de entrada na planta,

os neonicotinoides se translocam da raiz ao ápice, tornando-a tóxica para qualquer inseto, principalmente insetos sugadores de seiva (SIMON-DELSO, 2015), como é o caso dos percevejos. Por outro lado, esse mesmo grupo de inseticidas em condições aeróbicas e de radiação (UV) no solo ou sobre a planta podem variar amplamente, podendo ser hidrolisado e degradado rapidamente (USEPA 2003; De UDERZO et al., 2007). Sob radiação UV, o inseticida thiamethoxam é quase completamente degradado (cerca de 96%) em aproximadamente 10 minutos (De UDERZO et al., 2007).

O desenvolvimento de estratégias de manejo da resistência para *E. heros* requer a existência de um método de bioensaio que seja realístico para inseticidas de ação sistêmica, prático para que possa ser reproduzido facilmente, além de fornecer dados de dose-resposta adequados para análise estatística e que permita a detecção de níveis baixos de frequência de resistência (FFRENCH-CONSTANT; ROUSH, 1990). Portanto, o desenvolvimento de um novo método de bioensaio que simule a ação sistêmica dos inseticidas e a forma de alimentação por sucção dos percevejos, via ingestão, seria bastante interessante. Para que se possa ter um método de bioensaio por ingestão se torna necessário o uso de dieta artificial, sendo que, para *E. heros* Cerna-Mendoza et al. (2016) propuseram uma dieta seca composta de vagem de feijão liofilizada moída com amendoim triturado, adicionando-se anticontaminantes. Outra estratégia que pode ser interessante para o método de bioensaio via ingestão, seria o encapsulamento de dieta artificial líquida, permitindo a incorporação do inseticida uniformemente, desta forma, quando o inseto insere o aparelho bucal para se alimentar ingere o produto. Greany & Carpenter (1998), propuseram o encapsulamento de dieta líquida com Parafilm[®] para a criação de insetos parasitas e predadores, tornando possível a alimentação e/ou oviposição dos insetos em um meio artificial, facilitando desta forma a criação massal de insetos em laboratório. Essa técnica de encapsulamento de dietas artificiais foi utilizada para alimentar pragas de grãos de armazenados *Sitophilus oryzae* (L.), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) e *Tribolium castaneum* (Herbst), usando uma dieta seca (EPSKY, 2002). Em vista disso, se faz necessário, o aperfeiçoamento de técnicas de criação de insetos, com agregação de novas tecnologias, a fim de impulsionar a evolução e expansão do Manejo Integrado de Pragas (COHEN, 2015).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente projeto de pesquisa foi desenvolvido nos Laboratórios de Pesquisa e Desenvolvimento da empresa Pragas.com[®], Piracicaba-SP no período de 2016 a 2021.

3.1 Coleta de populações de *Euschistus heros*

Para os estudos da suscetibilidade de *E. heros* a inseticidas foram coletadas populações em regiões geograficamente distintas de produção de soja durante as safras de 2018/2019; 2019/2020 e 2020/2021 (Tabela 1; Figura 1). A definição dos locais de coleta foi baseada na abrangência das principais regiões produtoras de soja no Brasil e também na representatividade de diferentes condições climáticas, manejos e cultivares utilizadas no plantio. As coletas foram realizadas com o uso do pano de batida e catação manual, sendo coletado \approx 500 adultos/local. Após a coleta os percevejos foram levados ao laboratório, onde foram mantidos em dieta natural.

Além das populações de campo, se utilizou uma população suscetível de referência (SUS) de *E. heros*, coletada na Fazenda Areião da Esalqtec, Piracicaba/SP, em plantas de soja, sendo mantida há mais de seis anos no Laboratório da empresa Pragas.com[®], na ausência de pressão de seleção com inseticidas (Tabela 1). O manejo neste local é principalmente com o uso de controle biológico com liberações de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e aplicações de Dipel (*Bacillus thuringiensis*) para lagartas desfolhadoras e *T. podisi* para percevejos.

3.2 Criação de *Euschistus heros* em laboratório

Após a coleta, os percevejos adultos foram trazidos para o laboratório e mantidos em recipientes de plástico transparentes (50 cm de comprimento \times 30 cm largura \times 15 cm de altura), possuindo uma abertura na tampa (20 cm de comprimento \times 10 cm de largura) para permitir a troca gasosa e recoberta por tecido de *voil*.

Para estabelecer as populações de campo foram coletados os ovos a cada dois dias e acondicionados em placas de Petri (90 cm de diâmetro) contendo um rolo dental umedecido com água destilada. A partir da eclosão das ninfas, estas eram mantidas nas placas até o segundo instar, quando os insetos eram transferidos para recipientes de plástico transparentes (20 cm de comprimento \times 15 cm largura \times 10 cm de altura), onde permaneciam até chegarem a fase adulta.

Os percevejos tanto na fase de ninfa como adultos foram alimentados com vagens de feijão verde (*Phaseolus vulgaris* L.), sementes soja e amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Para permitir a oviposição nos recipientes contendo os insetos adultos era colocado tiras de tecido

de algodão cru de coloração bege, coladas na tampa, dessa forma a fêmea depositava os ovos para posterior coleta e manutenção das populações.

Os insetos eram mantidos em uma sala climatizada a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 10\%$ UR e uma fotofase de 12:12 h. Os insetos provenientes do campo permaneceram nessas condições por uma geração antes de serem utilizados nos bioensaios. A população suscetível de referência era mantida da mesma maneira que as populações de campo.

3.3 Inseticidas

Os inseticidas técnicos usados para avaliar a suscetibilidade das populações de *E. heros* pelos métodos tradicionais de contato tarsal e de aplicação tópica foram: lambda-cyhalothrin ($\geq 95\%$ a.i.; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) que é modulador dos canais de sódio (grupo piretroide IRAC MoA 3A); thiamethoxam ($\geq 98\%$ a.i.; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) e imidacloprid ($\geq 98\%$ a.i.; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA), ambos são moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina (grupo neonicotinoide IRAC MoA 4A).

Para avaliar a suscetibilidade das populações de *E. heros* pelo método de ingestão foram utilizados três inseticidas comerciais: lambda-cyhalothrin (grupo piretroide IRAC MoA 3A; Karate Zeon 50 CS; 50 g a.i./L no volume de pulverização de 200 L/ha; Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, SP, Brasil); thiamethoxam (grupo neonicotinoide IRAC MoA 4A; Actara 250 WG; 250 g a.i./L no volume de pulverização de 200 L/ha; Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e imidacloprid (grupo neonicotinoide IRAC MoA 4A; Evidence 700 WG; 700 g a.i./kg no volume de pulverização de 200 L/ha; Bayer, São Paulo, SP, Brasil).

Tabela 1 – Populações de *Euschistus heros* coletadas em diferentes safras e regiões do Brasil para o monitoramento e caracterização da suscetibilidade a inseticidas.

(continua)

Safra	População	Local	Latitude	Longitude	Data da Coleta
	SUS	Piracicaba – SP	-22.413.920	-47.382.900	Jan. 2013
2018/2019	1	Cesário Lange - SP	-23.221.722	-47.879.901	Jan. 2019
	2	Santo Ângelo - RS	-28.268.440	-54.222.377	Fev. 2019
	3	Buri – SP	-23.797.690	-48.555.636	Fev. 2019
	4	Uberlândia 2 - MG	-19.039.666	-48.214.689	Jan. 2019
	5	Londrina – PR	-23.270.385	-51.096.414	Jan. 2019
	6	Belmonte – SC	-26.864.231	-53.579.014	Fev. 2019
	7	Rio Verde – GO	-17.800.507	-50.888.559	Jan. 2019
	8	Canarana – MT	-13.545.447	-52.326.032	Fev. 2019
	9	Santa Bárbara do Oeste - SP	-22.826.796	-47.469.803	Jan. 2019
	10	Santa Cruz das Palmeiras - SP	-21.846.312	-47.248.144	Jan. 2019
	11	Luís Eduardo Magalhães - BA	-12.158.124	-45.781.697	Jan. 2019
	12	Sete Lagoas - MG	-19.447.287	-44.174.600	Jan. 2019
2019/2020	13	Cesário Lange - SP	-23.221.823	-47.882.271	Dez. 2019
	14	Santo Ângelo - RS	-28.271.968	-54.229.174	Fev. 2020
	15	Buri – SP	-23.797.690	-48.555.636	Fev. 2020
	16	Uberlândia 2 - MG	-18.931.495	-48.165.026	Jan. 2020
	17	Londrina – PR	-23.246.961	-51.119.236	Jan. 2020
	18	Não me Toque - RS	-28.450.782	-52.844.472	Jan. 2020
	19	Rio Verde – GO	-17.854.921	-50.947.760	Jan. 2020
	20	Santa Bárbara do Oeste - SP	-22.825.832	-47.470.452	Dez. 2019
	21	Santa Cruz das Palmeiras - SP	-22.185.233	-47.242.628	Dez. 2019
	22	Chapadão do Sul - MS	-18.757.929	-52.557.225	Dez. 2019
	23	Luís Eduardo Magalhães - BA	-12.137.713	-45.808.886	Jan. 2020
	24	Sete Lagoas - MG	-19.456.500	-44.173.400	Dez. 2019
	25	Lucas do Rio Verde - MT	-13.035.200	-55.574.500	Jan. 2020
	26	Primavera do Leste - MT	-15.505.000	-54.296.000	Jan. 2020
	27	Sorriso – MT	-12.355.670	-55.446.880	Jan. 2020
	28	Cristalina – GO	-16.934.871	-47.678.666	Jan. 2020
	29	São Desidério - BA	-12.343.002	-44.996.204	Jan. 2020
	30	Rolândia – PR	-23.161.728	-51.284.844	Jan. 2020
2020/2021	31	Cesário Lange - SP	-23.221.823	-47.882.271	Dez. 2020
	32	Buri – SP	-23.793.682	-48.554.622	Fev. 2021
	33	Uberlândia – MG	-18.931.495	-48.165.026	Dez. 2020
	34	Londrina – PR	-23.246.961	-51.119.236	Fev. 2021
	35	Não me Toque - RS	-28.450.782	-52.844.472	Fev. 2021
	36	Rio Verde – GO	-17.854.921	-50.947.760	Dez. 2020
	37	Santa Bárbara do Oeste - SP	-22.826.796	-47.469.803	Fev. 2021

Tabela 1 – Populações de *Euschistus heros* coletadas em diferentes safras e regiões do Brasil para o monitoramento e caracterização da suscetibilidade a inseticidas.

(conclusão)

Safra	População Local	Latitude	Longitude	Data da Coleta	
2020/2021	38	Santa Cruz das Palmeiras - SP	-21.846.312	-47.248.144	Fev. 2021
	39	Chapadão do Sul - MS	-18.757.929	-52.557.225	Jan. 2021
	40	Luís Eduardo Magalhães - BA	-12.137.713	-45.808.886	Fev. 2021
	41	Lucas do Rio Verde - MT	-13.035.200	-55.574.500	Jan. 2021
	42	Primavera do Leste - MT	-15.505.000	-54.296.000	Jan. 2021
	43	Sorriso - MT	-12.355.670	-55.446.880	Jan. 2021
	44	Cristalina - GO	-16.934.871	-47.678.666	Fev. 2021
	45	São Desidério - BA	-12.343.002	-44.996.204	Fev. 2021
	46	Rolândia - PR	-23.161.728	-51.284.844	Fev. 2021

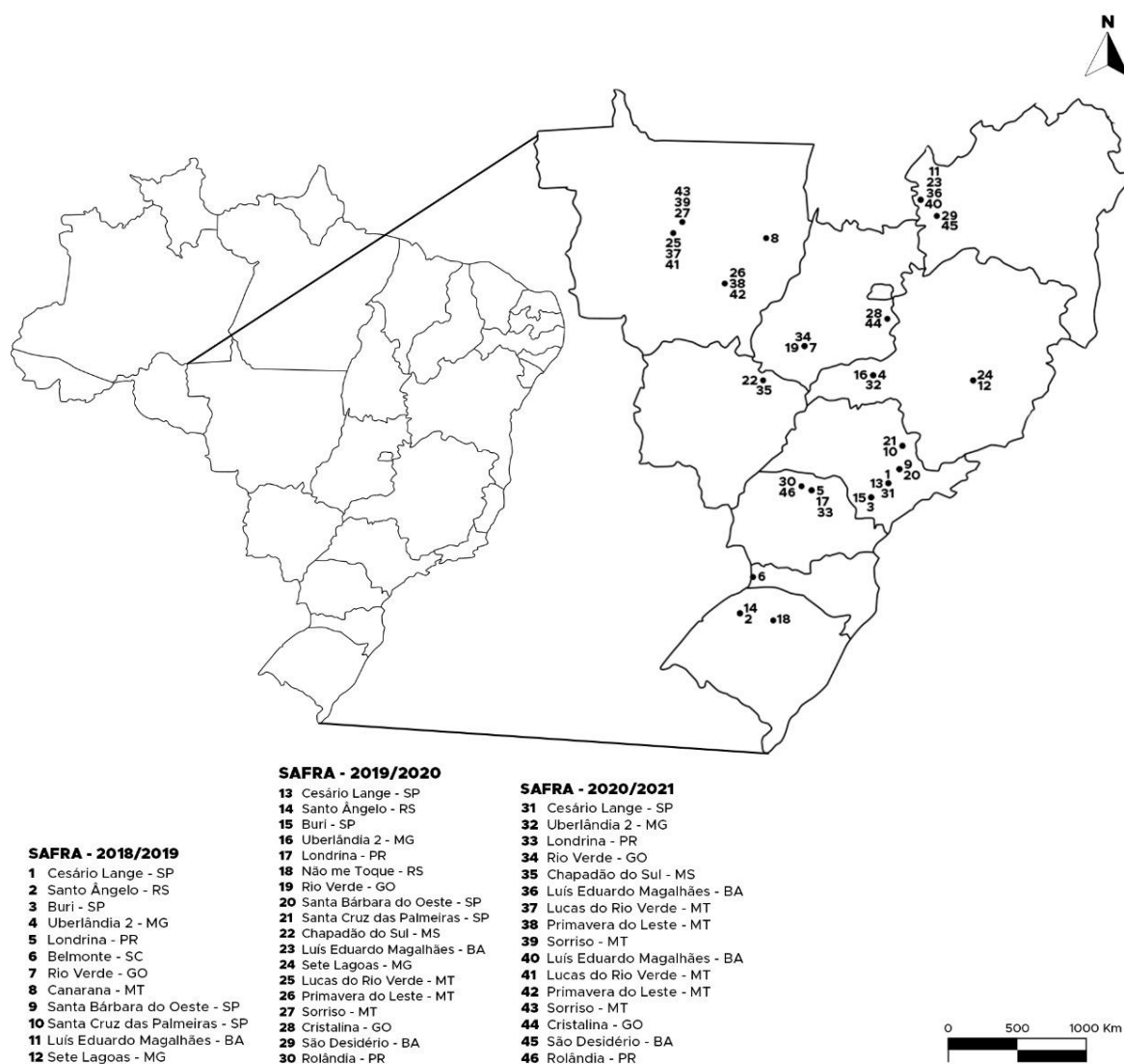


Figura 1 – Locais de coletas das populações de *Euschistus heros* usadas nos bioensaio de seleção, caracterização e monitoramento da suscetibilidade a inseticidas.

3.4 Métodos de bioensaios

Foram avaliados os métodos de bioensaios tradicionais de contato tarsal e de aplicação tópica comparados com o novo método proposto de ingestão, para os inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin, visando encontrar o melhor método para detecção e monitoramento de resistência de *E. heros* para cada inseticida avaliado.

3.4.1 Ingestão

O novo método proposto de ingestão foi desenvolvido para incorporar o inseticida a ser testado em dieta artificial líquida, sendo fornecido ao *E. heros* em cápsulas. A dieta artificial desenvolvida foi modificada a partir de Cerna-Mendoza et al. (2016) (Tabela 2), de modo a obter uma dieta líquida para possibilitar a mistura de inseticidas de forma uniforme. Para o preparo da dieta, inicialmente as vagens de feijão foram lavadas em água corrente, cortadas e congeladas por um período de tempo de 60 horas para serem liofilizadas (Liofilizador Savant, modelo Novalyphe – NL150). Posteriormente, a vagem de feijão foi triturada e armazenada em potes herméticos. No momento de preparo da dieta todos os ingredientes foram pesados, sendo triturado o amendoim para posterior mistura com os demais ingredientes no liquidificador. A dieta líquida utilizada nos bioensaios foi mantida em geladeira por no máximo três dias.

O método de bioensaio de ingestão proposto foi desenvolvido mediante encapsulamento de dieta artificial líquida, permitindo a incorporação do inseticida uniformemente, desta forma, quando o inseto insere o aparelho bucal para se alimentar ingere o produto. O encapsulamento foi adaptado de Greany & Carpenter (1998), usando um molde de acrílico (13 cm comprimento \times 8 cm de largura) com uma prensa acoplada à bomba de vácuo (Tecnal, modelo TE-0582). O molde de acrílico contendo 24 poços é revestido com filme de vedação (Parafilm M[®], Bemis American, Neenah, WI, EUA) para formação e moldagem dos poços com auxílio da bomba de vácuo para deposição da dieta artificial líquida, no volume de 1,0 mL cada poço. Em seguida, uma camada de filme de vedação foi colocada sobre os orifícios contendo dieta e prensado para selagem e fechamento das cápsulas. As dimensões de cada cápsula foram de \approx 1,2 cm de diâmetro e 0,5 cm de profundidade.

Foram testadas 5 a 9 concentrações preparadas a partir dos produtos comerciais de cada inseticida diluídos em água e adicionados na dieta artificial líquida. Os percevejos adultos de *E. heros* foram individualizados em placas de célula (Kasvi, modelo K12-024) com 24 poços, contendo uma cápsula de dieta artificial líquida em cada poço. Em seguida, cada placa foi lacrada com Parafilm M[®] para evitar que o inseto se movesse para outra célula. A alimentação ocorre com a introdução do estilete do percevejo na cápsula, perfurando o Parafilm

M[®] e sugando a dieta artificial líquida, contendo os tratamentos com diferentes concentrações de inseticidas (Figura 3).

Para cada concentração de inseticida, foram avaliadas 4 repetições com 24 percevejos adultos por concentração (Figura 3). As avaliações de mortalidade dos insetos foram realizadas 96 horas após a exposição do inseto. Os percevejos que não responderam com movimentos vigorosos quando tocados por um pincel foram considerados mortos.

Tabela 2 – Composição da dieta artificial de *Euschistus heros* (modificada de Cerna-Mendoza et al., 2016) para o bioensaio de ingestão.

Ingredientes	Dieta Artificial	Dieta Artificial modificada
Vagem de feijão liofilizada	35.00 g	100.00 g
Amendoim	35.00 g	35.00 g
Sacarose	5.00 g	10.00 g
Bactericida	0.01 g	0.01 g
Ácido Sórbico	0.10 g	0.15 g
Ácido Ascórbico	-	0.30 g
Nipagin (Metilparabeno)	1.00 g	1.00 g
Ácido Graxo	-	1.00 ml
Complexo vitamínico ^a	-	5.00 ml
Água destilada	30.00 ml	1000.00 ml

^a Composição da solução vitamínica: Niacinamida 1g, Pantotenato de Cálcio 1g, Tiamina 0.25g, Riboflavina 0.5g, Piridoxina 0.25g, Ácido Fólico 0.25g, Biotina 0.02ml, Vitamina B12 1g, adicionado a 1000ml de água destilada.

3.4.2 Aplicação tópica

Para o bioensaio de aplicação tópica foram utilizados 5 a 9 concentrações dos produtos técnicos thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin diluídos em acetona (pureza de 99,5%; Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, Brasil) e para o tratamento controle foi utilizado apenas acetona, aplicados na região do pronoto dos percevejos adultos, com o auxílio de uma pipeta monocal, no volume de 2µL/inseto, avaliando-se a mortalidade após 48 horas da aplicação, conforme indicado pelo Método 029 do IRAC (SOSA-GÓMEZ et al., 2009; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010). Os percevejos que não responderam com movimentos vigorosos quando tocados por um pincel foram considerados mortos. Para cada concentração dos inseticidas foram testadas 4 repetições com 25 percevejos adultos por concentração de cada inseticida. Os percevejos foram separados e distribuídos em recipientes plásticos de 100 mL, previamente identificados de acordo com o tratamento. Após a aplicação os percevejos foram mantidos nos mesmos recipientes plásticos com alimento (vagem de feijão) e papel filtro umedecido.

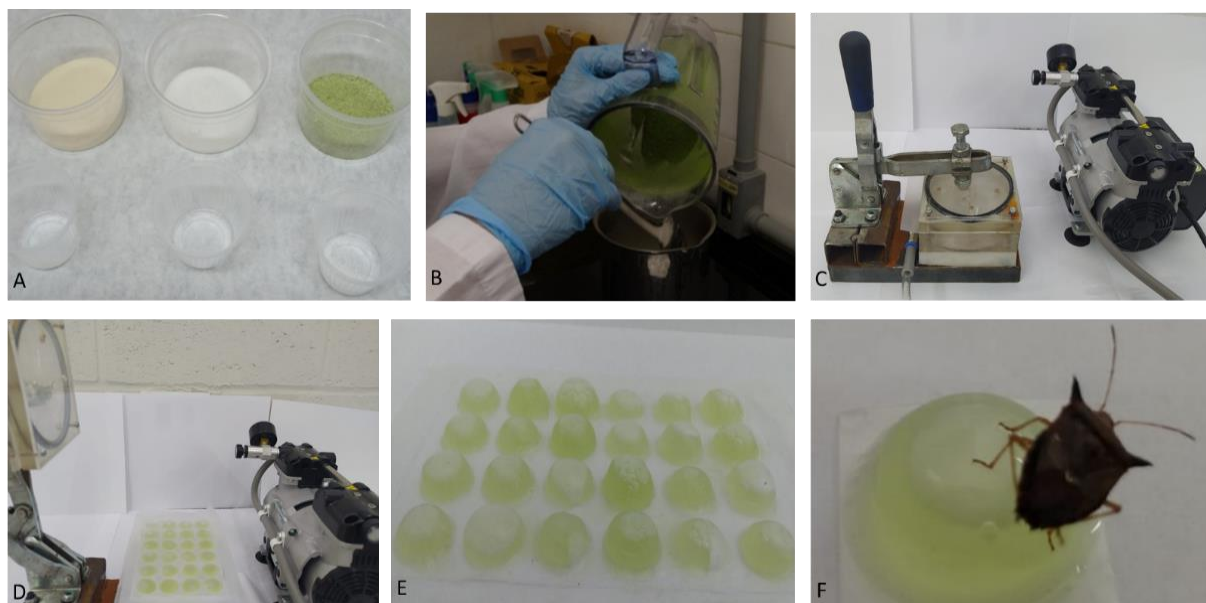


Figura 2 – A) Ingredientes da dieta artificial; B) Mistura no liquidificador; C) Preparo das cápsulas com a o molde e a prensa acoplada à bomba de vácuo; D) Cápsulas contendo dieta artificial já seladas; E) Cápsulas prontas contendo deita artificial; F) *Euschistus heros* se alimentando na cápsula de dieta artificial.

3.4.3 Contato tarsal

O método de bioensaio de contato tarsal foi realizado por meio do *vial test*. Foram utilizados 5 a 9 concentrações dos produtos técnicos thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin diluídos em acetona (pureza de 99,5%; Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, Brasil) e para o tratamento controle foi utilizado acetona, sendo adicionado em frascos de vidro (20 mL) a quantidade de 500 μ L de cada concentração, sendo distribuído uniformemente em toda a área interna, girando-os à temperatura ambiente, com auxílio de um agitador de rolos (Kasvi, modelo K45-8010) até a acetona ser completamente evaporada, conforme indicado pelo Método 030 do IRAC (SNODGRASS, 1996; SOSA-GÓMEZ et al., 2001; WILLRICH et al., 2003; SNODGRASS et al., 2005; NIELSEN et al., 2008; SANTOS et al., 2016; TUELHER et al., 2017). Após, foram adicionados dois percevejos cada recipiente, e fechado com um tecido de voil preso com um elástico, avaliando-se a mortalidade após 48 horas de contínua exposição. Os percevejos que não responderam com movimentos vigorosos quando tocados por um pincel foram considerados mortos. Para cada concentração dos inseticidas foram testadas 4 repetições com 25 percevejos adultos por concentração de cada inseticida.



Figura 3 – Percevejos adultos de *Euschistus heros* alimentando-se nas cápsulas de dieta artificial contendo as concentrações de inseticidas, em placa de 24 poços selada com Parafilm M[®].

3.4.4 Análise estatística

Para os três métodos de bioensaio os dados de concentração-resposta foram submetidos à análise de Probit, utilizando o programa estatístico Polo-PC (LEORA SOFTWARE, 1987), para estimativa das concentrações letais (CL), seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%) e coeficiente angular. Os dados de mortalidade foram analisados mediante o modelo de complemento log-log (SAS INSTITUTE, 2004).

3.5 Monitoramento da suscetibilidade de populações de *Euschistus heros* a inseticidas

3.5.1 Estimativas da CL₅₀/DL₅₀ e CL₉₉/DL₉₉

A partir do método de bioensaio definido para cada inseticida foi realizado a caracterização da linha-básica de suscetibilidade da população suscetível de referência de *E. heros* aos inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin, visando encontrar a concentração diagnóstica (CL₉₉) para ser utilizada no monitoramento das populações de *E. heros* coletadas em diferentes regiões do Brasil, de acordo com os critérios apresentados por Roush & Miller (1986) e French-Constant & Roush (1990).

A caracterização da resistência de *E. heros* a inseticidas foram realizadas em populações coletadas na cultura da soja em diferentes regiões do Brasil, nas safras de 2018/2019 e 2019/2020 para definição das estimativas CL_{50}/DL_{50} (Tabela 1). Os insetos provenientes do campo foram mantidos em dieta natural por uma geração antes de serem utilizados nos bioensaios.

Para ambos os estudos foram testadas 5 a 9 concentrações de cada inseticida, tendo 4 repetições com 24 percevejos adultos por concentração. Os inseticidas thiamethoxam e imidacloprid foram preparados a partir dos produtos comerciais diluídos em água utilizando o método de bioensaio via ingestão, conforme descrito no item 3.4.1. O inseticida lambda-cyhalothrin foi utilizado o produto técnico diluído em acetona utilizando o método de aplicação tópica, conforme descrito no item 3.4.2. Nas avaliações dos bioensaios foram considerados mortos os adultos de percevejos que não responderam com movimentos vigorosos ao serem tocados por um pincel.

Para a estimativa da concentração diagnóstica baseada na CL_{99} , os dados de mortalidade foram analisados mediante o modelo de complemento log-log (SAS INSTITUTE, 2004). Os dados de concentração-resposta foram submetidos à análise de Probit, utilizando o programa estatístico Polo-PC (LEORA SOFTWARE, 1987), para estimativa das concentrações letais (CL), seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%) e coeficiente angular. A razão de resistência (RR) foi estimada mediante a divisão da CL_{50} da população de campo pela CL_{50} da população suscetível de referência, conforme descrito por Robertson et al. (2007).

3.5.2 Monitoramento de *Euschistus heros*

O monitoramento da suscetibilidade de *E. heros* a inseticidas foi realizado em populações coletadas na cultura da soja nas safras de 2018/2019; 2019/2020 e 2020/2021 (Tabela 1; Figura 1).

Para os bioensaios de monitoramento foi utilizado o método de bioensaio de ingestão para os inseticidas thiamethoxam e imidacloprid, e o método de aplicação tópica para lambda-cyhalothrin, conforme descrito nos itens 3.4.1 e 3.4.2. As concentrações diagnósticas usadas no monitoramento foram baseadas na CL_{99}/DL_{99} previamente definidas pela linha-básica de suscetibilidade de *E. heros*.

O tratamento controle com a população suscetível de referência foi composto por 6 repetições de 25 percevejos. Nas avaliações dos bioensaios foram considerados mortos os adultos de percevejos que não responderam com movimentos vigorosos ao serem tocados por um pincel. Os dados de porcentagem de sobrevivência do monitoramento das populações de *E.*

heros foram transformadas para arc sen ($\sqrt{X/100}$) e submetidos à análise de variância, ao nível de significância de $\alpha=0.05$ (SAS INSTITUTE, 2004).

3.6 Caracterização da resistência de *Euschistus heros* a inseticidas

3.6.1 Seleção de linhagens de *Euschistus heros* resistentes a inseticidas

Para obtenção de uma linhagem de *E. heros* resistente aos inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin, populações coletadas em Londrina – PR e Luís Eduardo Magalhães – BA na safra agrícola 2018/2019 foram submetidas entre sete e oito ciclos de seleção com inseticida em condições de laboratório, pela técnica de seleção massal. No início do processo de seleção foi utilizado uma concentração intermediária entre a CL₅₀ e CL₉₉ da população suscetível de referência (SUS). Os indivíduos sobreviventes em cada ciclo de seleção foram resgatados e criados em dieta natural. A concentração do inseticida utilizada na seleção foi aumentada no quarto ciclo de seleção para CL₉₉ da população suscetível de referência, sendo 0,20 µg de i.a./inseto para lambda-cyhalothrin, pelo método de aplicação tópica, 5,65 e 12,45 µg de i.a./ml de dieta para thiamethoxam e imidacloprid, respectivamente, pelo método de ingestão, conforme descrito nos itens 3.4.1 e 3.4.2.

As respostas de concentração-mortalidade de *E. heros* submetidos entre cinco a oito ciclos de seleção com os inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin em condições de laboratório foram realizadas por meio 5-9 concentrações de cada inseticida, de acordo com o mesmo delineamento experimental descrito anteriormente. Nas avaliações dos bioensaios foram considerados mortos os adultos de percevejos que não responderam com movimentos vigorosos ao serem tocados por um pincel.

Os dados de concentração-resposta foram submetidos à análise de Probit, utilizando o programa estatístico Polo-PC (LEORA SOFTWARE, 1987), para estimativa das concentrações letais (CL), seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%) e coeficiente angular. A razão de resistência (RR) foi estimada mediante a divisão da CL₅₀ da população de campo pela CL₅₀ da população suscetível de referência, conforme descrito por Robertson et al. (2007).

3.6.2 Avaliação da resistência comportamental de *Euschistus heros* a inseticidas

A avaliação da resistência comportamental de *E. heros* foi realizada com as linhagens suscetível (SUS) e resistentes a thiamethoxam (THIAM-R, proveniente de Luis Eduardo Magalhães - BA); imidacloprid (IMIDA-R, proveniente de Luis Eduardo Magalhães - BA), e a lambda-cyhalothrin (LAMBDA-R, proveniente de Londrina - PR). O bioensaio de comportamento foi realizado em arena parcialmente (metade) tratadas com o inseticida e a outra

metade com o solvente (controle). O controle foi tratado com 2 mL do solvente (acetona), comparado com água (Branco). As arenas foram confeccionadas em placas de Petri (15 cm de diâmetro), cujo fundo foi recoberto com discos de papel-filtro e as paredes revestidas com Plástico PVC Transparente (0,40mm) para evitar o escape dos insetos. O disco de papel-filtro foi considerado tratado quando embebido com 2 mL da solução inseticida. A concentração do inseticida após a evaporação do solvente foi correspondente a CL₉₉ de cada inseticida, sendo de 5,65, 12,45 e 100,98 µg de i.a./ml para thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin respectivamente. Esta concentração não foi letal aos insetos para o período de exposição testado (10 min), como determinado em avaliações preliminares. Ambos os discos foram tratados em capela de exaustão e deixados para secar por um período de 15 a 20 min. A característica comportamental avaliada foi a permanência do inseto e deslocamento entre as áreas tratadas e não tratadas. O bioensaio foi realizado em uma sala com iluminação artificial, temperatura de 25±3°C e umidade relativa de 60%. Foram utilizados insetos adultos, com idade entre 1 a 5 dias após a emergência, esses insetos permaneceram nas arenas não tratadas por 24 horas antes da condução do bioensaio para aclimatação com o ambiente. Para a captura dos vídeos foi utilizada uma câmera acoplada a um computador para avaliação dos parâmetros comportamentais. O experimento foi inteiramente casualizado com 4 linhagens (SUS, THIAM-R, IMIDA-R e LAMBDA-R), 3 inseticidas (thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin) com 8 repetições cada (1 inseto/repetição). A cada repetição a arena foi trocada e o lado em que o inseto foi adicionado a cada repetição foi definido aleatoriamente. A característica comportamental avaliada foi a proporção do tempo total de permanência (minutos) do indivíduo na metade correspondente a cada tratamento na arena. A análise comportamental foi feita pelo software Tracktor (SRIDHAR, et al., 2018). Os dados referentes à arena parcialmente tratada (metade tratada e metade controle) foram submetidos a uma análise de variância univariada com comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) (SAS INSTITUTE, 2004).

3.7 Mistura de lambda-cyhalothrin com thiamethoxam no manejo da resistência

3.7.1 Efeito da mistura no manejo de *Euschistus heros*

O estudo foi realizado em condições de estufa na unidade experimental da empresa Pragas.com[®], Piracicaba-SP. O efeito de mistura e dos produtos isolados dos inseticidas lambda-cyhalothrin e thiamethoxam foram realizados a partir do CL₂₅, CL₅₀, dose comercial, produto comercial (Engeo Pleno) e o Controle (água) da linhagem suscetível e na resistente a thiamethoxam (THIAM-R). Os tratamentos e as respectivas concentrações/doses estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Tratamentos utilizados e suas respectivas concentrações para avaliação da mistura de inseticidas no manejo da resistência de *Euschistus heros*.

Linhasgens	Tratamentos	Inseticidas	Concentração (µg i.a/ml)	
Suscetível	CL ₂₅	lambda-cyhalothrin	4.01	
		Thiamethoxam	1.42	
		lambda-cyhalothrin + Thiamethoxam	4.01 + 1.42	
	CL ₅₀	lambda-cyhalothrin	7.8	
		Thiamethoxam	1.93	
		lambda-cyhalothrin + Thiamethoxam	7.80 + 1.93	
	Dose comercial	lambda-cyhalothrin	21.2	
		Thiamethoxam	28.2	
		lambda-cyhalothrin + Thiamethoxam	21.2 + 28.2	
	-	-	Engeo Pleno	21.2 + 28.2
	-	-	Controle	-
	THIAM-R	CL ₂₅	lambda-cyhalothrin	19.7
Thiamethoxam			34.15	
lambda-cyhalothrin + Thiamethoxam			19.70 + 34.15	
CL ₅₀		lambda-cyhalothrin	39.52	
		Thiamethoxam	70.33	
		lambda-cyhalothrin + Thiamethoxam	39.52 + 70.33	
Dose comercial		lambda-cyhalothrin	21.2	
		Thiamethoxam	28.2	
		lambda-cyhalothrin + Thiamethoxam	21.2 + 28.2	
-		-	Engeo Pleno	21.2 + 28.2
-		-	Controle	-

As plantas de soja convencional (variedade MSOY5942) foram cultivadas em vasos com 5 litros de volume, sendo conduzido duas plantas por vaso e usadas para o experimento em estágio reprodutivo da soja (R1). As pulverizações dos tratamentos foram realizadas com um pulverizador costal pressurizado com gás carbônico, calibrado para uma pulverização média de 100L/ha. O tratamento controle foi pulverizado apenas com água. Foram avaliados 22 tratamentos, usando as concentrações CL₂₅, CL₅₀, dose comercial, produto comercial (Engeo Pleno) e o controle (água) (Tabela 3). Cada tratamento teve 6 repetições, com 25 percevejos adultos por repetição. A mortalidade foi avaliada até 10 dias após da aplicação. O delineamento estatístico foi em blocos com parcelas casualizadas. A análise estatística dos dados percentuais de mortalidade da mistura, foram transformados para arc sen ($\sqrt{X/100}$) e submetidos à análise de variância, ao nível de significância de $\alpha=0.05$ (SAS INSTITUTE, 2004).

3.7.2 Efeito residual de inseticidas no controle de *Euschistus heros*

Para o efeito residual foram avaliados dois inseticidas e a mistura de thiamethoxam e lambda-cyhalothrin em três linhagens de *E. heros*, sendo uma a linhagem suscetível (SUS), uma resistente ao thiamethoxam (THIAM-R) e uma resistente a lambda-cyhalothrin (LAMBDA-R), que se originaram a partir de populações de Luís Eduardo Magalhães – BA e Londrina – PR, respectivamente, coletadas na safra agrícola 2018/2019 submetidas entre sete e oito ciclos de seleção com inseticida em condições de laboratório, pela técnica de seleção massal.

O ensaio foi instalado em casa de vegetação na unidade experimental da empresa Pragas.com[®], Piracicaba-SP. Para o plantio da soja convencional (variedade MSOY5942), utilizou-se vasos plásticos de 5 litros de volume, com solo, sendo plantado 4 sementes cada vaso a uma profundidade de aproximadamente 2 cm. Após a emergência e estabelecimento do estágio de desenvolvimento V2, duas plantas foram retiradas, sendo conduzido apenas duas plantas para o ensaio. O experimento foi conduzido no estágio de desenvolvimento vegetativo da soja (V6). As pulverizações dos tratamentos foram realizadas com um pulverizador costal pressurizado com gás carbônico, calibrado para uma pulverização média de 100L/ha.

Foram avaliados tratamentos usando os inseticidas comerciais lambda-cyhalothrin na dose 21.2 g de i.a./ha, thiamethoxam na dose 28.2 g i.a./ha e a mistura de thiamethoxam 28.2 g i.a./ha + lambda-cyhalothrin 21.2 g i.a./ha em três populações de *E. heros*, além do controle de cada população onde foi aplicado água. O delineamento estatístico foi em blocos com parcelas casualizadas, em que cada tratamento constou de 16 vasos, divididas em 4 blocos com 4 plantas. Foi colocado 10 percevejos adultos por vaso. As infestações com os percevejos foram realizadas 1, 3, 6 e 12 dias após a pulverização (DAP). As avaliações de mortalidade foram 1, 3, 6, 9 e 12 dias após a infestação (DAI).

A análise estatística dos dados percentuais de mortalidade, foram transformados para arc sen ($\sqrt{X/100}$) e submetidos à análise de variância, ao nível de significância de $\alpha=0.05$ (SAS INSTITUTE, 2004).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Métodos de bioensaios

Para os inseticidas neonicotinoides thiamethoxam e imidacloprid, com ação sistêmica, o melhor método foi de ingestão via dieta artificial líquida encapsulada. Já o inseticida piretroide lambda-cyhalothrin que apresenta ação de contato, teve um melhor resultado quando testado por aplicação tópica (Tabela 4).

O bioensaio de ingestão com o inseticida thiamethoxam incorporado em dieta artificial líquida apresentou maior coeficiente angular (4.99 ± 0.54) em relação aos métodos de aplicação tópica (3.98 ± 0.33) e contato tarsal (2.11 ± 0.13). Um alto valor de coeficiente angular proporciona uma curva de concentração-mortalidade mais inclinada, o que facilita a discriminação entre indivíduos suscetível e resistente em programas de monitoramento de resistência. Outros fatores que contribuem para a escolha do método de ingestão para detecção e monitoramento de resistência de *E. heros* para inseticidas sistêmicos, no caso do thiamethoxam foram o menor intervalo de confiança nas estimativas de CL_{50} e CL_{90} , além do χ^2 adequado, ajustando-se ao modelo de Probit (Tabelas 4).

A mesma tendência dos resultados obtidos para o inseticida thiamethoxam foi observado para o imidacloprid, ou seja, verificou-se um maior coeficiente angular quando avaliado pelo método de ingestão (3.53 ± 0.26) em relação aos métodos de aplicação tópica e contato tarsal. Além disso, o inseticida imidacloprid avaliado pelo método de ingestão teve o menor intervalo de confiança nas estimativas de CL_{50} e CL_{90} , um χ^2 adequado, ajustando-se mais precisamente ao modelo de Probit (Tabela 4).

Para o inseticida lambda-cyhalothrin, o bioensaio de aplicação tópica se mostrou mais adequado para avaliar suscetibilidade de *E. heros*. Pelos resultados de Probit apresentados na Tabela 4, verifica-se que o coeficiente angular da curva de concentração-mortalidade é maior quando os insetos são submetidos ao método de aplicação tópica (3.62 ± 0.26) em relação aos métodos de ingestão e contato tarsal. O método de aplicação tópica proporcionou um χ^2 adequado, ajustando-se mais precisamente ao modelo de Probit (Tabela 4).

Um dos principais objetivos em programas de monitoramento da resistência é definir um método de bioensaio que permita maior discriminação entre as linhagens suscetíveis e resistentes da praga (DENNEHY et al., 1983; FFRENCH-CONSTANT; ROUSH, 1990), um alto coeficiente angular permite maximizar as diferenças entre indivíduos suscetíveis e resistentes, e, portanto, o maior valor do coeficiente angular é um dos parâmetros para a escolha do melhor método de bioensaio para avaliação (DENNEHY et al., 1993). Além disso, um alto coeficiente angular permite identificar a progressão da resistência e a variação genotípica na

tolerância a um inseticida (HOSKINS; GORDON, 1956). Portanto, o elevado valor do coeficiente angular do método de ingestão para thiamethoxam e imidacloprid e de aplicação tópica para lambda-cyhalothrin, proporcionaram maior inclinação da linha de concentração/dose-resposta de *E. heros* favorecendo a escolha do melhor método de bioensaio para avaliação de cada inseticida, além de indicar uma maior atividade inseticida e maior homogeneidade genotípica das populações testadas (Figura 4).

Tabela 4 – Respostas de concentração-mortalidade de *Euschistus heros* aos inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin pelos métodos de ingestão ($\mu\text{g i.a./ml}$), aplicação tópica ($\mu\text{g i.a./inseto}$) e contato tarsal ($\mu\text{g i.a./cm}^2$).

Inseticida	Método	n ^a	Coefficiente angular ($\pm\text{EP}$) ^b	CL ₅₀ /DL ₅₀ (IC \pm 95%) ^c	CL ₉₀ /DL ₉₀ (IC \pm 95%) ^c	χ^2 (d.f. ^d)	P
thiamethoxam	Ingestão	672	4.99 (± 0.54)	1.93 (1.76 - 2.16)	3.49 (2.98 - 4.39)	3.19(4)	0.5271
	Aplicação tópica	700	3.98 (± 0.33)	0.027 (0.02 - 0.03)	0.058 (0.052 - 0.068)	2.62(4)	0.0203
	Contato tarsal	800	2.11 (± 0.13)	0.196 (0.164 - 0.235)	0.795 (0.614 - 1.114)	5.05(5)	0.0004
imidacloprid	Ingestão	672	3.53 (± 0.26)	2.73 (2.28 - 3.26)	6.30 (5.04 - 8.59)	4.89(4)	0.2982
	Aplicação tópica	700	3.36 (± 0.27)	0.028 (0.023 - 0.036)	0.068 (0.050 - 0.115)	8.04(4)	0.0032
	Contato tarsal	800	2.29 (± 0.15)	0.315 (0.264 - 0.377)	1.138 (0.882 - 1.591)	5.26(5)	0.0001
lambda-cyhalothrin	Ingestão	768	2.56 (± 0.17)	17.85 (14.87 - 21.49)	56.53 (43.92 - 79.33)	6.19(5)	0.0005
	Aplicação tópica	800	3.62 (± 0.26)	0.046 (0.042 - 0.050)	0.104 (0.091 - 0.122)	2.42(5)	0.7878
	Contato tarsal	800	2.50 (± 0.17)	0.169 (0.143 - 0.199)	0.549 (0.436 - 0.745)	5.25(5)	0.0043

^a Número total de insetos testados. ^bValores representam as médias \pm EP. ^cCL₅₀/DL₅₀ e CL₉₀/DL₉₀: concentração/dose letal dos inseticidas que mata 50% e 90% dos insetos, respectivamente. ^dGraus de liberdade.

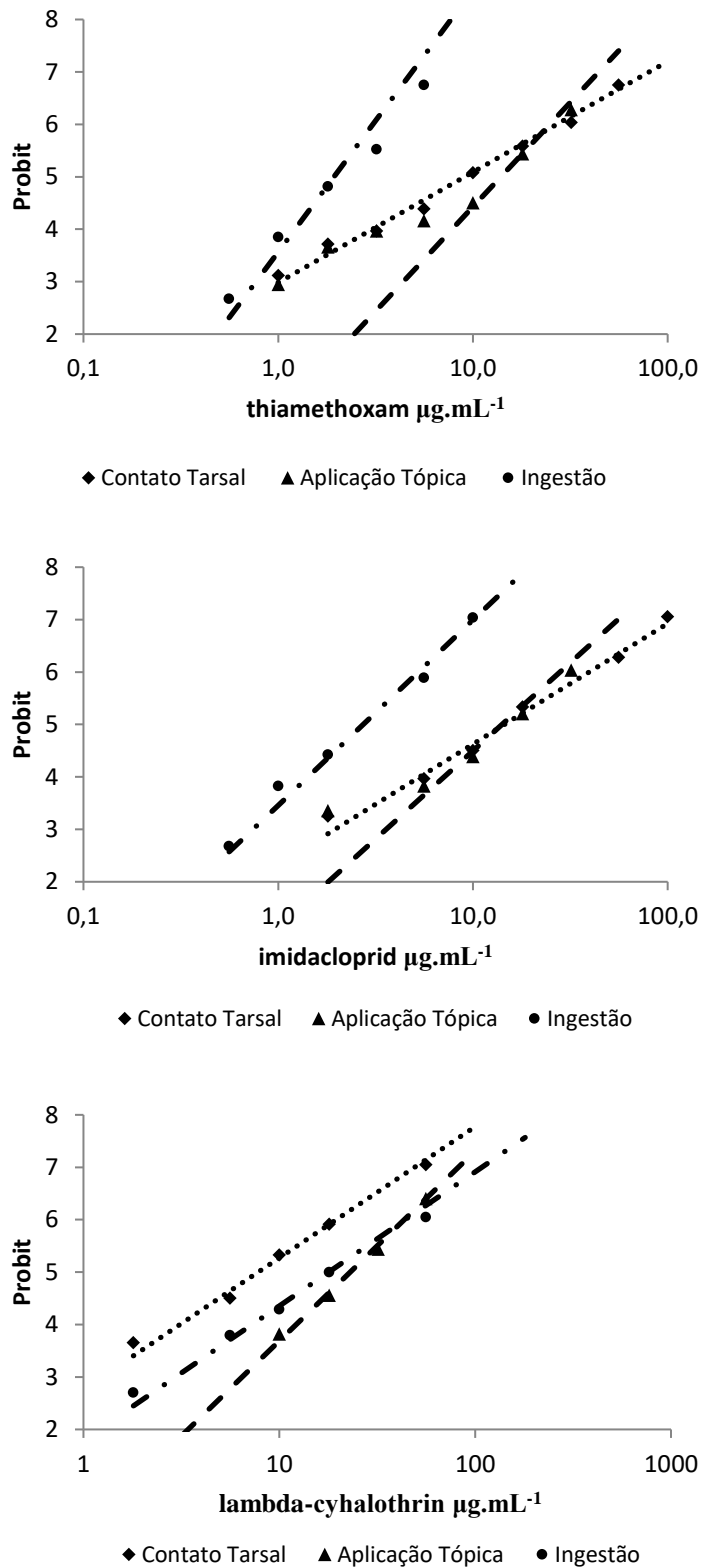


Figura 4 – Linhas de concentração/dose-resposta de *Euschistus heros* (população suscetível de referência) exposto a thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin em diferentes métodos de bioensaios - ingestão, aplicação tópica e contato tarsal.

Observando-se os limites do intervalo de confiança (95%) das CL_{50} , pode-se considerar que os bioensaios selecionados, ingestão para inseticidas com ação sistêmica (thiamethoxam e imidacloprid) e aplicação tópica para inseticidas com ação de contato (lambda-cyhalothrin) são de alta precisão, uma vez que, o intervalo de confiança (95%) das populações estudadas não ultrapassou duas vezes o valor da CL_{50} determinada (NAVON; ASCHER, 2000).

O método de ingestão proposto é um método realístico para inseticidas de ação sistêmica, principalmente para o grupo dos neonicotinoides, fácil, prático e pode ser reproduzido facilmente. As maiores contribuições deste método é a simulação da ação sistêmica dos inseticidas e permitir a alimentação por sucção dos percevejos. O desenvolvimento de estratégias de manejo da resistência requer a existência de um método de bioensaio simples e confiável que pode fornecer dados de dose-resposta adequados para análise estatística e um método que permitirá a detecção de níveis baixos ou frequências de resistência (THIND; MUGGLETON, 1998). Além disso, a cápsula contendo a dieta artificial líquida para o método de ingestão possui características termoplástica a base de ceras de parafina, flexível, inodoro, moldável, maleável, translúcido, incolor, de fácil corte, não tóxico aos insetos e de fácil perfuração pelo aparelho bucal dos percevejos.

Os métodos atualmente utilizados para detectar e monitorar resistência de percevejos são bioensaios de mergulho das vagens de feijão em solução com o inseticida, aplicação tópica e de contato tarsal pelo *vial test*, que se baseiam no contato direto do inseto com o produto, através da aplicação sobre o tegumento do inseto, no caso de aplicação tópica, ou pelo contato tarsal do percevejo em um recipiente impregnado com inseticida (SNODGRASS, 1996; SOSA-GÓMEZ et al., 2001; WILLRICH et al., 2003; SNODGRASS et al., 2005; NIELSEN et al., 2008; SOSA-GÓMEZ et al., 2009; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010; TAKEUCHI; ENDO, 2012; IRAC, 2020). No entanto, os métodos de aplicação tópica e de contato tarsal não são representativos para o principal grupo de inseticidas utilizados para o controle de insetos sugadores, os neonicotinoides, além de serem dependentes no caso do bioensaio de mergulho, da aquisição de vagens de feijão, podendo ter variação quanto a variedade, estágio de maturação, qualidade e disponibilidade deste produto para os bioensaios. Portanto, ter métodos realísticos e que podem ser repetidos independentemente do local, época do ano e operador são essenciais em programas de IPM e IRM.

Os métodos de bioensaios atuais não tem detectado resistência de *E. heros* a inseticidas, porém fracassos de controle têm sido relatados. No Brasil, foram detectadas falhas de controle de *E. heros* aos inseticidas beta-cyfluthrin, bifenthrin, lambda-cyhalotrin (piretroide) e imidacloprid (neonicotinode) (GUEDES, 2017; TUELHER et al., 2018; SOMAVILLA, et al.,

2019; 2020), além de inúmeros relatos de agricultores tendo problemas no controle dessa espécie em lavouras de soja. Até o presente momento, foram registrados casos de resistência do percevejo marrom, *E. heros* aos inseticidas endossulfan (ciclodieno) e monocrotofos, detectado pelo método de contato tarsal e ao inseticida metamidofos (organofosforados), detectado pelo método de aplicação tópica (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010).

4.2 Linha-básica de suscetibilidade de *Euschistus heros* a inseticidas

Usando os dados de mortalidade da população suscetível de referência de *E. heros*, estimamos os valores de CL/DL₉₉, que são sugeridos como doses diagnósticas para programas de monitoramento de resistência. Os resultados obtidos forneceram subsídios para a escolha de concentrações diagnósticas de acordo com os critérios apresentados por Roush & Miller (1986) e French-Constant & Roush (1990), onde a concentração diagnóstica deve matar 99% da população suscetível. De acordo com essas análises, a estimativa os valores de CL/DL₉₉ para cada inseticida e método correspondente foram: thiamethoxam 5.65 (IC 4.47-8.03) µg de i.a./ml de dieta artificial, pelo método de ingestão, imidacloprid 12.45 (IC 10.03-16.47) µg de i.a./ml de dieta artificial, pelo método de bioensaio de ingestão e para lambda-cyhalothrin 0.20 (IC 0.16-0.26) µg de i.a./inseto, pelo método de aplicação tópica (Tabela 5).

Tabela 5 – Estimativas da CL₉₉/DL₉₉ da população suscetível de referência de *Euschistus heros* aos inseticidas thiamethoxam (µg i.a./ml), imidacloprid (µg i.a./ml) e lambda-cyhalothrin (µg i.a./inseto).

Inseticida	Método	n ^a	Coefficiente angular (±EP) ^b	CL ₉₉ /DL ₉₉ (IC ± 95%) ^c	χ ² ^d	g.l. ^e
thiamethoxam	Ingestão	672	4.99 (±0.54)	5.65 (4.47 - 8.03)	3.18	4
imidacloprid	Ingestão	672	3.53 (±0.26)	12.45 (10.03 - 16.47)	4.89	4
lambda-cyhalothrin	Aplicação tópica	800	3.62 (±0.26)	0.20 (0.16 - 0.26)	2.42	5

^a Número total de insetos testados. ^bValores representam as médias ± EP. ^cCL₉₉/DL₉₉: concentração/dose letal dos inseticidas que mata 99% dos insetos. ^dQui quadrado. ^eGraus de liberdade.

4.3 Monitoramento da suscetibilidade de *Euschistus heros* a inseticidas

4.3.1 Estimativas da CL₅₀/DL₅₀

As populações de *E. heros* provenientes de coletas em diferentes regiões do Brasil apresentaram alta variação na CL₅₀/DL₅₀ e na razão de resistência a thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin (Tabelas 6 e 7).

As populações de *E. heros* provenientes do campo foram altamente variáveis em relação à suscetibilidade lambda-cyhalothrin, sendo que para esse inseticida o método utilizado foi aplicação tópica, apresentando valores da DL₅₀ entre 0.026 (população suscetível) a 1.054 (população de Luís Eduardo Magalhães) µg i.a./inseto, representando uma razão de resistência de ≈ 40 vezes. Outras populações apresentaram razão de resistência alta para lambda-cyhalothrin, sendo 21.19 vezes (Não me Toque-RS), 28.11 vezes (Londrina) e 20.04 vezes (Primavera do Leste) (Tabela 6).

Usando o método de bioensaio de ingestão, as respostas de concentração-mortalidade para thiamethoxam apresentaram alta variação entre as populações testadas, sendo que os valores da CL₅₀ ficaram entre 1.79 (população SUS) a 39.52 (população de Luís Eduardo Magalhães) µg i.a./ml de dieta artificial. A razão de resistência variou entre 1.62 a 22.08 vezes para as populações de Uberlândia e Luís Eduardo Magalhães, respectivamente (Tabela 7).

Para o inseticida imidacloprid, também utilizando o método de bioensaio de ingestão, os valores da CL₅₀ variaram de 2.68 (população SUS) a 60.73 (população de Luís Eduardo Magalhães) µg i.a./ml de dieta artificial. A razão de resistência variou entre 1.64 a 21.92 vezes para as populações de Buri e Luís Eduardo Magalhães, respectivamente (Tabela 7).

Tabela 6 – Respostas de dose-mortalidade (DL; µg a.i./insect) de populações de *Euschistus heros* expostos ao inseticida lambda-cyhalothrin pelo método de bioensaio por aplicação tópica.

Populações	Safra	n ^a	Coefficiente angular (±EP) ^b	DL ₅₀ (95% IC) ^c	χ ²	g.l. ^d	RR ₅₀ ^e
lambda-cyhalothrin							
Suscetível de referência		800	3.23 (±0.20)	0.026 (0.023 - 0.029)	3.56	5	-
Buri - SP		700	2.78 (±0.17)	0.135 (0.116 - 0.158)	6.46	5	5.19
Não me Toque - RS		800	3.90 (±0.24)	0.551 (0.488 - 0.620)	8.24	6	21.19
Londrina - PR	2019/2020	560	3.20 (±0.24)	0.731 (0.621 - 0.773)	2.99	5	28.11
Cristalina - GO		490	3.22 (±0.25)	0.291 (0.259 - 0.326)	4.83	5	11.19
Primavera do Leste - MT		560	2.89 (±0.21)	0.521 (0.445 - 0.611)	5.57	5	20.04
Uberlândia - MG		560	2.95 (±0.21)	0.132 (0.118 - 0.147)	3.76	5	5.08
Luís Eduardo Magalhães - BA		432	2.31 (±0.19)	1.054 (0.831 - 1.366)	4.44	4	40.54

^a Número total de insetos testados. ^b Valores representam as médias ± EP. ^c DL₅₀: dose letal dos inseticidas que mata 50% dos insetos. ^d Qui quadrado. ^e Razão de resistência.

Tabela 7 – Respostas de concentração-mortalidade (CL; µg i.a./ml) de populações de *Euschistus heros* expostos aos inseticidas thiamethoxam e imidacloprid pelo método de bioensaio por ingestão.

Populações	Safra	n ^a	Coefficiente angular (±EP) ^b	CL ₅₀ (95% IC) ^c	χ ²	g.l. ^d	RR ₅₀ ^e
Thiamethoxam							
Suscetível de referência		864	2.88 (± 0.17)	1.79 (1.63 - 1.98)	4.37	6	-
Cesário Lange - SP		432	2.49 (± 0.23)	4.53 (3.99 - 5.12)	0.43	4	2.53
Buri - SP		648	2.39 (± 0.16)	5.27 (4.32 - 6.47)	8.99	6	2.94
Santo Ângelo - RS		336	2.75 (± 0.27)	4.36 (3.35 - 5.58)	4.01	4	2.44
Londrina - PR	2018/2019	768	1.68 (± 0.13)	14.27 (11.51 - 18.57)	5.13	5	7.97
Rio Verde - GO		504	2.87 (± 0.23)	3.09 (2.68 - 3.56)	3.20	4	1.73
Canarana - MT		504	2.69 (± 0.22)	2.80 (2.40 - 3.24)	3.51	4	1.56
Santa Bárbara do Oeste - SP		671	2.43 (± 0.17)	3.51 (3.06 - 4.00)	2.75	4	1.96
Luís Eduardo Magalhães - BA		384	2.03 (± 0.25)	19.20 (15.51 - 25.37)	3.46	4	10.73
Buri - SP		432	2.75 (± 0.22)	4.67 (4.04 - 5.38)	1.88	4	2.61
Não me Toque - RS		288	2.55 (± 0.25)	4.15 (3.44 - 4.97)	1.01	4	2.32
Londrina - PR		504	1.96 (± 0.14)	25.15 (18.94 - 33.58)	8.18	5	14.05
Cristalina - GO	2019/2020	420	2.69 (± 0.21)	3.17 (2.72 - 3.67)	1.84	4	1.77
Uberlândia - MG		432	2.45 (± 0.20)	2.90 (2.46 - 3.38)	2.69	4	1.62
Lucas do Rio Verde - MT		576	2.21 (± 0.15)	3.79 (3.28 - 4.35)	1.80	4	2.12
Luís Eduardo Magalhães - BA		504	2.23 (± 0.16)	39.52 (33.84 - 46.15)	3.49	5	22.08
Imidacloprid							
Suscetível de referência		576	3.27 (± 0.22)	2.77 (2.37 - 3.20)	4.92	4	-
Cesário Lange - SP		360	3.40 (± 0.34)	9.67 (5.96 - 13.65)	7.12	4	3.49
Buri - SP		504	3.31 (± 0.27)	4.59 (3.64 - 5.69)	5.54	4	1.66
Santo Ângelo - RS		336	2.59 (± 0.25)	4.80 (3.99 - 5.73)	1.30	4	1.73
Londrina - PR	2018/2019	504	2.41 (± 0.19)	15.36 (12.00 - 19.90)	7.80	5	5.55
Rio Verde - GO		504	2.78 (± 0.23)	5.53 (4.79 - 6.34)	2.67	4	2.00
Canarana - MT		504	2.84 (± 0.23)	5.46 (4.74 - 6.26)	2.88	4	1.97
Santa Bárbara do Oeste - SP		504	3.44 (± 0.34)	9.54 (7.47 - 12.22)	7.30	4	3.44
Uberlândia - MG		648	2.49 (± 0.18)	15.19 (12.66 - 18.58)	8.20	6	5.48
Buri - SP		420	3.10 (± 0.25)	4.55 (3.97 - 5.19)	1.99	4	1.64
Não me Toque - RS		288	2.62 (± 0.25)	4.73 (3.94 - 5.64)	1.35	4	1.71
Londrina - PR		504	2.32 (± 0.17)	28.97 (22.51 - 37.09)	7.51	5	10.46
Cristalina - GO		432	2.69 (± 0.22)	5.43 (4.69 - 6.25)	0.99	4	1.96
Lucas do Rio Verde - MT	2019/2020	420	2.66 (± 0.21)	5.27 (4.56 - 6.08)	0.84	4	1.90
Primavera do Leste - MT		504	3.05 (± 0.25)	20.41 (16.36 - 25.80)	7.94	5	7.37
Uberlândia - MG		600	2.68 (± 0.19)	17.62 (13.67 - 23.13)	8.78	4	6.36
Luís Eduardo Magalhães - BA		432	2.49 (± 0.20)	60.73 (52.27 - 70.39)	2.35	4	21.92

^a Número total de insetos testados. ^bValores representam as médias ± EP. ^cCL₅₀: concentração letal dos inseticidas que mata 50% dos insetos. ^dQui quadrado. ^eGraus de liberdade. ^fRazão de resistência.

É comum ocorrer variação na suscetibilidade a inseticidas entre populações observado em espécies distintas de pragas (ROBERTSON et al., 1995). Da perspectiva do manejo de resistência, mesmo um pequeno nível variação na suscetibilidade é uma indicação do potencial para seleção de resistência (CARRIÈRE et al., 2010). O número limitado de inseticidas que podem ser usados contra percevejos significa que esses insetos são mais expostos aos mesmos ingredientes ativos. Isso pode causar futuras falhas de controle, que podem ser atribuídas à resistência (GUEDES, 2017).

É possível verificar um aumento na razão de resistência de algumas populações ao longo das duas safras avaliadas, isso se deve provavelmente a pressão de seleção pela aplicação de inseticidas com o mesmo ingrediente ativo no controle de várias espécies de insetos-praga durante todo o ciclo das culturas. As diferenças significativas na resposta das populações coletadas no Paraná e na Bahia nas diferentes safras avaliadas indicam uma possível existência de contrastes no regime de uso de inseticidas entre estas regiões, sendo muito mais elevado que outras regiões do Brasil. No entanto, o manejo das culturas e a situação ecológica nestas localidades são conhecidamente distintos. A agricultura da região de Londrina – PR é predominantemente plantados soja e milho, possui um clima ameno no inverno e quente no verão, fazendo com que os percevejos entrem numa espécie de diapausa no inverno, ficando por meses abrigado na palhada, podendo inclusive se alimentar de plantas daninhas existentes ou soja tiguera nos períodos da entressafra (SOSA-GÓMEZ et al., 2019). Em contrapartida, a agricultura na região de Luis Eduardo Magalhães – BA, é reconhecida como um pólo de agricultura irrigada e de elevado desempenho, tanto na cultura da soja como na cultura do milho. Além disso, nestas regiões irrigadas do Oeste da Bahia, há uma menor possibilidade de refúgios com hospedeiros alternativos uma vez que as áreas agrícolas são concentradas no espaço e se sucedem durante o ano agrícola. O que se assemelha entre as duas regiões é a quantidade de aplicações com produtos químicos para controle de pragas, entre 8 a 12 aplicações por cultura somente para pragas agrícolas (BUENO et al., 2015; CONTE et al., 2018; KLEFFMANN, 2021). Na região de Londrina – PR o produto químico mais utilizado para controle de percevejos em soja é uma mistura comercial de lambda-cyhalothrin com thiamethoxam e na região de Luis Eduardo Magalhães – BA é utilizado para controle de percevejos em soja imidacloprid, thiamethoxam e a mistura comercial de lambda-cyhalothrin com thiamethoxam.

Do ponto de vista de um programa de manejo integrado de pragas, as técnicas adotadas para controle do *E. heros* não atendem os pré requisitos manejo de resistência que une esforços inter e multidisciplinares com o objetivo de prevenir, retardar ou reverter a evolução da

resistência de pragas a pesticidas. O uso continuado dos mesmos ingredientes ativos, somado a misturas podem gerar consequências da resistência muito drásticas, como a perda da eficiência de um produto leva a um aumento da dose ou da frequência de aplicação de um produto (aumenta a quantidade do produto no ambiente e a exposição dos organismos a ele), pode provocar o uso de misturas (que pode ser a melhor solução ou o pior problema), uso indiscriminado, troca de produtos por outros mais tóxicos (normalmente mais caros), o que leva a problemas com o manejo integrado de pragas (ecológicos/ambientais, econômicos – aumento de custo – e sociais – intoxicação, contaminação, etc.).

4.3.2 Monitoramento de *Euschistus heros*

As populações de *E. heros* provenientes de coletas em diferentes regiões do Brasil entre 2018 a 2021 apresentaram alta variação da mortalidade na dose diagnóstica (CL₉₉) de *E. heros* a thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin (Figura 5). Quando as populações de *E. heros* foram expostas ao inseticida thiamethoxam na dose diagnóstica 5.65 µg de i.a./ml de dieta artificial a mortalidade variou entre as populações, ficando entre 47.2 a 100.0% na safra 2018/2019, 54.2 a 100.0% na safra 2019/2020 e 41.4 a 100.0% na safra 2020/2021. Houve uma diminuição da suscetibilidade da maioria das populações entre a safra de 2018 e 2021, que foi constatada pela redução no percentual de mortalidade dos percevejos, ocasionando maior sobrevivência dos insetos na concentração diagnóstica de monitoramento (Figura 5A).

O inseticida imidacloprid na concentração diagnóstica de 12.45 µg de i.a./ml de dieta artificial apresentou mortalidade dos percevejos entre 45.5 e 100.0%, para populações provenientes do campo na safra 2018/2019, entre 49.1 e 100.0% na safra 2019/2020 e entre 42.5 e 100.0%, na safra 2020/2021. O percentual de mortalidade entre as populações das três safras de soja avaliadas foi reduzindo, demonstrando aumento da sobrevivência de *E. heros* no campo (Figura 5B).

Para o inseticida lambda-cyhalothrin a mortalidade de percevejos na concentração diagnóstica de 0.20 µg de i.a./inseto variou entre as populações provenientes do campo ficando entre 45.3 a 100.0% na safra 2019/2020 e 43.8 a 100.0% na safra 2020/2021 (Figura 5C). Assim como, no monitoramento com thiamethoxam e imidacloprid, o percentual de mortalidade de *E. heros* usando o inseticida lambda-cyhalothrin reduziu entre as populações nas três safras de soja avaliadas, demonstrando um aumento da sobrevivência de percevejos no campo.

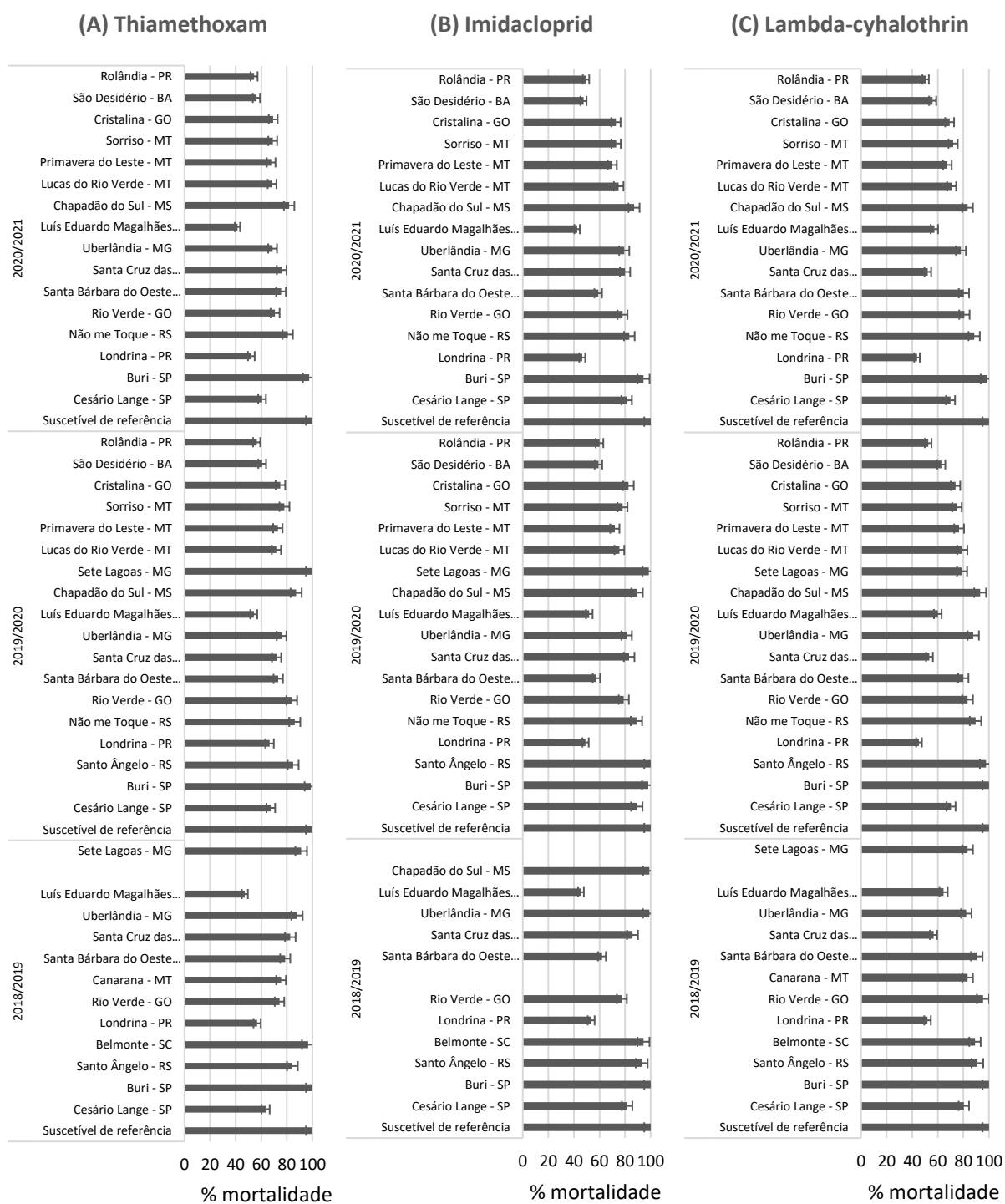


Figura 5 – Percentual de mortalidade de *Euschistus heros* exposto a dose diagnóstica de (A) thiamethoxam (5.65 µl de i.a./ml) em bioensaio de ingestão; (B) imidacloprid (12.45 µg of a.i./mL) em bioensaio de ingestão; (C) lambda-cyhalothrin (0.20 µg de i.a./inseto) em bioensaios de aplicação tópica nas safras entre 2018 a 2021.

Estudos de monitoramento realizados com *E. heros* no Brasil usando o método de bioensaio por aplicação tópica mostrou as mortalidades entre 55.3 a 73.3% para acephate (população de Cascavel, Maringá e Ubiratã, PR e Rio Verde, GO), 80.0% para thiamethoxam (população de Rio Verde - GO), 70.7 % para bifenthrin (população de Maringá - PR) e 86.0% para lambda-cyhalothrin (população de Tupaciretã, RS) (SOMAVILLA et al., 2020). Esses dados diferem dos resultados obtidos, para os inseticidas thiamethoxam e lambda-cyhalothrin em que a mortalidade do monitoramento de *E. heros* ficou entre 47.2 a 67.5% para thiamethoxam e 45.3 a 70.4% para lambda-cyhalothrin (para populações de Cesário Lange, SP, Luis Eduardo Magalhães e São Desidério, BA, Londrina e Rolândia, PR), possivelmente pela diferença do método de bioensaio utilizado para thiamethoxam, já que o método de ingestão se assemelha mais com a situação do campo e pelas populações utilizadas serem de regiões com maior pressão de seleção pela elevada produção agrícola regional.

4.4 Caracterização da resistência de *Euschistus heros* a inseticidas

4.4.1 Seleção de populações de *Euschistus heros* resistentes a inseticidas

Na seleção e caracterização da população de *E. heros* resistente thiamethoxam (THIAM-R) a CL_{50} estimada para a população após 8 ciclos de seleção foi de 118.66 μg de thiamethoxam/ml, com coeficiente angular (\pm erro padrão) de 2.03 (± 0.14), χ^2 de 5.33 (graus de liberdade: 6) com uma razão de resistência de 66.29 vezes (Tabela 8; Figura 6A). O teste de paralelismo e igualdade das linhas de concentração-resposta estimada pela análise de Probit mostrou que o coeficiente angular da linhagem suscetível (2.88 ± 0.17) foi significativamente maior que o da resistente para thiamethoxam (2.03 ± 0.14) (Tabela 8). Segundo alguns autores, o coeficiente angular relaciona-se à homogeneidade da população (HOSKINS; GORDON, 1956), portanto, o maior coeficiente angular da população suscetível está provavelmente relacionado à sua maior homogeneidade. Houve sobreposição das linhas de concentração-resposta ao inseticida thiamethoxam (THIAM-R) e dessa forma, não é possível determinar uma concentração discriminatória, porém é possível notar um aumento da razão de resistência entre o quinto e oitavo ciclo de seleção o que pode ser um indicativo para chegar na concentração discriminatória para usar em programas de monitoramento de *E. heros*. A concentração de 5.65 μg de i.a./ml foi mantida como a concentração diagnóstica, esta concentração ocasionou uma mortalidade de aproximadamente 99% da linhagem suscetível.

Na seleção e caracterização da população de *E. heros* resistente imidacloprid (IMIDA-R) a CL_{50} estimada para a população após 7 ciclos de seleção foi de 114.67 μg de imidacloprid/ml, com coeficiente angular (\pm erro padrão) de 2.12 (± 0.15), χ^2 de 4.66 (graus de

liberdade: 6) com uma razão de resistência de 41.40 vezes (Tabela 8; Figura 6B). O teste de igualdade e paralelismo das linhas de concentração-resposta mostrou diferença significativa na resposta a imidacloprid entre as populações resistente e suscetível. Os coeficientes angulares estimados para a população SUS e IMIDA-R foram significativamente diferentes. O maior coeficiente angular estimado para a população SUS foi provavelmente relacionado à sua maior homogeneidade. Houve sobreposição entre os valores das linhas de concentração-resposta à imidacloprid estimadas para a população SUS e IMIDA-R. Logo, não foi possível o estabelecimento de concentrações discriminatórias, porém o aumento da razão de resistência entre o quinto e o sétimo ciclo de seleção mostram que pode ter um refinamento de trabalhos futuros de monitoramento da suscetibilidade de *E. heros* a imidacloprid usando a concentração discriminatória.

A DL_{50} estimada para a população LAMBDA-R após 7 ciclos de seleção foi de 1.152 μg de lambda-cyhalothrin/inseto, com coeficiente angular (\pm erro padrão) de 2.67 (± 0.20), χ^2 de 9.07 (graus de liberdade: 5) com uma razão de resistência de 44.31 vezes (Tabela 8; Figura 6C). O teste de igualdade e paralelismo das linhas de concentração-resposta mostrou diferença significativa na resposta a lambda-cyhalothrin entre as populações resistente e suscetível. Houve sobreposição entre os valores das linhas de concentração-resposta à lambda-cyhalothrin estimadas para a população SUS e LAMBDA-R, não sendo possível estabelecer ainda concentrações discriminatórias para monitoramento da suscetibilidade de *E. heros* à lambda-cyhalothrin.

O controle químico é o manejo mais utilizado no combate do percevejo *E. heros* em soja no Brasil, porém a sustentabilidade dos inseticidas depende da ausência ou escassez de populações resistentes. No entanto, nossos estudos mostram que populações de *E. heros* respondem a seleção para resistência aos inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin. Após oito ciclos de seleção a população THIAM-R, apresentou razão de resistência de 66.29 vezes para thiamethoxam, a população IMIDA-R após 7 ciclos de seleção teve razão de resistência de 41.40 vezes, para imidacloprid e a população LAMBDA-R apresentou razão de resistência de 44.31 vezes, após sete ciclos de seleção com o inseticida lambda-cyhalothrin. Esses dados corroboram com os dados obtidos por Castellanos et al. (2018), onde após seis gerações de seleção de *E. heros*, os níveis de resistência foram de 13.5 vezes, para o inseticida imidacloprid, indicando que práticas de manejo são urgentemente necessárias para atrasar a ocorrência de populações resistentes a inseticidas no campo.

Tabela 8 – Respostas de concentração-mortalidade de populações de *Euschistus heros* aos inseticidas thiamethoxam ($\mu\text{g i.a./ml}$), imidacloprid ($\mu\text{g i.a./ml}$) e lambda-cyhalothrin ($\mu\text{g i.a./inseto}$), submetidos entre cinco a oito ciclos de seleção com inseticida em condições de laboratório, pela técnica de seleção massal.

População	n ^a	Coefficiente angular ($\pm\text{EP}^b$)	CL ₅₀ /DL ₅₀ (IC \pm 95%) ^c	χ^2 ^d	g.l. ^e	RR ₅₀ ^f
Thiamethoxam						
SUS	864	2.88 (± 0.17)	1.79 (1.63 - 1.98)	4.37	6	
BA13	576	2.23 (± 0.16)	39.52 (33.84 - 46.15)	3.49	5	22.08
THIAM-R (5 ciclos)	432	1.98 (± 0.18)	74.64 (56.83 - 99.35)	5.10	5	41.70
THIAM-R (8 ciclos)	648	2.03 (± 0.14)	118.66 (100.836 - 139.238)	5.33	6	66.29
Imidacloprid						
SUS	768	3.27 (± 0.22)	2.77 (2.37 - 3.19)	4.92	4	
BA13	504	2.48 (± 0.2)	60.72 (52.26 - 70.39)	2.35	4	21.92
IMIDA-R (5 ciclos)	576	2.12 (± 0.17)	103.63 (83.55 - 130.56)	5.13	5	37.41
IMIDA-R (7 ciclos)	648	2.12 (± 0.15)	114.67 (97.851 - 140.944)	4.66	6	41.40
lambda-cyhalothrin						
SUS	800	3.23 (± 0.20)	0.026 (0.023 - 0.029)	3.56	5	
PR05	640	3.20 (± 0.24)	0.731 (0.621 - 0.773)	2.99	5	28.12
LAMBDA-R (5 ciclos)	576	2.09 (± 0.17)	1.054 (0.831 - 1.366)	4.44	4	40.54
LAMBDA-R (7 ciclos)	576	2.67 (± 0.20)	1.152 (0.898 - 1.420)	9.07	5	44.31

^a Número total de insetos testados. ^b Valores representam as médias \pm EP. ^c CL₅₀/ DL₅₀: concentração/dose letal dos inseticidas que mata 50% dos insetos. ^d Qui quadrado. ^e Graus de liberdade. ^f Razão de resistência.

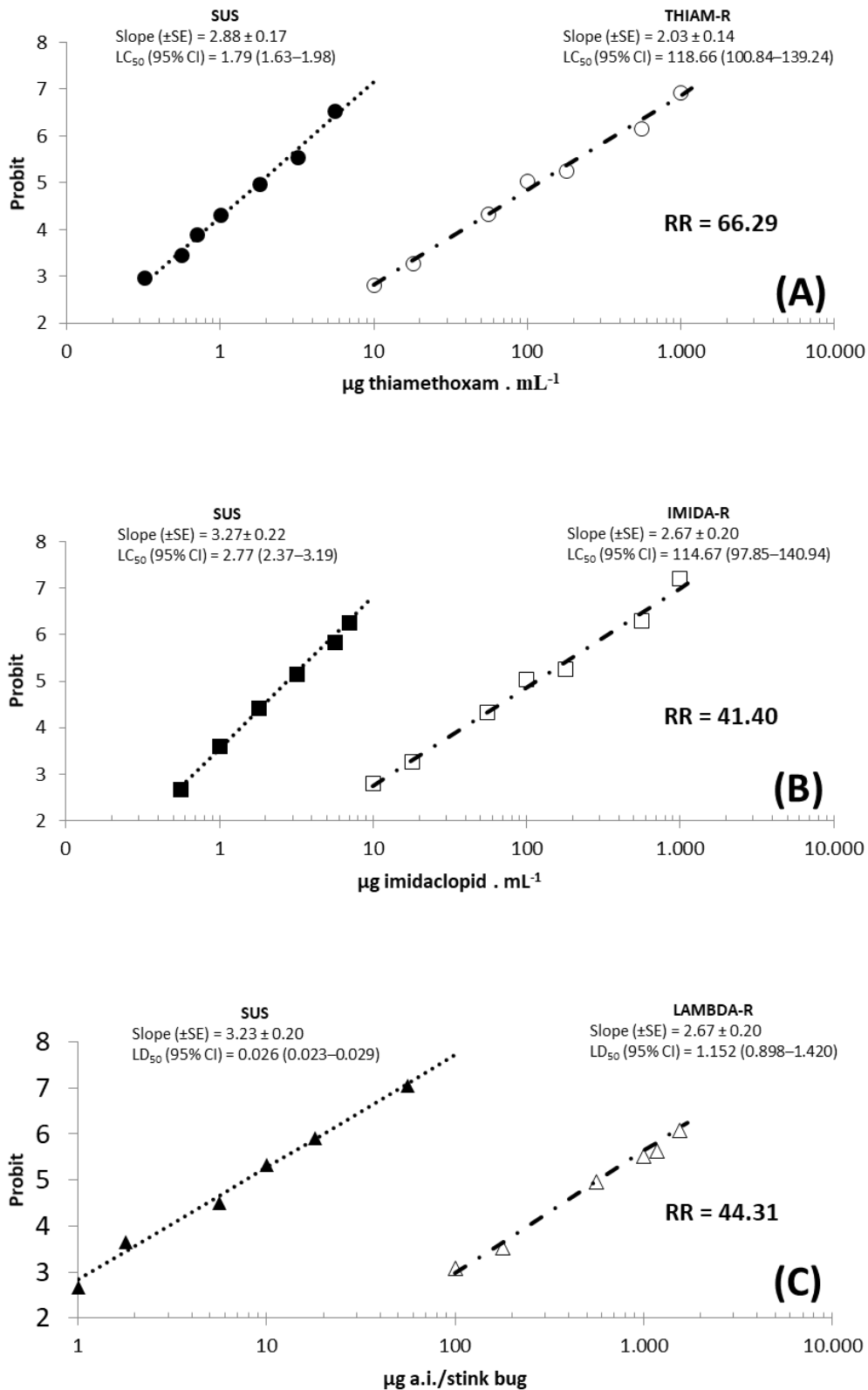


Figura 6 – Linhas de concentração/dose-reposta das linhagens de *Euschistus heros* aos inseticidas (A) thiamethoxam (THIAM-R) (μg de i.a./mL); (B) imidacloprid (IMIDA-R) (μg de i.a./mL) e (C) lambda-cyhalothrin (LAMBDA-R) (μg de i.a./percevejo) submetido de sete a oito ciclos de seleção com inseticida em condições de laboratório.

4.4.2 Avaliação da resistência comportamental de *Euschistus heros* a inseticidas

As características comportamentais de adultos de *E. heros* em arenas parcialmente tratadas com inseticidas foi variável entre as linhagens suscetível e resistentes (Figura 7; Tabela 9).

A linhagem resistente a thiamethoxam (THIAM-R) apresentou maior tempo de permanência, na parte da arena com o tratamento controle (solvente) em relação a área tratada com inseticida (thiamethoxam), variando significativamente entre si (Tabela 9). Esse comportamento pode ser um indicador de resistência comportamental pela rejeição em permanecer na área tratada com inseticida, dando preferência em permanecer por um tempo maior na arena que continha o controle. A linhagem suscetível (SUS) não apresentou diferença no tempo de permanência dos insetos em ambos os lados da arena, demonstrando que o solvente e o inseticida não interferem no comportamento da linhagem SUS de *E. heros* (Figura 7A; Tabela 9).

Para o inseticida imidacloprid, as linhagens SUS e resistente IMIDA-R não diferiram no tempo de permanência entre as áreas tratada com inseticida e não tratada da arena, demonstrando que o solvente e o inseticida não interferiram no comportamento do *E. heros* (Figura 7B; Tabela 9).

A resposta comportamental do percevejo *E. heros* ao inseticida lambda-cyhalothrin foi variável quanto ao tempo de permanência entre as linhagens suscetível e resistente (LAMBDA-R). A linhagem suscetível em contato com os tratamentos controle (solvente) e o branco (água) não apresentou diferença no tempo de permanência dos insetos em ambos os lados da arena, demonstrando que o solvente não interfere no comportamento do *E. heros* (Figura 7C; Tabela 9). Quando as linhagens suscetível e resistente tiveram contato com o tratamento controle (solvente) e o tratado (lambda-cyhalothrin) apresentaram diferença entre si no tempo de permanência, demonstrando que a presença do inseticida interfere no comportamento do *E. heros*.

O comportamento da linhagem suscetível exposta aos inseticidas thiamethoxam e lambda-cyhalothrin promoveram um tempo maior de permanência dos insetos na área tratada em relação aos insetos resistentes, sendo um indicativo de resistência comportamental de *E. heros* por repelirem a área com presença de inseticida. A repelência é capacidade dos indivíduos evitarem o local tratado, com intuito de se proteger ou proteger os descendentes, é uma resposta estímulo-dependente, sendo que para haver evolução da resistência é preciso haver contato (Figura 7; Tabela 9).

Tabela 9 - Tempo de permanência média (minutos) das linhagens de *Euschistus heros* em cada metade do tratamento correspondente com ou sem inseticida.

Inseticidas	Linhagens	Tratamentos	Tempo (minutos)
thiamethoxam	SUS	Controle	5.13
		Branco	4.88
	SUS	Controle	4.75
		Tratado	5.25
	THIAM-R	Controle	6.50*
		Tratado	3.50*
imidacloprid	SUS	Controle	4.75
		Branco	5.25
	SUS	Controle	5.13
		Tratado	4.88
	IMIDA-R	Controle	4.88
		Tratado	5.13
lambda-cyhalothrin	SUS	Controle	5.25
		Branco	4.75
	SUS	Controle	6.37*
		Tratado	3.63*
	LAMBDA-R	Controle	7.25*
		Tratado	2.75 *

*Médias que apresentam asterisco diferem entre os tratamentos avaliados na mesma linhagem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O comportamento dos insetos em situações de presença ou ausência de inseticidas podem nos dar indicativos de resistência. Nos resultados apresentados pode-se observar que as linhagens de *E. heros* resistentes aos inseticidas thiamethoxam e lambda-cyhalothrin rejeitaram a área tratada com os respectivos inseticidas, dando preferência em permanecer por um tempo maior na arena que continha o controle. Esses diferentes padrões de caminamento estão relacionados as diferenças existentes entre o metabolismo das populações levando a produção de vários intermediários capazes de influenciar no comportamento dos insetos (GUEDES, et al. 2009). A resistência comportamental é a capacidade de determinadas espécies em sobreviver a aplicações de inseticidas pela adaptação comportamental. Este tipo de resistência depende da capacidade de aprendizado do inseto e de modificações genéticas nos receptores periféricos de estímulos ou no sistema central de processamento dos estímulos. A variação interpopulacional encontrada pode ser causada por diferenças nos processos sensoriais dos insetos levando a evolução de resistência comportamental a inseticidas (DESNEUX, et al. 2007).

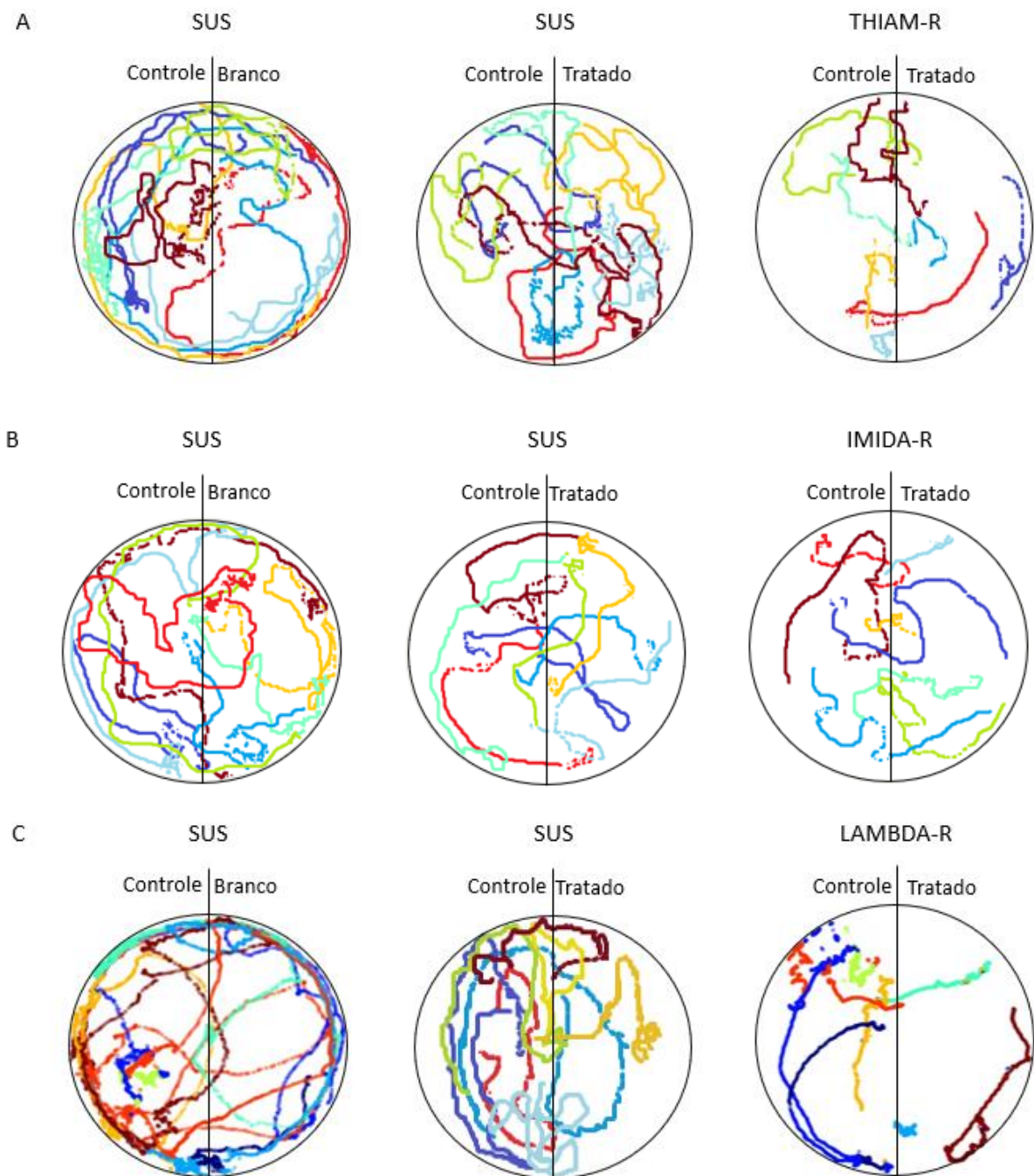


Figura 7 – Caracterização da resistência comportamental de *Euschistus heros* a inseticidas para as linhagens suscetíveis (SUS) e resistentes a thiamethoxam (THIAM-R), imidacloprid (IMIDA-R) e lambda-cyhalothrin (LAMBDA-R). A) Inseticida thiamethoxam; B) Inseticida imidacloprid; C) Inseticida lambda-cyhalothrin.

Georghiou (1972) relata a hipótese de correlação negativa entre resistência comportamental e resistência fisiológica a inseticidas. Esta hipótese é sustentada por alguns autores devido ao fato de que a resistência comportamental leva a redução da exposição aos inseticidas e desta forma minimiza a pressão de seleção para os mecanismos fisiológicos de

resistência (GOULD, 1984; JALLOW; HOY, 2005). No entanto, Lockwood et al. (1984) apresentaram uma visão alternativa à hipótese de Georghiou (1972) e propuseram uma correlação positiva, onde existe a possibilidade de uma coevolução entre resistência fisiológica e comportamental, sustentada pela teoria de que todo o comportamento tem uma base fisiológica, sendo uma manifestação física das características fisiológicas do organismo. A repelência dos percevejos *E. heros* resistentes aos inseticidas thiamethoxam e lambda-cyhalothrin a permanecer na área tratada possivelmente está relacionada a uma coevolução entre resistência fisiológica e comportamental, devido ao elevado uso desses ingredientes ativos no controle de pragas, nos dando um direcionamento ao comportamento desses insetos, onde, com frequência são reportados falhas no controle de percevejos no campo (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010; GUEDES, 2017; TUELHER et al., 2018; CASTELLANOS, et al., 2018; SOMAVILLA, et al., 2019; 2020).

4.5 Mistura de lambda-cyhalothrin com thiamethoxam no manejo da resistência

4.5.1 Efeito da mistura no manejo de *Euschistus heros*

O produto comercial e a mistura de lambda-cyhalothrin com thiamethoxam apresentaram efeito antagônico tanto para a linhagem suscetível como para a resistente de *E. heros*. A mortalidade obtida com o uso do produto comercial e da mistura foram significativamente inferiores à soma das mortalidades dos produtos utilizados isoladamente para as duas populações (Figura 8).

A mortalidade da população suscetível foi significativamente maior que o da população resistente a thiamethoxam para o produto comercial e para a dose comercial usada na mistura. Para a população suscetível na dose comercial usando os produtos técnicos em mistura (lambda-cyhalothrin + thiamethoxam) causaram mortalidade de 59.3%, o produto comercial 54.0%, o inseticida thiamethoxam 98.7% e lambda-cyhalothrin 68.0% (Figura 8A). Porém, para a população resistente a dose comercial dos produtos técnicos em mistura (lambda-cyhalothrin + thiamethoxam) causaram mortalidade de 15.3%, o produto comercial 11.3%, o inseticida thiamethoxam 19.3% e lambda-cyhalothrin 24.7% (Figuras 8B). Na dose comercial quando utilizado somente o inseticida lambda-cyhalothrin houve redução na mortalidade de percevejos da linhagem resistente a thiamethoxam (THIAM-R) em comparação com a linhagem suscetível podendo ser um indício de resistência cruzada. Os resultados apresentados demonstram que houve efeito antagônico para thiamethoxam e lambda-cyhalothrin, quando usados em mistura, isso pode acarretar em problemas ainda mais graves quanto a resistência de *E. heros* a esses inseticidas e/ou a outros inseticidas com o mesmo modo de ação.

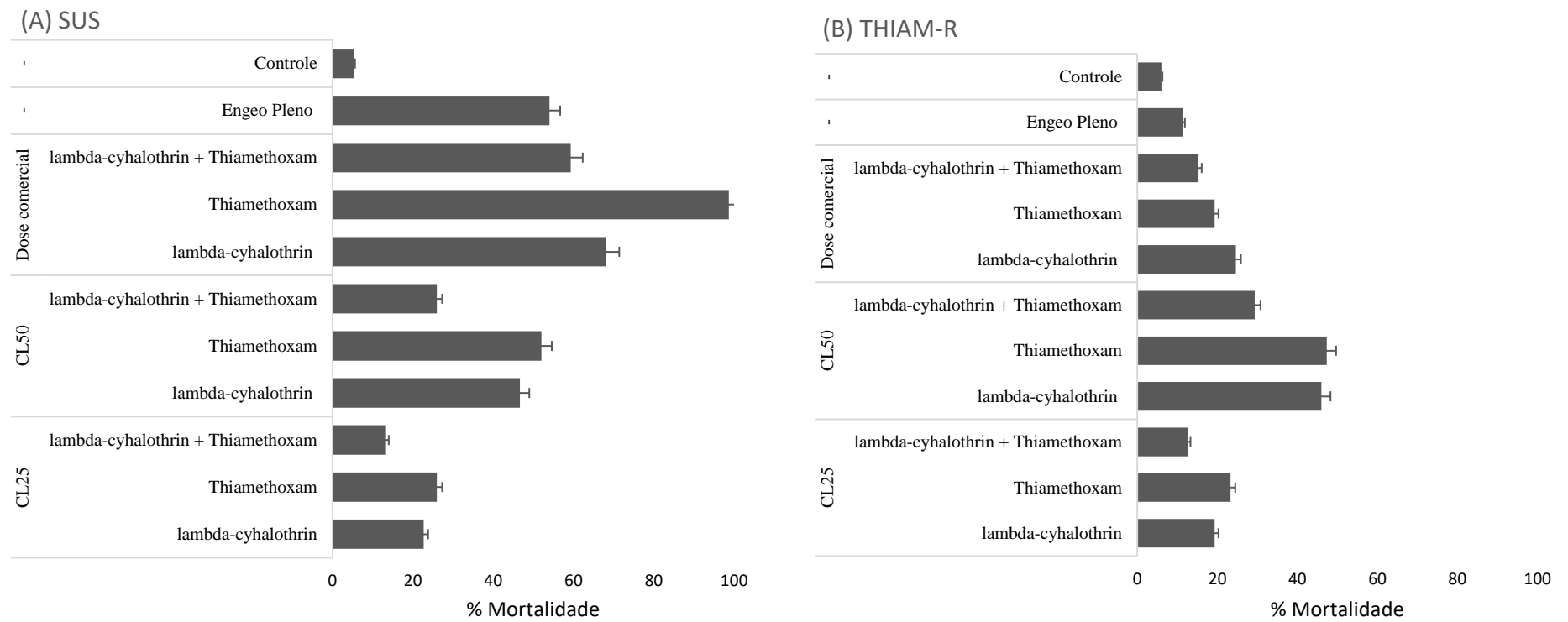


Figura 8 – Mortalidade de *Euschistus heros* da linhagem (A) suscetível de referência (SUS) e (B) thiamethoxam (THIAM-R), ocasionadas pelos inseticidas thiamethoxam e lambda-cyhalothrin aplicados isoladamente e em mistura.

A composição das misturas comerciais com frequência possuem redução das concentrações requeridas dos compostos para obter uma dada mortalidade, se os modos de ação dos produtos forem independentes e apresentarem efeito sinérgico (GEORGHIOU, 1983; TABASHNIK, 1989). No entanto, uma das misturas comerciais mais utilizadas para controle de percevejo, thiamethoxam+lambda-cyhalothrin, possui recomendação de aplicação de 21.2 g i.a. lambda-cyhalothrin/ha, três vezes maior do que quando utilizado apenas lambda-cyhalothrin na composição, que possui recomendação de aplicação de 7.5 g i.a. lambda-cyhalothrin/ha, sendo, desta forma, uma mistura com maior quantidade de ingrediente ativo em comparação do uso do lambda-cyhalothrin isolado, justamente para evitar a redução de mortalidade pelo efeito antagônico entre thiamethoxam e lambda-cyhalothrin.

A resistência cruzada entre inseticidas com o mesmo modo de ação é esperada e pode resultar na perda de um grupo inteiro de inseticidas (HEMMINGWAY; RANSON, 2000). Já a resistência cruzada entre dois produtos como o piretroide e neonicotinoide com diferentes ingredientes ativos não é esperada, porém, pode ocorrer, uma vez que esses ingredientes ativos têm como alvo os mesmos locais neurais, ou seja, os piretroides tem como alvo os canais de sódio em neurônios e os neonicotinoides tem como alvo os receptores nicotínico da acetilcolina (IRAC, 2021). A resistência cruzada entre piretroides e neonicotinoides foi documentada para o percevejo *Cimex lectularius* (Linnaeus) (GORDON et al., 2014), para *Musca domestica* Linnaeus (Diptera: Muscidae) (LIU; YUE, 2000) e para *Bemisia tabaci* Genn (Hemiptera: Aleyrodidae) (BASIT et al., 2011) e é provavelmente devido a mecanismos compartilhados de desintoxicação. A classe de enzimas do citocromo P450 é conhecida por desintoxicar tanto piretroides quanto neonicotinoides (SCOTT, 1999; NAUEN; DENHOLM, 2005) e o uso predominante desses produtos no controle de pragas agrícolas podem agravar problemas com resistência de insetos a inseticidas.

O princípio da mistura é que os indivíduos resistentes a um determinado produto A serão controlados pelo produto B e vice-versa, e que a resistência a cada composto é independente e inicialmente rara (CURTIS, 1985; MANI, 1985). Porém, a mistura thiamethoxam e lambda-cyhalothrin apresentou efeito antagônico, o que reduz a capacidade de controle desses produtos em mistura, podendo selecionar resistência de *E. heros* aos dois compostos da mistura. A resistência a dois ou mais compostos químicos, pela resistência cruzada ou múltipla, tem sido um dos grandes problemas em programas de manejo de pragas, resultando em maiores dificuldades de controle.

4.5.2 Efeito residual de inseticidas no controle de *Euschistus heros*

O efeito residual de inseticidas variou entre os tratamentos, sendo que após 6 dias da pulverização dos produtos houve redução significativa no percentual de mortalidade dos percevejos (Tabela 10). A mortalidade dos percevejos da população SUS no primeiro dia após a pulverização foi de 3.1; 81.9; 98.8 e 60.6% para os tratamentos controle, lambda-cyhalothrin, thiamethoxam e a mistura, respectivamente. Porém, 12 dias após a pulverização houve redução significativa para os tratamentos com os inseticidas lambda-cyhalothrin, thiamethoxam e a mistura, ficando em 29.4; 76.3 e 46.3% de mortalidade, respectivamente.

A população resistente a thiamethoxam (THIAM-R) apresentou no primeiro dia após a pulverização foi de 5.0; 76.3; 18.1 e 16.9% de mortalidade de percevejos, para os tratamentos controle, lambda-cyhalothrin, thiamethoxam e a mistura, respectivamente. Houve redução da mortalidade dos percevejos após 12 dias de pulverização dos inseticidas, com valores de 23.1; 4.4 e 11.9% de mortalidade para os inseticidas lambda-cyhalothrin, thiamethoxam e a mistura, respectivamente (Tabela 10). É possível observar redução no controle de percevejos da população THIAM-R em relação a população SUS, deixando evidente a capacidade de sobrevivência dos insetos resistentes ao inseticida thiamethoxam, assim como, para a mistura desses produtos.

A população de *E. heros* resistente a lambda-cyhalothrin (LAMBDA-R) apresentou no primeiro dia após a pulverização de inseticidas mortalidade de 3.8; 21.3; 95.6 e 40.6%, para os tratamentos controle, lambda-cyhalothrin, thiamethoxam e a mistura, respectivamente. Reduzindo significativamente a mortalidade dos percevejos após 12 dias de pulverização dos inseticidas, ficando em 9.4; 73.8 e 28.8% de mortalidade, para os inseticidas lambda-cyhalothrin, thiamethoxam e a mistura, respectivamente (Tabela 10). É possível observar redução no controle de percevejos da população LAMBDA-R em relação a população SUS, deixando evidente a capacidade de sobrevivência dos insetos resistente ao inseticida lambda-cyhalothrin.

As avaliações correspondentes a mortalidade diária mostra que tanto lambda-cyhalothrin e thiamethoxam aplicados isoladamente, como em mistura, ocasionaram mortalidade principalmente nos primeiros 3 dias após a infestação com os percevejos (Figura 9).

Para a população SUS é possível verificar que o efeito residual do inseticida thiamethoxam e a mistura (lambda-cyhalothrin e thiamethoxam) mantiveram o percentual de mortalidade de *E. heros* nos 1, 3, 6 e 12 dias após a pulverização (DAP) (Figura 9A). O mesmo não foi observado para as populações resistentes a thiamethoxam (THIAM-R) e lambda-

cyhalothrin (LAMBDA-R) que 12 dias após a pulverização (DAP) apresentam redução no percentual de mortalidade (Figuras 9B e 9C).

São vários os fatores capazes de influenciar a evolução da resistência a inseticidas atuando diferentemente sob os processos evolutivos, podendo ser agrupados em fatores genéticos e biológicos, ligados à praga alvo, e fatores operacionais que se referem ao produto químico e à sua utilização (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977a,b; ROUSH; MCKENZIE, 1987).

Esta informação deve ser levada em consideração no manejo da resistência, buscando também a identificação do(s) mecanismo(s) responsável(eis) pela resistência do inseto aos produtos deste grupo. Da perspectiva do manejo de resistência, mesmo um pequeno nível de variação na suscetibilidade é uma indicação do potencial para seleção de resistência (CARRIÈRE et al., 2010). O número limitado de inseticidas que podem ser usados contra percevejos significa que esses insetos são mais expostos aos mesmos ingredientes ativos. Isso pode causar futuras falhas de controle, que podem ser atribuídas à resistência (GUEDES, 2017).

Algumas práticas de manejo de inseticidas são imprescindíveis para evitar resistência, tais como: rotacionar produtos com mecanismo de ação distinto; se necessário usar produto do mesmo grupo químico, respeitar o intervalo de aplicação de cerca de 30 dias; sempre que possível, realizar as aplicações direcionadas às fases mais suscetíveis das pragas a serem controladas; adotar outras táticas de controle, previstas no Manejo Integrado de Pragas (MIP) como rotação de culturas, controle biológico, controle por comportamento etc., sempre que disponível e apropriado; utilizar as recomendações de aplicação de acordo com a bula do produto. A compreensão de todos os fatores envolvidos no desenvolvimento da resistência é de fundamental importância para a implementação de programas de manejo da resistência que visam prevenir, retardar ou reverter a evolução da resistência de pragas a inseticidas (GEORGHIOU; TAYLOR, 1986).

Tabela 10 – Mortalidade média (%) de *E. heros* causada por diferentes inseticidas e mistura no decorrer do tempo.

População	Tratamento	DAP ^a	n ^b	% Mortalidade (\pm EP) ^c
SUS	Controle	1	160	3.1 \pm 0.69 a
		3	160	5.0 \pm 0.67 a
		6	160	4.4 \pm 0.68 a
		12	160	3.8 \pm 0.68 a
	Lambda-cyhalothrin	1	160	81.9 \pm 0.13 a
		3	160	78.8 \pm 0.15 a
		6	160	53.1 \pm 0.33 b
		12	160	29.4 \pm 0.50 c
	Thiamethoxam	1	160	98.8 \pm 0.01 a
		3	160	95.6 \pm 0.03 a
		6	160	91.3 \pm 0.06 a
		12	160	76.3 \pm 0.17 b
	Mistura	1	160	60.6 \pm 0.28 a
		3	160	56.3 \pm 0.31 a
		6	160	55.0 \pm 0.32 a
		12	160	46.3 \pm 0.38 b
THIAM-R	Controle	1	160	5.0 \pm 0.67 a
		3	160	4.4 \pm 0.68 a
		6	160	2.5 \pm 0.69 a
		12	160	3.1 \pm 0.69 a
	Lambda-cyhalothrin	1	160	76.3 \pm 0.17 a
		3	160	61.9 \pm 0.27 a
		6	160	46.9 \pm 0.38 b
		12	160	23.1 \pm 0.54 c
	Thiamethoxam	1	160	18.1 \pm 0.58 a
		3	160	18.1 \pm 0.58 a
		6	160	16.3 \pm 0.59 a
		12	160	4.4 \pm 0.68 b
	Mistura	1	160	16.9 \pm 0.59 a
		3	160	17.5 \pm 0.58 a
		6	160	15.0 \pm 0.60 a
		12	160	11.9 \pm 0.62 b
LAMBDA-R	Controle	1	160	3.8 \pm 0.68 a
		3	160	2.5 \pm 0.69 a
		6	160	5.0 \pm 0.67 a
		12	160	3.1 \pm 0.69 a
	Lambda-cyhalothrin	1	160	21.3 \pm 0.56 a
		3	160	20.0 \pm 0.57 a
		6	160	17.5 \pm 0.58 a
		12	160	9.4 \pm 0.64 b
	Thiamethoxam	1	160	95.6 \pm 0.03 a
		3	160	87.5 \pm 0.09 ab
		6	160	82.5 \pm 0.12 b
		12	160	73.8 \pm 0.19 b
	Mistura	1	160	40.6 \pm 0.42 a
		3	160	39.4 \pm 0.43 a
		6	160	36.3 \pm 0.45 a
		12	160	28.8 \pm 0.50 b

^a Dias após a pulverização (DAP). ^b Número total de insetos testados. ^c Valores representam as médias \pm EP.

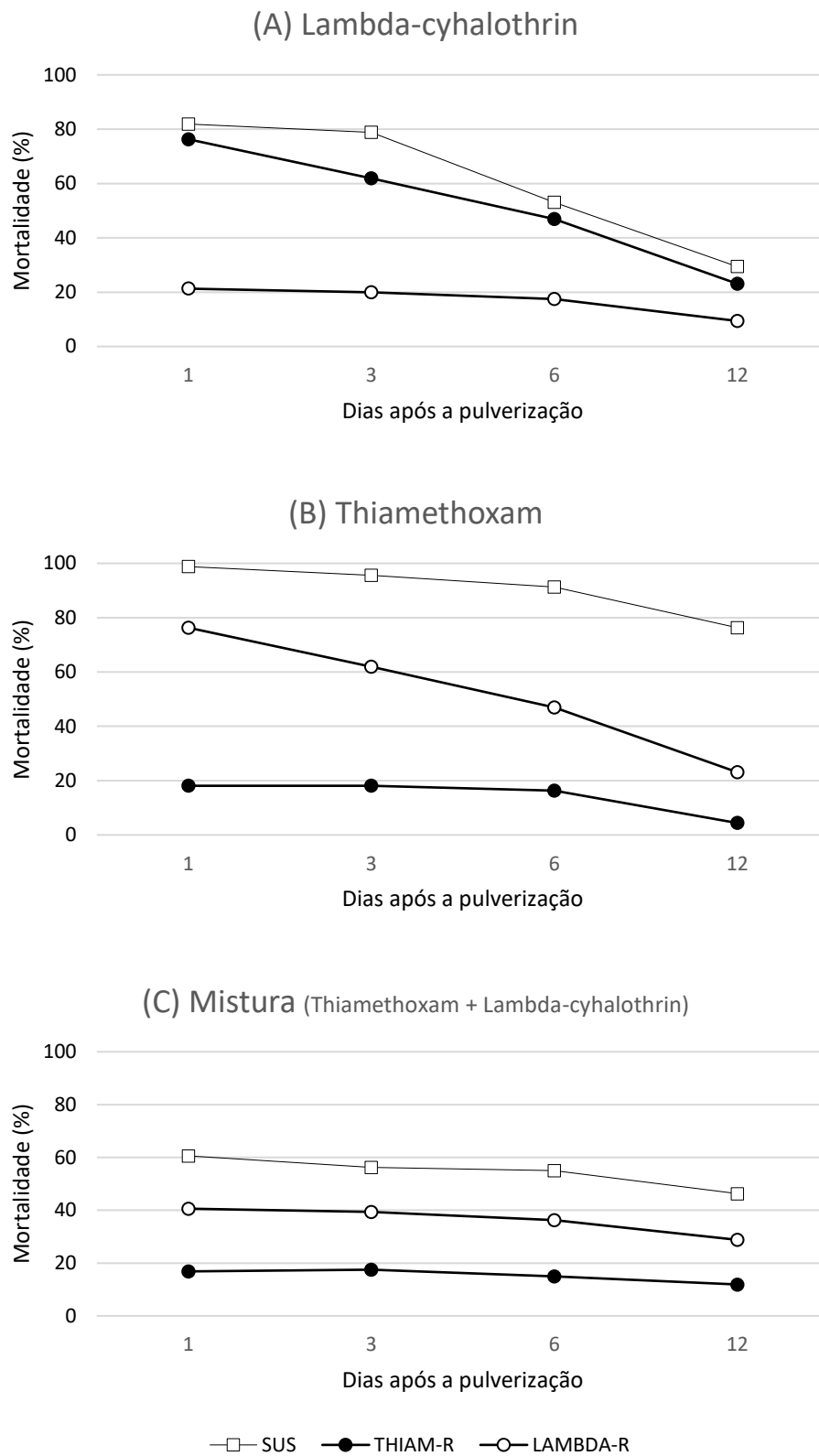


Figura 9 – Mortalidade (%) das linhagens de *Euschistus heros* (SUS, THIAM-R e LAMBDA-R) expostos a (A) Lambda-cyhalothrin; (B) Thiamethoxam; (C) Mistura (Thiamethoxam + Lambda-cyhalothrin), avaliados 1, 3, 6 e 12 dias após a pulverização (DAP).

5. CONCLUSÕES

- O bioensaio de ingestão mediante encapsulação de dieta artificial é mais eficiente para detectar resistência em populações de *E. heros* a inseticidas neonicotinoides thiamethoxam e imidacloprid, em comparação aos métodos tradicionais de aplicação tópica e contato tarsal;
- O bioensaio de aplicação tópica é mais eficiente para detectar resistência em populações de *E. heros* ao inseticida piretroide lambda-cyhalothrin, em comparação aos métodos de ingestão e contato tarsal;
- Há diferenças na suscetibilidade a thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin em populações de *E. heros* testadas nas safras de 2018 a 2020;
- As razões de resistência de *E. heros* aos inseticidas thiamethoxam, imidacloprid e lambda-cyhalothrin foram de aproximadamente de 66, 41 e 44 vezes, respectivamente, após 5 a 8 ciclos de seleção massal;
- As linhagens de *E. heros* resistentes a thiamethoxam e a lambda-cyhalothrin apresentaram indícios de resistência comportamental;
- A mistura dos inseticidas thiamethoxam e lambda-cyhalothrin apresentou efeito antagônico no controle de *E. heros*.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários). Indicações de uso e dose. Disponível em: < http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 13 jan. 2021.
- AGUILLERA, L.A.; BOTTAN, A.J. Avaliação de inseticidas para o controle das lagartas (*Spodoptera* spp.) no algodoeiro. **CooperFibra**. Campo Verde, 2005.
- AQUINO, M.F.S., SUJII, E.R., BORGES, M., MORAES, M.C.B., LAUMANN, R.A. Diversity of stink bug adults and their parasitoids in soybean crops in Brazil: influence of a latitudinal gradient and insecticide application intensity. **Environ. Entomol.** 48, 105–113, 2018.
- BASIT, M.; SAYYED, A. H.; SALEEM, M. A.; SAEED, S. Cross resistance, inheritance and stability of resistance to acetamiprid in cotton whitefly, *Bemisia tabaci* Genn (Hemiptera: Aleyrodidae). **Crop Protection**. 30: 705-712, 2011.
- BEATY, B.J.; MARQUARDT, W.C. **The biology of disease vectors**. University Press of Colorado, 1996.
- BELORTE, L. C.; RAMIRO, Z. A.; FARIA, A. M.; MARINO, C. A. B. Danos causados por percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) em cinco cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill, 1917) no município de Araçatuba, SP. **Arquivos Inst. Biológico**, v. 70, n. 2, p. 169-175, 2003.
- BONMATIN, J.M.; GIORIO, C.; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D.P.; KRUPKE, C.; LISS, M.; LONG, E.; MARZARO, M.; MITCHELL, E.A.D.; NOOME, D. A.; SIMON-DELISO, N.; TAPPARO, A. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.** 22: 35–67, 2014.
- BRATTSTEN, L.B.; HOLYOKE, C.W.; LEEPER, J.; RAFFA, K.F. Insecticide Resistance: Challenge to Pest Management and Basic Research. **Science** 231(4743):1255-60, 1986.
- BROMILOW, R.H.; CHAMBERLAIN, K. Principles governing uptake and transport of chemicals. **Plant contamination: modelling and simulation**. Lewis Publishers, London, pp 37–64, 1995.
- BUENO, A.F., BORTOLOTTI, O.C.; POMARI-FERNANDES, A.; FRANÇA-NETO, J.B. Assessment of a more conservative stink bug economic threshold for managing stink bugs in Brazilian soybean production. **Crop Prot.** 71: 132–137, 2015.
- BUENO, A.F.; PAULA-MORAES, S.V.; GAZZONI, D.L.; POMARI, A.F. Economic thresholds in soybean-integrated pest management: old concepts, current adoption, and adequacy. **Neotrop. Entomol.** 42: 439–447, 2013.
- CARRIÈRE, Y.; CROWDER, D.W.; TABASHNIK, B.E. Evolutionary ecology of insect adaptation to Bt crops. **Evol. Appl.** 3: 561–573, 2010.

CASIDA, J.E.; DURKIN, K.A. Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. **Annu. Rev. Entomol.** 58:99–117, 2013.

CASTELLANOS, N.L.; HADDI, K.; CARVALHO, G.A.; PAULO, P.D. De; HIROSE, E.; GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G.; OLIVEIRA E.E. Imidacloprid resistance in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: selection and fitness costs. **Journal of Pest Science**, 92: 847–860, 2018.

CATARINO R.; CEDDIA, G.; AREAL, F.J.; PARK, J. The impact of secondary pests on *Bacillus thuringiensis* (Bt) crops. **Plant Biotechnology Journal**, 13: 601–612, 2015.

CERNA MENDOZA. A.; ROCHA. A.C.P.; PARRA. J.P. Lyophilized artificial diet for rearing the Neotropical *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **Journal of Insect Science**. 2016.

CHOCOROSQUI, V. **Bioecologia de *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae), danos e controle em soja, milho e trigo no Norte do Paraná**. 2001. 160f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

CHOCOROSQUI, V. R.; PANIZZI, A. R. Photoperiod influence on the biology and phenological characteristics of *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 63, n. 4, p. 655-664, nov. 2003.

CIVIDANES, F.J.; PARRA, J.R.P. Zoneamento ecológico de *Nezara viridula* (L.), *Piezodorus guildinii* (West.) e *Euschistus heros* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae) em quatro estados produtores de soja no Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, p. 219-226, 1994.

COCHRAN, D.G. Monitoring for Insecticide Resistance in Field-Collected Strains of the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). **Journal of Economic Entomology**, v.82, n.2, p. 337-34, 1989.

COHEN, A.C. **Insects diets: Science and technology**. Boca Raton: CRC Press. P. 1-164. 2015.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento de safra brasileira de grãos: Safra 2020/21 - 8º levantamento, maio 2021. <https://www.conab.gov.br/>

CONTE, O./ F. T. OLIVEIRA, N. HARGER, B. S. CORREA-FERREIRA, S. ROGGIA, A. PRANDO; C. SERATTO. **Resultados do manejo integrado de pragas da soja na safra 2017/18 no Paraná**. Tech. Rep. 402. Embrapa, Londrina, PR, Brazil. 2018. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1095318/1/Doc402OL.pdf>

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; AZEVEDO, J. Soybean seed damage by different species of stink bugs. **Agric. Forest Entomol.** 4: 145–150, 2002.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MACHADO, E. M.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Sobrevivência e desempenho reprodutivo do percevejo marrom *Euschistus heros* (F.) na entressafra de soja. In: **Reunião de Pesquisa da Soja da Região Central do Brasil**, 31., Brasília, DF. Resumos Embrapa Soja, p. 81-83, 2010.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; PANIZZI, A. R. Percevejos-praga da soja no norte do Paraná: abundância em relação à fenologia da planta e hospedeiros intermediários. **Na. Semin. Nac. Pesq.**, 140-151, 1982.

CORRÊA-FERREIRA B.S.; PANIZZI, A.R. **Percevejos da soja e seu manejo**. Londrina: Embrapa Soja, 45 p., 1999. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 24).

CORRÊA-FERREIRA, B.S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p.1067-1072, 2005.

CORSO, I. C. Constatação do agente causal da mancha-de-levedura em percevejos que atacam a soja no Paraná. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 3., 1984, Campinas. **Anais...** Londrina, PR: Embrapa CNPSo, p. 152-157, 1984.

CROFT, B.A; VAN DE BAAN, H.E. Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. **Experimental & Applied Acarology**, v. 4, p. 277-300, 1988.

CROW, J. F. Genetics of insecticide resistance to chemicals. **Annu. Rev. Entomol.** 2: 227-246, 1957.

CURTIS, C.F. Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. **Bull. Entomol. Res.** 75: 259-265, 1985.

De UDERZO, A.P.F.M.; DINIZ, M.E.R.; NASCENTES, C.C.; CATHARINO, R.R.; EBERLIN, M.N.; AUGUSTI, R. Photolytic degradation of the insecticide thiamethoxam in aqueous medium monitored by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry. **J. Mass Spectrom**, 42:1319–1325, 2007.

DEGRANDE, P. E.; VIVAN, L. M. Pragas da soja. In. YUYAMA, M. M.; SUZUKI, S.; CAMACHO, S. A. **Boletim de Pesquisa de Soja**. Rondonópolis: Fundação MT, v. 14, 418, 2010.

DEGRANDE, P. E.; VIVAN, L. M., Pragas da soja. In. HIROMOTO, D. M.; CAJU, J.; CAMACHO, S. A., **Boletim de Pesquisa de Soja**. Rondonópolis: Fundação MT, v. 13, 229-265, 2009.

DENNEHY, T.J.; FARNHAM, A.W.; DENHOLM, I. The microimmersion bioassay: A novel method for the topical application of pesticides to spider mites. **Pestic. Sci.**, v. 39, p. 47-54, 1993.

DENNEHY, T.J.; GRANETT, J.; LEIGH, T.F. Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. **Journal of Economic Entomology**, v. 76, p. 1225-1230, 1983.

DESNEUX, N.; A. DECOURTYE & J.M. DELPUECH. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology** 52: 81-106, 2007.

EPSKY, N.D. Feeding bioassay for stored-product insect pests using an encapsulated food source. **Journal of Stored Products Research**, 38(4): 319-327, 2002.

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

FFRENCH-CONSTANT, R.H. The molecular and population genetics of cyclodiene insecticide resistance. **Science**. v. 24 (4): 335-345, 1994.

GALILEO, M.H.M.; HEINRICHS, E.A. Avaliação dos danos causados aos legumes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) por *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera, Pentatomidae), em diferentes níveis e épocas de infestação. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.7, 33-39, 1978a.

GALILEO, M.H.M.; HEINRICHS, E.A. Efeito dos danos causados por *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera, Pentatomidae), em diferentes níveis e épocas de infestação, no rendimento de grãos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.7, 20-25, 1978b.

GEORGHIOU, G.P. Management of resistance in arthropods, p. 769-792. In GEORGHIOU, G.P.; SAITO, T. (eds.), **Pest resistance to pesticides**. New York, Plenum, 809p., 1983.

GEORGHIOU, G.P. The evolution of resistance to pesticides. **Ann. Rev. Ecol. Syst.** 3: 133-168, 1972.

GEORGHIOU, G.P.; TAYLOR, C.E. Factors influencing the evolution of resistance. In: NATIONAL RESEARCH COUNCIL (Ed.). **Pesticide resistance: strategies and tactics for management**. Washington, DC: National Academy Press, 157-169, 1986.

GEORGHIOU, G.P.; TAYLOR, C.E. Genetic and biological influences in the evolution of resistance. **J Econ Entomol**, 70: 319-323, 1977a.

GEORGHIOU, G.P.; TAYLOR, C.E. Operational influences in the evolution of insecticide resistance. **J Econ Entomol**, 70: 653-658, 1977b.

GORDON, J.R.; GOODMAN, M.H.; POTTER, M.F.; HAYNES, K.F. Population variation in and selection for resistance to pyrethroid-neonicotinoid insecticides in the bed bug. **Sci Rep**, 4: 3836, 2014.

GOULD, F. Role of Behavior in the Evolution of Insect Adaptation to Insecticides and Resistant Host Plants. **Bulletin of the Entomological Society of America**, 30 (4): 34-41, 1984.

GREANY, P.D.; CARPENTER, J.E. **Culture medium for parasitic and predaceous insects**. US Patent Office n. 5,799,607, 1998.

GUEDES, N.M.P.; GUEDES, R.N.C.; FERREIRA, G.H.; SILVA L.B. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and – resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. **Bulletin of Entomological Research**, Volume 99, Issue 4, August, pp. 393 – 400, 2009.

GUEDES, R.N.C. Insecticide resistance, control failure likelihood and the first law of geography. **Pest Manag. Sci.** 73: 479-484, 2017.

GUSE, C.A.; ONSTAD, D.W.; BUSCHMAN, L.L.; PORTER, P.; HIGGINS, R.A.; SLODEBECK, P.E.; CRONHOLM, G.B.; PEAIRS, F.B. Modeling the development of resistance by stalk-boring lepidoptera (Crambidae) in areas with irrigated transgenic corn. **Environ. Entomol.**, 31: 676-685, 2002.

HEMINGWAY, J.; RANSON, H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annu Rev Entomol.**, 45:371-391, 2000.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSAGÓMEZ, D. R.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B. HORI, K. Z. Possible causes os disease symptoms resulting from the feeding of phytophagous Heteroptera. In: SCHAEFER, C.W.; PANIZZI, A.R. (Ed.). **Heteroptera of economic importance**. Boca Raton: CRC Press, 11-35. 2000.

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

HUTH, C.; ROGGIA, S.; CANTONE, W.; GUEDES, J.V.C. Efeito sistêmico de inseticida (tiametoxam + lambdacialotrina) em planta de soja. VI Congresso Brasileiro de Soja, Cuiabá – MT, 2012.

IRAC Susceptibility Test Method 029. Disponível online: <https://irac-online.org/methods/euschistus-heros-adults-2/> (Acessado em agosto 2020).

IRAC Susceptibility Test Method 030. Disponível online: <https://irac-online.org/methods/euschistus-heros-adults-3/> (Acessado em agosto 2020).

IRAC (Insecticide Resistance Action Committee). **Classificação do Modo de Ação dos inseticidas**. 2021.

JALLOW, M.F.; HOY, C.W. Phenotypic variation in adult behavioral response and off spring fitness in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in response to permethrin. **J. Econ. Entomol.** 98(6): 2195-202, 2005.

JESCHKE, P.; NAUEN, R.; SCHINDLER, M.; ELBERT, A. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. **J. Agric. Food Chem.** 59: 2897–2908, 2011.

JESCHKE, P.; NAUEN, R.; BECK, M.E. Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonists: A Milestone for Modern Crop Protection. **Angew Chem Int Ed Engl.** 52:9464-85, 2013.

KAGABU, S.; MORIYA, K.; SHIBUYA, K.; HATTORI, Y.; TSUBOI, S.; SHIOKAWA, K. 1-(6-Halonicotiny)-2-nitromethylene-imidazolidines as potential new insecticides. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 56:362–363, 1992.

KLEFFMANN. Relatório de Fechamento de Soja. 2016. Disponível em: <http://www.portalklff.com.br/> Acesso em: 13 jul. 2017.

LADONNI, H. Evaluation of three methods for detecting permethrin resistance in adult and nymphal *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). **J Econ Entomol.**, Jun; 94 (3): 694-697, 2001.

LEORA SOFTWARE. **POLO-PC, user's guide to probit or logit analysis.** Berkeley, CA: LeOra Software, 1987.

LINK, D.; GRAZIA, J. Pentatomídeos da região central do Rio Grande do Sul (Heteroptera). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, p. 116-129, 1987.

LIU, N.; YUE, X. Insecticide resistance and cross resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). **J. Econ. Entomol.** 93: 1269–1275, 2000.

LOCKWOOD, J.A.; SPARKS, T.C.; STORY, R.N. Evolution of Insect Resistance to Insecticides: A Reevaluation of the Roles of Physiology and Behavior. **B. Entomol. Society America**, v. 30 (4): 41–51, 1984.

LOURENÇÃO, A.L.; BRAGA, N.R.; MIRANDA, M.A.C.; VALLE, G.E.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; RECO, P.C. Evaluation of damage in soybean genotypes of three maturity groups caused by stink bugs and defoliators. **Neotrop. Entomol.** 31: 623–630, 2002.

LUCINI, T., PANIZZI, A.R. Electropenetrography monitoring of the neotropical brown-stink bug (Hemiptera: pentatomidae) on soybean pods: an electrical penetration graph-histology analysis. **J. Insect Sci.** 18, 1–14, 2018.

McKENZIE, J.A. The biochemical and molecular bases of resistance: applications to ecological and evolutionary questions. In: McKENZIE, J.A. **Ecological and Evolutionary Aspects of Insecticide Resistance.** Academic, Austin, 123-147, 1996.

MAIENFISCH, P.; HUERLIMANN, H.; RINDLISBACHER, A.; GSELL, L.; DETTWILER, H.; HAETTENSCHWILER, J.; SIEGER, E; WALTI, M. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. **Pest Manag. Sci.** 57:165–176, 2001.

MANI, G.S. Evolution of resistance in the presence of two insecticides. **Genetics** 109: 761-783, 1985.

MEREDITH, R.H.; HEATHERINGTON, P.J.; MORRIS, D.B. Clothianidin - a new chloronicotinyl seed treatment for use on sugar beet and cereals: field trial experiences from Northern Europe. **Proceedings of the British Crop Protection Council: Pests and diseases.** pp. 691–696, 2002.

MILIO, J.F.; KOEHLER, P.G.; PATTERSON, R.S. Evaluation of three methods for detecting chlorpyrifos resistance in German cockroach (Orthoptera: Blattellidae) populations. **J. Econ. Entomol.** 80: 44-46, 1987.

MOURÃO, A. P. M. & PANIZZI, A. Diapausa e diferentes formas sazonais em *Euschistus heros* (Fabr.) (Hemiptera: Pentatomidae) no Norte do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 2, p. 205-218, 2000.

NAUEN, R.; DENHOLM, I. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: Current status and future prospects. **Arch. Ins. Biochem. Physiol.** 58: 200–215, 2005.

NAVON, A.; ASCHER, K.R.S. Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes. **Science**, Washington, p. 324, 2000.

NIELSEN, A.L.; SHEARER, P.W.; HAMILTON, G.C. Toxicity of Insecticides to *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) Using Glass-Vial Bioassays. **Journal of Economic Entomology**, 101(4):1439-1442, 2008.

PANIZZI, A. R. Stink bugs on soybean in northeastern Brazil and a new record on the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, p. 331-332, 2002.

PANIZZI, A. R. Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. **Annu. Rev. Entomol.**, p. 99–122, 1997.

PANIZZI, A. R. History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. **Neotrop. Entomol.** 42: 119–127, 2013.

PANIZZI, A.R. A biodiversidade vegetal no manejo de percevejos. In: CORRÊA-FERREIRA, B.S. (Org.). **Soja orgânica: alternativas para o manejo dos insetos pragas**. Londrina: Embrapa Soja, p. 47-55, 2003.

PANIZZI, A.R. Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). In: CAPINERA, J.L. (Ed.). **Encyclopedia of Entomology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004.

PANIZZI, A.R.; ALVES, R.M.L. Performance of nymphs and adults of the southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) exposed to soybean pods at different phenological stages of development. **Journal of Economic Entomology**, v.86, p.1088-1093, 1993.

PANIZZI, A.R.; CORRÊA, B.S.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B.; NEWMAN, G.G.; TURNIPSEED, S.G. **Insetos da soja no Brasil**. Embrapa, CNPSo, Bol Tec 1, 20p., 1977.

PANIZZI, A.R.; HIROSE, E. Survival, reproduction, and starvation resistance of adult southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) reared on sesame or soybean. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v.88, n.5, p.661-665, 1995.

PANIZZI, A.R.; SLANSKY JUNIOR, F. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. **Florida Entomology**, v.68, p.184-203, 1985.

PEREIRA, P. R. V. S.; SALVADORI, J. R. **Aspectos populacionais de percevejos fitófagos ocorrendo na cultura da soja (Hemiptera: Pentatomidae) em duas áreas do norte do Rio Grande do Sul**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, p. 10, 2008. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico, 253)

PINTO, S. B.; PANIZZI, A. R. Performance of nymphal and adult *Euschistus heros* (F.) on milkweed and on soybean and effect of food switch on adult survivorship, reproduction and weight gain. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.23, p. 549-555, 1994.

RAMIRO, Z. A.; MASSARIOL, A. A. manejo de insetos na cultura da soja. In: **A soja no Brasil central**. Campinas: Fundação Cargil, p. 141-155, 1977.

RIBEIRO, F.C.; ROCHA, F.S.; ERASMO, E.A.L.; MATOS, E.P.; COSTA, S.J. Management with insecticides targeting the brown stink bug control in intact soybean crop. **Rev. Agric. Neotrop.** 3: 48–53, 2016.

ROBERTSON, J.L.; PREISLER, H.K.; NG, S.S.; HICKLE, L.A.; GELERNTER, W.D. Natural variation: a complicating factor in bioassays with chemical and microbial pesticides. **J. Econ. Entomol.** 88: 1–10, 1995.

ROBERTSON, J.L.; RUSSEL, R.M.; PREISLER, H.K.; SAVIN, N.E. **Bioassays with Arthropods**. Second Ed. Boca Raton, Florida, 2007.

ROLSTON, L.H. Revision of the genus *Euschistus* in middle America (Hemiptera, Pentatomidae, Pentatomini). **Entomologica Americana**, New York, v, 48, p. 1-102, 1983.

ROUSH, R.T. Designing resistance management programs: How can you choose? **Pestic. Sci.** 26: 423-441, 1989.

ROUSH, R.T.; MCKENZIE, J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Ann. Rev. Entomol.** 32: 361-380, 1987.

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

RUST, M.K.; REIERSON, D.A. Chlorpyrifos resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) from restaurants. **J. Econ. Entomol.** 84: 736-740, 1991.

SALUSO A.; XAVIER, L.; SILVA, F.A.C.; PANIZZI, A.R. An invasive pentatomid pest in Argentina: neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotrop. entomol.** 40 (6): 704-705, 2011.

SANTOS, M.F.; SANTOS, RL.; TOMÉ, HVV.; BARBOSA, WF; MARTINS, GF.; GUEDES, RNC.; OLIVEIRA, E.E. Imidacloprid-mediated effects on survival and fertility of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Journal of Pest Science**, 89: 231-240, 2016.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guides statistics**. Cary, NC, 2004.

SCHUH, R.T.; SLATER, J.A. True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera): classification and natural history. **Cornell University Press**, 336 p. 1995.

SCOTT, J.G. Cytochromes P450 and insecticide resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 29 (9): 757-777, 1999.

SILVA, F.A.C., SILVA, J.J.; DEPIERI, R.A.; PANIZZI, A.R. Feeding activity, salivary amylase activity, and superficial damage to soybean seed by adult *Edessa meditabunda* (F.) and *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotrop. Entomol.** 41: 386–390, 2012.

SILVA, M. T. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Erro e resistência. **Revista Cultivar Grandes Culturas, Pelotas**, v. 8, n. 82, p. 22-25, fev. 2006.

SIMON-DELISO, N. et al. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. **Environ. Sci. Pollut. Res.** 22:5–34, 2015.

SMANIOTTO, L.F.; PANIZZI, A.R. Interactions of selected species of stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) from leguminous crops with plants in the Neotropics. **Florida Entomol.** 98: 7–17, 2015.

SNODGRASS, G.L. Glass-vial bioassay to estimate insecticide resistance in adult tarnished plant bugs (Heteroptera: Miridae). **J. Econ. Entomol.**, 89 (5): 1053-1059, 1996.

SNODGRASS, G.L.; ADAMCZYK, J.J.; GORE, J. Toxicity of insecticides in a glass-vial bioassay to adult brown, green, and southern green stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **J. Econ. Entomol.**, 98: 177–181, 2005.

SOARES, P.L.; CORDEIRO, E.M.G.; SANTOS, F.N.S.; OMOTO, C.; CORREA, A.S. The reunion of two lineages of the Neotropical brown stink bug on soybean lands in the heart of Brazil. **Scientific Reports.** 8: 2496, 2018.

SOMAVILLA, J.C.; GUBIANI, P.S.; REIS, A.C.; FÜHR, F.M.; MACHADO, E.P.; BERNARDI, O. Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to insecticides determined from topical bioassays and diagnostic doses for resistance monitoring of *E. heros* in Brazil. **Crop Protection**, 138, 2020.

SOMAVILLA, J.C.; REIS, A.C.; GUBIANI, P.S.; GODOY, D.N.; STÜRMER, G.R.; BERNARDI, O. Susceptibility of *Euschistus heros* and *Dichelops furcatus* (Hemiptera: Pentatomidae) to Selected Insecticides in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, 113, 924-931, 2019.

SORIA, M. F.; DEGRANDE, P. E.; PANIZZI, A. R. Algodoeiro invadido. **Revista Cultivar**, v. 131, p. 18-20, 2010.

SORIA, M.F.; DEGRANDE, P.E.; PANIZZI, A.R.; TOWES, M.D. Economic injury level of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) on cotton plants. **Neotropical Entomology**, 46, 324–335, 2017.

SOSA-GÓMEZ D.R.; OMOTO, C. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C.B., CORRÊA-FERREIRA, B.S., MOSCARDI, F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012.

SOSA-GÓMEZ, D. R. É crescente a perda de eficiência de inseticidas para os percevejos. **Embrapa Soja**. 2017.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, J. J.; LOPES, I. O. N.; CORSO, I. C.; ALMEIDA, A. M. R.; PIUBELLI DE MORAES, G. C.; BAUR, M. E. Insecticide susceptibility of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, p. 1209-1216, 2009.

SOSA-GOMEZ, D.R., CORRÊA-FERREIRA, B.S., KRAEMER, B., PASINI, A., HUSCH, P.E., VIEIRA, C.E.D., MARTINEZ, C.B.R., LOPES, I.O.N. Prevalence, damage, management and insecticide resistance of stink bug populations (Hemiptera: Pentatomidae) in commodity crops. **Agric. For. Entomol.** 22, 99–118, 2019.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORSO, I.C.; MORALES, L.C. Insecticide resistance to endosulfan, monocrotophos and metamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (Fabr.). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 317-320, 2001.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; DELPIN, K.E.; ALMEIDA, A.; HIROSE, E. Genetic differentiation among Brazilian populations of *Euschistus heros* (Fabricius) (Heteroptera: Pentatomidae) based on RAPD analysis. **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 179-187, 2004.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; SILVA, J.J. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to metamidophos in Paraná, Brazil. **Pesq. Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 767-769, 2010.

SPEHAR, C.R. Impact of strategic genes in soybean on agricultural development in the Brazilian tropical savannahs. *Field Crops Research*, v. 41 (3): 141-146, 1995.

SRIDHAR, V.H; ROCHE, D.G.; GINGINS, S. Tracktor: image-based automated tracking of animal movement and behaviour. *bioRxiv*: 412262, 2018.

TABASHNIK, B.E. Managing resistance with multiple pesticide tactics: theory, evidence, and recommendations. **J. Econ. Entomol.** 82: 1263-1269, 1989.

TAKEUCHI, H.; ENDO, N. Insecticide Susceptibility of *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae) and Three Other Stink Bug Species Composing a Soybean Pest Complex in Japan. **Entomological Society of America**, 2012.

TAYLOR, M.; FEYEREISEN, R. Molecular biology and evolution of resistance of toxicants. **Molecular Biology and Evolution**, v. 13 (6): 719–734, 1996.

THIND, B.B.; MUGGLETON, J. A new bioassay method for the detection of resistance to pesticides in the stored product mite *Acarus siro* (Acari: Acaridae). **Experimental & Applied Acarology**, 22, 543–552, 1998.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J.E. Neonicotinoid insecticides: highlights of a symposium on strategic molecular designs. **J. Agric. Food Chem.**, 59:2883–2886, 2011.

TUELHER, E. S., E. H. SILVA, H. S. RODRIGUES, E. HIROSE, R. N. C. GUEDES; E. E. OLIVEIRA. Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **J. Pest. Sci.** 91: 849–859, 2018.

US Environmental Protection Agency (USEPA). **Factsheet - Clothianidin**. 19 pp, 2003.

VILLAS-BÔAS, G.L.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, M.C.N. de; PEREIRA, N.P.; ROESSING, A.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A. **Efeito de diferentes populações de percevejos sobre o rendimento e seus componentes, características agrônômicas e qualidade de sementes de soja**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 43p., 1990. (Boletim de pesquisa)

VIVIAN, L.M.; DEGRANDE, P.E. **Pragas da soja**. Fundação MT Boletim de Pesquisa de Soja. 11: 239–297, 2011.

WILLIAMS, R.N.; PANAIÁ, J.R.; MOSCARDI, F.; SICHMANN, W.; ALLEN, G.E.; GREENE, G. L.; LASCA, D.H.C. **Principais pragas da soja no estado de São Paulo**: reconhecimento, métodos de levantamento e melhor época de controle. São Paulo: Secretaria de Agricultura, CATI, p. 1-18, 1973.

WILLRICH, M.M.; LEONARD, B.R.; COOK, D.R. Laboratory and Field Evaluations of Insecticide Toxicity to Stink Bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **The Journal of Cotton Science**, 7: 156 -163, 2003.

ZERBINO, M.S.; PANIZZI, A.R. The underestimated role of pest pentatomid parasitoids in Southern South America. **Arthropod-Plant Interactions**. 13:703–718, 2019.

ZUCCHI, M.I., CORDEIRO, E.M., WU, X., LAMANA, L.M., BROWN, P.J., MANJUNATHA, S., VIANA, J.P.G., OMOTO, C., PINHEIRO, B.J., CLOUGH, S.J. Population genomics of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*: the most important emerging insect pest to soybean in Brazil. **Front. Genet.** 10, 1035, 2019.