

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

**Caracterização da resistência de *Helicoverpa armigera*  
(Lepidoptera: Noctuidae) a chlorantraniliprole e avaliação de  
mistura com *Bacillus thuringiensis* (Eubacteriales: Bacillaceae)  
como estratégia de manejo da resistência**

**Fábio Miguel Führ**

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

**Piracicaba  
2023**

**Fábio Miguel Führ**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Caracterização da resistência de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:  
Noctuidae) a chlorantraniliprole e avaliação de mistura com *Bacillus*  
*thuringiensis* (Eubacteriales: Bacillaceae) como estratégia de manejo da  
resistência**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGR 6018 de 2011

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

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

**Piracicaba**  
**2023**

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

Führ, Fábio Miguel

Caracterização da resistência de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorantraniliprole e avaliação da mistura com *Bacillus thuringiensis* (Eubacteriales: Bacillaceae) como estratégia de manejo da resistência / Fábio Miguel Führ. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGR 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2023.

79 p.

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

1. Manejo da resistência de insetos 2. *Helicoverpa armigera* 3. Chlorantraniliprole 4. *Bacillus thuringiensis* 5. Padrão de herança 6. Custo adaptativo 7. Mistura de ingredientes ativos I. Título

## DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação ao meu pai Milton Führ, minha mãe Glaci Führ (*in memoriam*) e a meus irmãos Matias José Führ e Suzane Cristina Führ, que nunca mediram esforços para me apoiar em toda minha caminhada.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Celso Omoto pela orientação, conselhos, ensinamentos e oportunidade para realização deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) pelos conhecimentos transmitidos durante as aulas e aos funcionários pelo auxílio prestado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (Código de Financiamento 001) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processo nº 2021/14552-1) pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Comitê Brasileiro de Ação à Resistência a Inseticidas (IRAC-BR), ao pesquisador Clérison Perini e ao profissional Luis Henrique Prigol pelo auxílio na coleta de populações de *Helicoverpa armigera*.

A Sumitomo Chemical Brasil pelo financiamento de parte do projeto e confiança na execução do trabalho e a FMC Química do Brasil pelo fornecimento de produtos fitossanitários.

Aos pesquisadores Roberto Avila Neto e ao pesquisador Marco Antonio Paris Junior pela ajuda na confecção dos isobogramas.

À minha família, em especial à minha mãe Glací Führ (*in memoriam*) que sempre me incentivou a estudar, pelo amor incondicional, ensinamentos, apoio e conselhos. Também ao meu pai Milton Führ pela confiança, amor e incentivo durante essa caminhada.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Resistência de Artrópodes (ESALQ/USP): Aline Guidolin, Antônio Rogério Nascimento, Dionei Muraro, Douglas Amado, Eduardo Perkovski, Fernando Semmelroth, Gabriel Dias, Gabriela Alves, Ingrid Kaiser, Leonardo Thiessen, Matheus Saccilotto, Pedro Henrique Campos, Rubens Kanno; e aos estagiários Anne Küll, Carolina Monteiro, Daniel Trench, Emily Souza, Gustavo Zael, João Vitor Cruz, Mariana Iuanami, Mateus Vitti, Murilo Basso, Pedro Camargo, Pedro Bazanelli, Ronaldo Leal, Thalles Zambom, e aos demais que passaram pelo laboratório, pela amizade, conselhos, convívio e momentos de “cafés” diário.

Aos meus colaboradores do “time *Helicoverpa*”: Anne Küll, Douglas Amado, Mariana Iuanami, Mateus Vitti, Murilo Basso, Pedro Henrique Campos e Ronaldo Leal pela ajuda incondicional na realização deste trabalho, nas atividades de laboratório e nas discussões científicas.

Aos meus amigos de residência: Daniel Trujilo, Eduardo Perkovski, Henrique Gioia, Ícaro Monteiro, Jorge Locatelli, Jorge Nascimento, Lucas Greschuk, Raphael Delloiagono, pelas risadas, companheirismo, convívio e momentos de lazer.

Aos meus amigos ou familiares: Celso Omoto, Cinthia Garlet, Dário Gräff, Eduardo Perkovski, Guido Kuhn, Gustavo Führ, João Grassi, Joel Berwanger, Julia Gräff, Jupira Gräff, Milton Führ, Matias Führ, Maristane Führ, Marlise Kuhn, Paulo Campos, Pedro Gräff, Suzane Führ e Valmir Brummelhaus pelo apoio, carinho, motivação, palavras de afeto e orientação no momento mais difícil da minha vida.

A todos os colegas e amigos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, pela amizade e companheirismo.

À bibliotecária Eliana Maria Garcia da Biblioteca Central da ESALQ/USP pela formatação deste trabalho.

A todos aqueles que contribuíram para o êxito deste trabalho, meu sincero agradecimento.

## EPIGRAFE

*“Água mole em pedra dura, tanto bate até que fura”.*

*Autor desconhecido*

## SUMÁRIO

RESUMO .....	8
ABSTRACT.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	17
2.1. Resistência de <i>H. armigera</i> a inseticidas .....	17
2.2. Resistência de insetos-praga a chlorantraniliprole.....	19
2.3. Mistura de inseticidas como estratégia de manejo da resistência .....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	25
3.1. Coleta em campo e criação em laboratório de <i>H. armigera</i> .....	25
3.2. Monitoramento da suscetibilidade de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole.....	26
3.3. Seleção de linhagem de <i>H. armigera</i> resistente a chlorantraniliprole .....	27
3.4. Caracterização do padrão de herança da resistência de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole .....	28
3.5. Resistência cruzada entre chlorantraniliprole e outras diamidas .....	30
3.6. Custo adaptativo da resistência de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole em dieta artificial e folha de soja não-Bt.....	30
3.7. Mistura de inseticidas como estratégia de manejo da resistência de <i>H. armigera</i> .....	32
3.7.1. Isoblograma.....	33
3.7.2. Persistência da mistura de chlorantraniliprole e <i>B.</i> <i>thuringiensis</i> .....	34
4. RESULTADOS .....	35
4.1. Monitoramento da suscetibilidade de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole.....	35
4.2. Seleção de linhagem resistente de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole .....	35
4.3. Caracterização do padrão de herança da resistência de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole .....	36
4.4. Resistência cruzada entre chlorantraniliprole e outras diamidas .....	40
4.5. Custo adaptativo associado à resistência de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole em dieta artificial e folha de soja não-Bt .....	40

4.6. Mistura de ingredientes ativos como estratégia de manejo da resistência de <i>H. armigera</i> .....	44
4.6.1. Isoblograma.....	45
4.6.2. Persistência da mistura de chlorantraniliprole e <i>B. thuringiensis</i> .....	52
5. DISCUSSÃO .....	55
6. CONCLUSÕES .....	61
REFERÊNCIAS.....	63

## RESUMO

### **Caracterização da resistência de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorantraniliprole e avaliação da mistura com *Bacillus thuringiensis* (Eubacteriales: Bacillaceae) como estratégia de manejo da resistência**

Inseticidas do grupo das diamidas têm sido bastante utilizados como uma das ferramentas no manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner). Recentemente, reduções significativas na suscetibilidade de populações de *H. armigera* a inseticidas diamidas foram reportadas no Brasil, com a caracterização da resistência a flubendiamide (diamida derivada de ácido ftálico). A linhagem de *H. armigera* resistente a flubendimide não apresentou resistência cruzada a diamidas antranílicas, como por ex. chlorantraniliprole. Nesse contexto, para o melhor entendimento da resistência de *H. armigera* a inseticidas diamidas e estabelecer estratégias de Manejo da Resistência de Insetos (MRI), os objetivos deste estudo foram: i) realizar o monitoramento da suscetibilidade a chlorantraniliprole em populações de *H. armigera* do Brasil; ii) selecionar uma linhagem de *H. armigera* resistente a chlorantraniliprole para entender o padrão de herança; iii) avaliar a resistência cruzada a outros inseticidas diamidas; iv) avaliar custos adaptativos associado à resistência; e v) avaliar a mistura de chlorantraniliprole com *Bacillus thuringiensis* Berliner como estratégia de manejo da resistência. Mediante o uso de bioensaio de dose diagnóstica de 0,99 µg i.a. cm<sup>-2</sup>, foi observada uma redução significativa na suscetibilidade a chlorantraniliprole em populações de *H. armigera* nas safras agrícolas de 2020/21 e 2021/22, com sobrevivências de 4,63% até 30,8% nas diferentes populações avaliadas. A seleção da linhagem de *H. armigera* resistente a chlorantraniliprole (R-CHL) foi realizada pelo método de F<sub>2</sub> screen, a partir de uma população coletada em Itiquira, Estado de Mato Grosso na safra 2020/21. Após 10 gerações de pressão de seleção com doses crescentes a partir da dose diagnóstica até 2,85 µg i.a. cm<sup>-2</sup>, a razão de resistência (RR) da linhagem R-CHL para chlorantraniliprole foi de 142 vezes. A partir de cruzamentos recíprocos entre as linhagens suscetível e R-CHL, o padrão de herança da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole foi autossômico e incompletamente dominante. Retrocruzamentos de heterozigotos com a linhagem suscetível revelaram que a resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole é poligênica. Foi constatada resistência cruzada entre chlorantraniliprole e as diamidas cyclaniliprole (28 vezes), cyantraniliprole (422 vezes) e flubendiamide (>20.000 vezes). A presença de custo adaptativo associado à resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole foi verificada quando as lagartas se alimentaram em dieta artificial, baseado em parâmetros da tabela de vida de fertilidade. Contudo, o custo adaptativo não foi observado quando os insetos se alimentaram em folhas de soja. Por fim, a partir de análises de isobogramas e estudos de persistência da atividade biológica dos inseticidas em condições de campo, a mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* não apresentou benefícios para o manejo da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole. Os resultados deste trabalho evidenciam o alto risco de evolução da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole e outras diamidas.

Palavras-chave: Manejo da resistência de insetos, Diamidas, Padrão de herança, Mistura de inseticidas

## ABSTRACT

### **Characterization of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to chlorantraniliprole and evaluation of the mixture with *Bacillus thuringiensis* (Eubacteriales: Bacillaceae) as a resistance management strategy**

Diamide insecticides have been used as one of the tools to manage *Helicoverpa armigera* (Hübner). Recently, significant reductions in the susceptibility of *H. armigera* to diamide insecticides were reported in Brazil with characterization of resistance to flubendiamide (phthalic acid diamide). The flubendiamide-resistant strain did not show cross-resistance to anthranilic diamides such as chlorantraniliprole. In this context, for a better understanding of the resistance of *H. armigera* to diamide insecticides and to implement Insect Resistance Management (IRM) strategies, the objectives of this study were: i) to monitor the susceptibility to chlorantraniliprole in populations of *H. armigera* in Brazil; ii) to select a strain of *H. armigera* resistant to chlorantraniliprole to understand the inheritance patterns; iii) to evaluate cross-resistance to other diamide insecticides; iv) to assess fitness costs associated with resistance; and v) to evaluate the mixture of chlorantraniliprole with *Bacillus thuringiensis* Berliner as a resistance management strategy. By using a diagnostic dose bioassay of 0.99  $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$ , a significant reduction in susceptibility to chlorantraniliprole was observed in populations of *H. armigera* in the 2020/21 and 2021/22 growing seasons, with survival from 4.63% up to 30.8% in different populations evaluated. The selection of the resistant strain of *H. armigera* to chlorantraniliprole (R-CHL) was performed by using F2 screen from a population collected in Itiquira, Mato Grosso State in 2020/21 growing season. After 10 generations of selection pressure with increasing doses from the diagnostic dose up to 2.85  $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$ , the resistance ratio (RR) of R-CHL to chlorantraniliprole was 142-fold. From reciprocal crosses between the susceptible and R-CHL lines, the inheritance pattern of *H. armigera* resistance to chlorantraniliprole was autosomal and incompletely dominant. Backcrosses of heterozygotes with the susceptible strain revealed that resistance of *H. armigera* to chlorantraniliprole is polygenic. There was cross-resistance between chlorantraniliprole and the diamides cyclaniliprole (28 fold), cyantraniliprole (422 fold) and flubendiamide (>20,000 fold). The presence of fitness cost associated with resistance of *H. armigera* to chlorantraniliprole was observed when the larvae were fed an artificial diet, based on parameters of the fertility life table. However, no fitness cost was observed when larvae were fed on soybean leaves. Finally, based on isobologram analysis and evaluation of persistence of biological activity of the insecticides under field conditions, the mixture of chlorantraniliprole and *B. thuringiensis* did not show benefits for managing resistance of *H. armigera* to chlorantraniliprole. The results of this work show a high risk of resistance evolution of *H. armigera* to chlorantraniliprole and other diamides.

Keywords: Insect resistance management, Diamides, Inheritance pattern, Mixture of insecticides

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Sobrevivência de *H. armigera* na dose diagnóstica de 0,99 µg i.a. cm<sup>-2</sup> de chlorantraniliprole em populações de campo coletadas na safra 2020/2021 e 2021/2022..... 35
- Figura 2. Dominância da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole em diferentes doses estimada pelo método de Bourguet..... 38
- Figura 3. Tempo de desenvolvimentos e sobrevivência das fases de ovo, larva, pupa e ovo-adulto das linhagens resistente (R-CHL), suscetível (S-CHL) e heterozigota (H1) de *H. armigera* em a) dieta artificial e b) Folhas de soja não-Bt. Colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey. (P>0,05)..... 42
- Figura 4. Curva de dose-resposta da mistura de diferentes proporções de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* na linhagem suscetível (LAB-SUS) de *H. armigera*..... 47
- Figura 5. Isoblograma da mistura de diferentes proporções de chlorantraniliprole: *B. thuringiensis* (chl:Bt) na linhagem suscetível (LAB-SUS) de *H. armigera*..... 47
- Figura 6. Isoblograma com ajuste do modelo de concentração aditiva das misturas nas proporções 50:50, 66:33 e 75:25 de chlorantraniliprole: *B. thuringiensis*, respectivamente, na linhagem suscetível (LAB-SUS) de *H. armigera*..... 48
- Figura 7. Isoblograma com ajuste do modelo de Hewlett das misturas nas proporções 33:66 e 25:75 de chlorantraniliprole: *B. thuringiensis*, respectivamente, na linhagem suscetível (LAB-SUS) de *H. armigera*..... 48
- Figura 8. Curva de dose-resposta da mistura de diferentes proporções de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* na linhagem resistente (R-CHL) de *H. armigera*.  
..... 50
- Figura 9. Isoblograma com ajuste do modelo de concentração aditiva das misturas de diferentes proporções de chlorantraniliprole: *B. thuringiensis* na linhagem resistente (R-CHL) de *H. armigera*. ..... 50
- Figura 10. Regressão polinomial da persistência dos tratamentos isolados e de mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis*, ao longo de 21 dias de avaliação na linhagem suscetível de *H. armigera* (LAB-SUS). ..... 52
- Figura 11. Regressão polinomial da persistência dos tratamentos isolados e de mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis*, ao longo de 21 dias de avaliação na linhagem resistente de *H. armigera* (R-CHL)..... 53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Código da população, localização, cultura hospedeira e data da coleta das populações utilizadas no monitoramento da suscetibilidade de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole. ....	26
Tabela 2. Tratamentos e doses utilizadas no experimento de persistência da mistura de chlorantraniliprole e <i>B. thuringiensis</i> no manejo de <i>H. armigera</i> em condições de campo. ....	34
Tabela 3. Resposta a seleção da linhagem resistente de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole (R-CHL) exposta à dose diagnóstica de 0,99 µg i.a. cm <sup>-2</sup> de chlorantraniliprole. ....	36
Tabela 4. Dose-resposta das linhagens suscetível (LAB-SUS), heterozigotas (H1 e H2) e resistente (R-CHL) de <i>H. armigera</i> a chlorantraniliprole. ....	37
Tabela 5. Análise de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) baseada na mortalidade observada e esperada dos retrocruzamentos oriundos dos heterozigotos H1 e H2 com a linhagem LAB-SUS de <i>H. armigera</i> em 8 concentrações ....	39
Tabela 6. Resposta da linhagem suscetível (LAB-SUS) e resistente (R-CHL) de <i>H. armigera</i> exposta a bioensaio de dose-resposta com outras diamidas. ....	40
Tabela 7. Parâmetros biológicos das linhagens suscetível (S-CHL), heterozigota (H1) e resistente (R-CHL) de <i>H. armigera</i> alimentadas em dieta artificial e folhas de soja não-Bt. ....	43
Tabela 8. Tabela de vida de fertilidade das linhagens suscetível (S-CHL), heterozigota (H1) e resistente (R-CHL) de <i>H. armigera</i> alimentadas em dieta artificial e soja não-Bt. ....	44
Tabela 9. Valores da DL <sub>50</sub> de chlorantraniliprole e <i>B. thuringiensis</i> estimados para as linhagens de <i>H. armigera</i> suscetível (LAB-SUS) e resistente (R-CHL) a chlorantraniliprole. ....	45
Tabela 10. Quantidade de ingrediente ativo (µg i.a. cm <sup>-2</sup> ) das 8 proporções da mistura de chlorantraniliprole e <i>B. thuringiensis</i> , em função da DL <sub>50</sub> de cada ingrediente ativo isolado, para a linhagem suscetível de <i>H. armigera</i> (LAB-SUS). ...	46
Tabela 11. Quantidade de ingrediente ativo (µg i.a. cm <sup>-2</sup> ) das 5 proporções da mistura de chlorantraniliprole e <i>B. thuringiensis</i> , em função da DL <sub>50</sub> de cada ingrediente ativo isolado, para a linhagem resistente de <i>H. armigera</i> (R-CHL). ....	49
Tabela 12. Média percentual de mortalidade de <i>H. armigera</i> submetidos aos tratamentos isolados e de mistura de chlorantraniliprole e <i>B. thuringiensis</i> na linhagem suscetível (LAB-SUS) nas diferentes datas de avaliação após a pulverização. ....	51

Tabela 13. Média percentual de mortalidade de *H. armigera* submetidos aos tratamentos isolados e de mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* na linhagem resistente (R-CHL) nas diferentes datas de avaliação após a pulverização.  
..... 52

## 1. INTRODUÇÃO

A evolução da resistência de insetos-praga a inseticidas é um dos principais desafios de um programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP), podendo comprometer a sustentabilidade de sistemas agrícolas (DAVID, 2021; DOUGLAS, 2018). O uso contínuo e intensivo de um mesmo agente de controle tem acarretado na seleção de indivíduos resistentes, refletindo no aumento do número de casos de resistência reportados mundialmente nos últimos anos (APRD, 2023; SPARKS *et al.*, 2021). No Brasil, o sistema de produção intensivo de cultivos tem propiciado condições favoráveis para o desenvolvimento de insetos-praga, resultando em um maior uso de inseticidas e outros agentes de controle (POZEBON *et al.*, 2020).

Um dos insetos-praga presentes no sistema agrícola brasileiro tem sido *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), uma praga de grande importância em diversas regiões do mundo e detectada oficialmente no Brasil em 2013 (CZEPAK *et al.*, 2013). Dentre as características que permitem o sucesso evolutivo de *H. armigera* como praga, deve ser destacado a polifagia, que possibilita a diversificação dos genes relacionados a enzimas de desintoxicação de ingredientes ativos (HARDY *et al.*, 2018; PEARCE *et al.*, 2017), promovendo uma maior tolerância a inseticidas quando comparado a outras espécies de insetos-praga (MACHADO *et al.*, 2022). Além disso, as características bioecológicas desta praga, como a alta capacidade de dispersão, alto potencial reprodutivo e um curto ciclo ovo-adulto, favorecem a sua capacidade de adaptação em diferentes ambientes (ALI *et al.*, 2009; FITT, 1989; REED, 1965). Essas características fazem com que *H. armigera* tenha uma plasticidade adaptativa a variadas pressões ambientais exercidas sobre essa espécie (WANG *et al.*, 2017).

No Brasil, o manejo de *H. armigera* tem sido realizado principalmente com a utilização de inseticidas químicos e plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae) (Bt). Apesar da alta adoção da soja Bt para o controle de *H. armigera* (HORIKOSHI *et al.*, 2021b), o controle químico ainda tem sido utilizado para o controle desta praga (POZEBON *et al.*, 2020). O uso intensivo de inseticidas para o controle de *H. armigera* tem acelerado a evolução de resistência no Brasil, com casos já documentados para os grupos das spinosinas, diamidas, oxadiazinas e piretroides (ABBADE-NETO *et al.*, 2022; DURIGAN, 2018; DURIGAN *et al.*, 2017; SILVA,

2019). Desta forma, há um alto risco da evolução da resistência desta praga a outros inseticidas ainda efetivos. Portanto, estratégias de manejo da resistência devem ser adotadas para preservar os inseticidas recomendados para o controle de *H. armigera*.

Dentre os inseticidas mais utilizados no controle de *H. armigera*, destaca-se o grupo químico das diamidas, que representa 12% do mercado mundial de inseticidas sintéticos (SPARKS *et al.*, 2019, 2020). As diamidas possuem eficácia elevada para o controle de diversos lepidópteros-praga (LAHM; CORDOVA; BARRY, 2009), apresentam seletividade a inimigos naturais (BRUGGER *et al.*, 2010) e possuem baixa toxicidade a mamíferos (CORDOVA *et al.*, 2006). Estes inseticidas possuem um modo de ação único, atuando na homeostase de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) nas células dos músculos esqueléticos. Os inseticidas do grupo das diamidas se ligam aos receptores de rianodina (RyR), localizados na membrana do retículo endo/sarcoplasmático. A ligação das diamidas no RyR ocorre de forma irreversível, mantendo o canal de rianodina aberto de forma constante, promovendo o efluxo de cálcio do lúmen do retículo endo/sarcoplasmático para o citoplasma celular. Isso faz com que ocorra um desequilíbrio da homeostase de cálcio na célula, resultando em paralisia devido à contração muscular, cessamento da alimentação e consequentemente, a morte do inseto (CORDOVA *et al.*, 2006). Este grupo tem sido utilizado para o controle de *H. armigera* desde a sua detecção no Brasil, sendo um dos grupos químicos registrados em caráter emergencial (EMBRAPA, 2013). Estudos tem mostrado o decréscimo na suscetibilidade a diamidas em populações de *H. armigera* do Brasil das safras de 2013 a 2018 (PEREIRA *et al.*, 2020). Posteriormente, uma linhagem de *H. armigera* resistente ao inseticida flubendiamide (diamida derivado de ácido ftálico) foi selecionada em condições de laboratório a partir de uma população coletada no Estado da Bahia na safra 2019 (ABBADENETO *et al.*, 2022). Essa linhagem apresentou uma alta razão de resistência a flubendiamide (> 50.000 vezes) e ausência de resistência cruzada com o inseticida chlorantraniliprole (diamida antranílica).

Dentre os ingredientes ativos do grupo das diamidas, chlorantraniliprole é uma das opções para manejo de insetos-praga no Brasil, sendo utilizado tanto em pulverizações foliares como em tratamento de sementes (GNAMM *et al.*, 2012). A utilização dessas duas vias de aplicação em conjunto promove uma alta pressão de seleção em insetos-praga. Nesse sentido, apesar de sua alta eficácia, já há estudos

que relatam resistência a chlorantraniliprole no Brasil em *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) (RIBEIRO *et al.*, 2014), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (BOLZAN *et al.*, 2019; OKUMA *et al.*, 2022) e *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) (LEITE *et al.*, 2020). Para *H. armigera* ainda não há relatos de resistência a chlorantraniliprole no Brasil.

Uma das principais estratégias de manejo da resistência tem sido a utilização de inseticidas de diferentes grupos químicos em esquema de rotação ou mistura de compostos com diferentes modos de ação (SOUTH; HASTINGS, 2018; SPARKS *et al.*, 2021). A combinação de ingredientes ativos tem sido uma prática muito comum realizada pelos agricultores no Brasil (GAZZIERO, 2015). Este tipo de estratégia pode ser explorada dentro do manejo de resistência, porém algumas premissas devem ser observadas, como o princípio de mortalidade redundante, persistência idêntica dos ingredientes ativos no campo, baixa frequência de resistência a ambos os ingredientes ativos e, obrigatoriamente, herança da resistência recessiva (CURTIS, 1985). Desta forma, assume-se que a frequência de indivíduos com resistência aos dois compostos é bastante baixa. O estudo de mistura entre inseticidas químicos e biológicos tem sido realizado em pragas, tais como em *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), *S. frugiperda*, *P. xylostella* e *H. armigera*, e em alguns casos se mostra uma alternativa promissora no controle de insetos-praga (ABID *et al.*, 2020; AMIZADEH *et al.*, 2015; SHABBIR *et al.*, 2021; VITERI; LINARES; FLORES, 2018). Além disso, é necessário conhecer se há efeito sinérgico ou antagônico entre os compostos em diferentes proporções de cada inseticida na mistura (BORGERT *et al.*, 2001; RITZ; STREIBIG; KNISS, 2021).

No Brasil, aproximadamente 20% dos produtos comerciais recomendados para o controle de *H. armigera* são misturas de inseticidas (AGROFIT, 2023). Entretanto, a combinação de inseticidas químicos e biológicos tem sido pouco explorada, ao passo que não existe nenhuma formulação deste tipo registrada para o manejo de *H. armigera*. A mistura de chlorantraniliprole com *B. thuringiensis* var. *kurstaki* para o controle de *H. armigera* tem se mostrado sinérgica (WAKIL *et al.*, 2012) e patentes que destacam a interação positiva destes dois ingredientes ativos já foram registradas (BRANSCOME *et al.*, 2016a).

A fim de compreender o potencial risco de evolução da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole e avaliar o potencial uso da mistura com *B. thuringiensis*, o presente estudo teve como objetivos, i) monitorar a suscetibilidade

de *H. armigera* ao inseticida chlorantraniliprole em populações coletadas em diferentes regiões agrícolas do Brasil, ii) selecionar uma linhagem de *H. armigera* resistente a chlorantraniliprole para caracterizar o padrão de herança da resistência, iii) avaliar a resistência cruzada entre chlorantraniliprole e outras diamidas (flubendiamide, cyantraniliprole e cyclaniliprole), iv) avaliar o custo adaptativo associado à resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole e v) avaliar a mistura de chlorantraniliprole com o inseticida biológico *B. thuringiensis* var. *kurstaki* como estratégia de manejo da resistência.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Resistência de *H. armigera* a inseticidas

*Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada uma das pragas de maior importância agrícola no mundo, com ampla distribuição entre os países do velho mundo (FITT, 1989; TAY *et al.*, 2017; ZALUCKI *et al.*, 1986). Recentemente, houve invasão desta praga no continente americano, com os primeiros relatos oficiais no Brasil em 2013, e subseqüentemente na Argentina, Paraguai e Uruguai (ARNEMANN *et al.*, 2016; CZEPAK *et al.*, 2013; MURÚA *et al.*, 2014; SPECHT *et al.*, 2013). Há estudos que sugerem que esta praga invadiu a América do Sul entre 2006 e 2008 (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2016; TAY *et al.*, 2017) em múltiplas invasões (LEITE *et al.*, 2014; MASTRANGELO *et al.*, 2014; TAY *et al.*, 2017), mantendo-se em baixas densidades populacionais. Os primeiros surtos populacionais desta praga no Brasil ocorreram entre 2012 e 2014, resultando em perdas econômicas estimadas em mais de 2 bilhões de dólares (LOPES-DA-SILVA *et al.*, 2014).

O sucesso evolutivo de *H. armigera* como praga no Brasil e no mundo está intimamente ligado à característica de polifagia, podendo se alimentar de 161 espécies de plantas hospedeiras, predominantemente das famílias Asteraceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae e Solanaceae (PEARSON, 1958; ZALUCKI *et al.*, 1986). Além disso, o potencial reprodutivo desta praga é elevado, colocando em média de 1500 a 2000 ovos por fêmea, podendo chegar a 3000 ovos, em um período de 10 a 15 dias (KARIM, 2000; REED, 1965). As posturas são feitas sempre no substrato de sua alimentação, como frutos, folhas, flores e talos de planta (EPPO, 1981; WANG; LI, 1984). Apresenta curto ciclo ovo-adulto com duração média de 30 dias, composta por uma fase de ovo de aproximadamente 3 dias, uma fase larval composta por 5 ou 6 ínstarres de aproximadamente 20 dias e uma fase de pupa que ocorre no solo e dura em torno de 10 dias (ALI *et al.*, 2009; FITT, 1989). Na fase adulta esse inseto é capaz de se movimentar por grandes distâncias, sendo possível encontrar indivíduos a 1000 Km do local em que se desenvolveu a fase larval (PEDGLEY, 1985). Por fim, outro fator que favorece o sucesso evolutivo é o cenário de produção agrícola brasileiro, em que há sobreposição de cultivos de soja e

algodão, e uma extensa área de produção de tomate, feijão e outras culturas, favorecendo assim a presença de *H. armigera* durante todo ano.

No mundo já foram relatados um total de 891 casos de resistência de *H. armigera* para 55 ingredientes ativos em diferentes países (APRD, 2023), tais como Paquistão, China, Indonésia, Índia, Austrália e Espanha (AHMAD; ARIF; ATTIQUE, 1997; ARMES *et al.*, 1992; BIRD; DRYNAN; WALKER, 2020; MCCAFFERY; WALKER; TOPPER, 1991; TORRES-VILA *et al.*, 2002; WU; LIANG; GUO, 1997). Os casos reportados de resistência a inseticidas em *H. armigera* incluem moléculas de diferentes grupos químicos, tais como carbamato, organofosforado, piretroide, spinosina, oxadiazina, diamida e a proteínas Bt (BIRD; DRYNAN; WALKER, 2020; DURIGAN, 2018; GUNNING; MOORES; DEVONSHIRE, 1996; KAUR; DILAWARI, 2011; QAYYUM *et al.*, 2015; TANG *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2009).

No Brasil, por sua vez, apesar da praga ter sido detectada oficialmente apenas em 2013, já foram relatados casos de resistência de *H. armigera* a inseticidas. O primeiro caso de resistência de *H. armigera* no Brasil foi relatado em 2017, no qual os autores concluíram que as populações de *H. armigera* presentes no país são resistentes a inseticidas do grupo dos piretroides, com alta relação com o gene *CYP337B3* (DURIGAN *et al.*, 2017). Um ano mais tarde, em 2018, foi relatada em laboratório a seleção de indivíduos resistentes ao inseticida do grupo das oxadiazinas, apresentando uma razão de resistência de 297 vezes quando comparada com a linhagem suscetível de laboratório (DURIGAN, 2018). Em 2019 também foi observada a seleção em laboratório de linhagem resistente a inseticida do grupo das spinosinas, que após 12 gerações de pressão de seleção, apresentou uma razão de resistência de 27 vezes, com herança autossômica, incompletamente dominante e poligênica (SILVA, 2019). Por fim, o último relato de resistência de *H. armigera* no Brasil foi em 2022 para o ingrediente ativo flubendiamide, inseticida do grupo das diamidas derivado do ácido ftálico, onde notou-se uma diminuição da suscetibilidade das populações de campo coletadas entre os anos de 2014 e 2020. Uma linhagem de *H. armigera* resistente a flubendiamide foi selecionada e após 14 gerações de pressão de seleção em laboratório, apresentando razão de resistência > 50.000 vezes e padrão de herança autossômica e completamente dominante (ABBADE-NETO *et al.*, 2022). Essa linhagem resistente a flubendiamide não apresentou resistência cruzada com a diamida antranílica chlorantraniliprole.

A resistência de *H. armigera* a inseticidas frequentemente vem acompanhada de uma desvantagem adaptativa. O estudo do custo adaptativo associado à resistência busca a compreensão de parâmetros de sobrevivência e reprodução dos indivíduos que carregam o gene associado a mesma. Este estudo é realizado em um ambiente com a ausência do agente de seleção (GASSMANN, 2023; GASSMANN; CARRIÈRE; TABASHNIK, 2009). Indivíduos resistentes que apresentam custo adaptativo possuem uma desvantagem competitiva, quando comparados com indivíduos suscetíveis, favorecendo o restabelecimento da suscetibilidade na ausência do agente de pressão de seleção. Estudos com *H. armigera* mostraram a presença de custo adaptativo de linhagem resistente a Cry1Ac em algodão, com redução de mais de 50% na taxa intrínseca de crescimento (BIRD; AKHURST, 2004). Os mesmos autores reportaram custo adaptativo da resistência de *H. armigera* a indoxacarb no período de diapausa dos insetos (BIRD; DRYNAN; WALKER, 2020). Por fim, reduções na taxa intrínseca de crescimento também foram observadas em linhagens resistentes de *H. armigera* a spinosad (WANG *et al.*, 2009) e flubendiamide (ABBADE NETO, 2021) na ausência do agente de seleção, comprovando a importância desses estudos para a implementação de estratégias de manejo da resistência em *H. armigera*.

## **2.2. Resistência de insetos-praga a chlorantraniliprole**

Chlorantraniliprole é uma diamida antranílica que pertence ao grupo 28 da classificação de inseticidas de acordo com o modo de ação do IRAC (IRAC, 2023). Os inseticidas do grupo das diamidas atuam como agonistas seletivos dos receptores de rianodina nas células musculares dos insetos, estimulando a liberação e o esgotamento de cálcio das reservas internas no retículo sarcoplasmático, causando regulação deficiente da função muscular e levando à interrupção da alimentação (CORDOVA *et al.*, 2006). As diamidas apresentam eficácia elevada para uma gama de lepidópteros, incluindo *H. armigera* (LAHM; CORDOVA; BARRY, 2009; TEMPLE *et al.*, 2009), além da vantagem de apresentarem baixa toxicidade a mamíferos (CORDOVA *et al.*, 2006; LAHM; CORDOVA; BARRY, 2009) e seletividade a inimigos naturais (BRUGGER *et al.*, 2010).

O uso indiscriminado e constante de chlorantraniliprole resultou em diversos casos de resistência devido à intensa pressão de seleção (BOLZAN *et al.*, 2019;

RODITAKIS *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2021; WU *et al.*, 2014). No mundo já foram relatados 218 casos de resistência a chlorantraniliprole em 11 espécies diferentes, com destaque para *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), da qual existem 66 casos relatados (APRD, 2023). No caso de *H. armigera* existem apenas dois casos de resistência reportados na literatura, ambos relatados na China, sendo o primeiro em 2020, onde os autores encontraram uma população de campo com uma razão de resistência de 20 vezes (TANG *et al.*, 2021) e o segundo em 2021 com relato de uma população de campo com uma razão de resistência de 35 vezes (WANG *et al.*, 2021). Provavelmente, maiores razões de resistência para *H. armigera* ainda não foram relatadas devido à dificuldade para manter linhagens resistentes a esse princípio ativo em laboratório (BIRD; DRYNAN; WALKER, 2017).

No Brasil existem 15 casos de resistência a chlorantraniliprole relatados para 4 espécies (APRD, 2023). Foram observadas populações de campo de *P. xylostella* com razão de resistência de 27 vezes, em um cultivo do gênero *Brassica* (RIBEIRO *et al.*, 2014) e de *Tuta absoluta* com razão de resistência de >1.000.000 vezes, com padrão de herança autossômica, completamente recessiva e monogênica (SILVA *et al.*, 2018). Posteriormente, foi relatado um caso de resistência de *S. frugiperda* selecionada em laboratório, com uma razão de resistência de 250 vezes e padrão de herança autossômica, incompletamente recessiva e monogênica (BOLZAN *et al.*, 2019). E por último, autores encontraram populações de *L. coffeella* em cultivos de café na Bahia, com uma razão de resistência de 10 a 40 vezes (LEITE *et al.*, 2020). No caso de *H. armigera*, não foi observado nenhum caso de resistência a chlorantraniliprole. Entretanto, foi relatada uma diminuição na suscetibilidade a chlorantraniliprole de populações de campo do Brasil desde a detecção oficial de *H. armigera* em 2013 até 2018, que variaram de 0% a 29,59% de sobrevivência (PEREIRA *et al.*, 2020).

Diversos mecanismos de resistência a chlorantraniliprole já foram relatados na literatura. Estudos sugerem que para *P. xylostella* a superexpressão do gene de citocromo P450 *CYP6BG1* pode contribuir para a resistência a chlorantraniliprole em populações com razão de resistência  $\approx$  200 vezes (LI *et al.*, 2018). No caso de *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae), autores encontraram que a super expressão do gene citocromo P450 monoxidase está ligada à resistência a chlorantraniliprole, resultando em razão de resistência de  $\approx$  100 vezes (SUN *et al.*, 2018). Mutações também foram relacionadas com a resistência de insetos a

chlorantraniliprole. Em *S. frugiperda* a mutação I4734M foi relacionada a uma razão de resistência de 250 vezes, com baixa resistência cruzada com cyantraniliprole (27 vezes) e alta para flubendiamide (>42.000 vezes) (BOAVENTURA *et al.*, 2020; BOLZAN *et al.*, 2019). Também para *S. frugiperda*, a mutação I4790M/K foi reportada conferindo razão de resistência >4.464 vezes para flubendiamide e resistência cruzada a chlorantraniliprole (713 vezes) e cyantraniliprole (6.400 vezes) (OKUMA *et al.*, 2022). Para *P. xylostella*, a mutação G4946E conferiu uma alta razão de resistência a chlorantraniliprole (>10.000), flubendiamide (>10.000) e cyantraniliprole (2.647 vezes) (STEINBACH *et al.*, 2015), enquanto que as mutações E1338D e Q4594L em conjunto conferiram uma razão de resistência de 2.128 vezes para chlorantraniliprole (GUO *et al.*). Já para *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), a mutação Y4667C/D associada a enzima esterase foram relacionadas à resistência a chlorantraniliprole com razão de resistência de 644 vezes (SHAH; SHAD, 2021).

### **2.3. Mistura de inseticidas como estratégia de manejo da resistência**

As estratégias de manejo da resistência podem ser por moderação, saturação e/ou ataque múltiplo (GEORGHIOU, 1983). Na estratégia de ataque múltiplo, destacam-se a rotação e a mistura de ingredientes ativos. Para a mistura de ingredientes ativos como estratégia de manejo de resistência de insetos, algumas premissas devem ser obedecidas, tais como: i) ausência de resistência cruzada entre os inseticidas em mistura; ii) frequência de resistência a ambos os ingredientes ativos deve ser baixa no campo; iii) a herança da resistência tem que ser recessiva para pelo menos um dos inseticidas em mistura; iv) não se deve diminuir a dose de bula dos ingredientes ativos, pois isso influencia no desempenho dos produtos no campo e; v) os produtos devem apresentar a mesma persistência no campo, pois caso contrário favorece a evolução da resistência ao produto com atividade biológica desfavorecida (CURTIS, 1985; MANI, 1985). A mistura de inseticidas tem sido pouco explorada pois há carência de informações do efeito em populações de campo (CLAIR *et al.*, 2020; ROUSH, 1998) e poucos são os estudos com linhagens resistentes.

Um estudo realizado por GAZZIERO (2015) mostrou que a prática de mistura de produtos fitossanitários é comum nas propriedades rurais brasileiras, sendo

realizada em 97% das propriedades rurais. Esta prática acontecia mesmo antes de 2017, quando no Brasil foi aprovada a portaria do MAPA, número 148, de 26 de dezembro de 2017, que permitiu a mistura de produtos fitossanitários em um mesmo tanque de pulverização, sob responsabilidade do profissional habilitado (MAPA, 2018).

O controle químico com inseticidas é uma das principais táticas de controle de insetos-praga. Em média são realizadas por safra de sete a nove aplicações de inseticidas químicos na cultura do algodão, quatro a doze na cultura do milho e de duas a três na cultura da soja, variando de acordo com a tecnologia Bt utilizada (Informação pessoal, Spark Smarter Decisions). Outra forma de manejo é a utilização de produtos biológicos, opção que vem ganhando espaço em culturas de pequena e larga escala no Brasil, com vários exemplos de sucesso (PARRA, 2014a; PARRA; COELHO, 2019). A integração destas práticas é interessante para o manejo integrado de pragas e o manejo de resistência de insetos.

Há alguns estudos que avaliaram a interação de ingredientes ativos em mistura de tanque, evidenciando a interação sinérgica. É o caso da combinação do inseticida biológico *B. thuringiensis* e do inseticida químico chlorantraniliprole no manejo de *P. xylostella* (SHABBIR *et al.*, 2021), *T. absoluta* (AMIZADEH *et al.*, 2015) e *H. armigera* (SHABBIR *et al.*, 2021). A tendência desta mistura é estar disponível em breve aos produtores, uma vez que existem patentes aprovadas que apresentam o efeito positivo da mistura (BRANSCOME *et al.*, 2016a, 2019). Além da eficácia da mistura, outro fator que deve ser avaliado é a sua persistência no ambiente, pois ambos os inseticidas devem estar interagindo pelo mesmo período (CURTIS, 1985). Caso contrário, aumenta a probabilidade da evolução da resistência.

Na avaliação da eficácia de uma mistura a interação da toxicidade combinada de diferentes proporções deve ser avaliada (BLISS, 1939; BORGERT *et al.*, 2001). Os modelos de concentração aditiva (CA) e de ação independente (AI) são comumente utilizados como referência no diagnóstico de misturas, sendo o primeiro utilizado com ingredientes ativos que não possuem interferência entre si e atuam no mesmo sítio de ação, e o segundo em ingredientes ativos que atuam independente um do outro e possuem sítios de ação diferentes (STREIBIG, 1987). A primeira hipótese que se deve averiguar em uma mistura é a ação conjunta independente dos ingredientes ativos. Ela é aceita caso a toxicidade de cada componente na mistura não seja afetada pela toxicidade do outro componente e, que a

suscetibilidade a um componente da mistura não está relacionada com a suscetibilidade ao outro componente. Caso esta hipótese for negada, devemos considerar o sinergismo ou o antagonismo como resposta. Sinergismo entre produtos ocorre quando a mortalidade real é maior que a mortalidade esperada. Por sua vez, no antagonismo ocorre uma mortalidade menor que a esperada (ROBERTSON *et al.*, 2007).

Os resultados obtidos com os experimentos utilizando os modelos de concentração aditiva podem ser representados por gráficos de isobograma, o qual foi adaptado da farmacologia e introduzido na área de defensivos agrícolas por TAMMES (1964). Esta análise é pouco utilizada na área de entomologia, apesar de já estar amplamente difundida em outras áreas da defesa vegetal, por apresentar resultados conclusivos (NELSON; KURSAR, 1999; TALLARIDA, 2012). Métodos complementares de análise de dados podem ser realizados através do software Polomix® (ROBERTSON *et al.*, 2007), pela análise de Colby (COLBY, 1967), ou pelo índice de combinação (RAMAKRISHNAN; JUSKO, 2001). Entretanto, o método de análise deve ser cuidadosamente estudado para não gerar conclusões equivocadas (TABASHNIK, 1992).



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Coleta em campo e criação em laboratório de *H. armigera*

A linhagem suscetível de referência (LAB-SUS) de *H. armigera* foi coletada no município de Luís Eduardo Magalhães, no estado da Bahia (12° 05' 58" S e 45° 47' 54" O) na cultura do feijão em 2013 e mantida em laboratório por mais de 75 gerações ( $\approx$  10 anos) sem pressão de seleção a inseticidas ou toxinas Bt. Populações de *H. armigera* foram coletadas nas principais regiões produtoras de soja e algodão do Brasil durante as safras 2020/2021 e 2021/2022 (Tabela 1). Cada coleta foi de no mínimo 350 indivíduos, os quais foram enviados ao laboratório em bandejas de 16 células contendo dieta artificial (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976). A identificação molecular das amostras de campo foi realizada com o objetivo de certificar a espécie, por meio da técnica de PCR-RFLP descrita por BEHERE *et al.* (2008).

As lagartas foram individualizadas em copos de 50 ml contendo dieta artificial à base de feijão branco, gérmen de trigo, levedura de cerveja, proteína de soja e caseína (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976) até a fase de pupa. As pupas foram desinfetadas com solução de sulfato de cobre 6,25% e posteriormente acondicionadas conjuntamente em gaiolas de PVC (40 cm de diâmetro x 30 cm de altura) fechada com malha do tipo 'tule' para substrato de oviposição. A cada dois dias a solução de mel, substrato de alimentação dos adultos, foi substituída e o tecido tipo 'tule' com as posturas retirado e acondicionado em copos plásticos de 500 mL até eclosão das neonatas. Diariamente as neonatas foram inoculadas para copos plásticos de 100 mL contendo dieta artificial. Quando atingiam o 3º ínstar, foram repicadas individualmente para copos de 50 mL. Durante todo o ciclo de desenvolvimento os insetos foram mantidos em condições controladas de laboratório, com temperatura de  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

**Tabela 1.** Código da população, localização, cultura hospedeira e data da coleta das populações utilizadas no monitoramento da suscetibilidade de *H. armigera* a chlorantraniliprole.

<b>Código da população</b>	<b>Localização</b>	<b>Latitude e longitude</b>	<b>Cultura</b>	<b>Data da coleta</b>
LAB-SUS	Luis Eduardo Magalhães - BA	12° 05' 58"; 45° 47' 54"	Feijão	Set. 2013
<b>Safra 2020/2021</b>				
MT 1	Primavera do Leste - MT	15° 25' 23"; 54° 22' 12"	Soja	Nov. 2020
GO 1	Cristalina – GO	16° 26' 59"; 47° 39' 41"	Soja	Jan. 2021
MT 2	Itiquira - MT	17° 09' 36"; 54° 45' 21"	Soja	Fev. 2021
MT 3	Sorriso - MT	12° 28' 17"; 55° 40' 18"	Algodão	Abr. 2021
MS 1	Chapadão do Sul - MS	18° 44' 28"; 52° 33' 27"	Algodão	Mai.2021
<b>Safra 2021/2022</b>				
MS 2	Costa Rica - MS	18° 12' 41"; 53° 12' 17"	Nabo forrageiro	Nov. 2021
BA 1	Correntina - BA	11° 45' 04"; 45° 46' 34"	Soja	Nov. 2021
GO 2	Luziânia - GO	16° 29' 01"; 47° 54' 47"	Nabo forrageiro	Nov. 2021
MT 4	Lucas do Rio Verde - MT	13° 41' 16"; 56° 01' 40"	Algodão	Dez. 2021
MS 3	Costa Rica - MS	18° 20' 19"; 52° 50' 20"	Soja	Dez. 2021

### 3.2. Monitoramento da suscetibilidade de *H. armigera* a chlorantraniliprole

O monitoramento da suscetibilidade de *H. armigera* a chlorantraniliprole (Prêmio® 200 g/L, FMC Química do Brasil Ltda, SP, Brasil) foi realizado com populações de campo coletadas na safra 2020/2021 e 2021/2022 (Tabela 1). Para a realização do monitoramento, foi utilizado o método de bioensaio de ingestão mediante contaminação da superfície da dieta artificial com diferentes concentrações do inseticida. Para tanto, foram utilizadas placas de acrílico de 24 células (Costar®), com área de 1,9 cm<sup>2</sup>/célula e em cada célula foram vertidos cerca de 1,25 mL de dieta artificial. Após a secagem da dieta, foi aplicado um volume de 30 µL de chlorantraniliprole na dose diagnóstica de 0,99 µg i.a. cm<sup>-2</sup> acrescida de surfactante (Triton® X-100, Labsynth SP, Brasil) na concentração de 0,1%, para obter uma distribuição uniforme da solução sobre a superfície da dieta gelificada (PEREIRA *et*

al. 2020). Após secagem do inseticida, foram inoculados aproximadamente 240 insetos de terceiro ínstar de cada uma das populações de campo. Os bioensaios foram realizados entre as gerações F<sub>1</sub> e F<sub>3</sub>, visto que devido à baixa viabilidade de algumas populações, foi necessário aumentar o número de indivíduos pela criação em laboratório. O tratamento controle foi composto por 4 placas de 24 células com aplicação somente de água destilada e surfactante a 0,1%.

As placas acrílicas com os insetos foram seladas e mantidas em uma câmara climatizada com condição controlada de temperatura (25 ±1 °C), umidade relativa (70 ± 10%) e fotofase (14 horas). A avaliação da mortalidade foi realizada 96 horas após as infestações, sendo consideradas mortas lagartas que não apresentavam movimentos vigorosos ao serem estimuladas com pincel de ponta fina de cerdas. O teste de Dunnett ( $P > 0,05$ ) para verificar se há diferenças entre as médias de sobrevivências na dose diagnóstica de chlorantraniliprole das populações testadas com a média da linhagem LAB-SUS.

### **3.3. Seleção de linhagem de *H. armigera* resistente a chlorantraniliprole**

A seleção da linhagem resistente de *H. armigera* a chlorantraniliprole (R-CHL) foi realizada pelo método de F<sub>2</sub> screen (ANDOW; ALSTAD, 1998) da população advinda de Itiquira – MT (MT 2). A formação de isofamílias foi feita mediante isolamento de adultos em casais mantidos em gaiolas de PVC (20 cm altura × 10 cm diâmetro). A progênie de cada isofamília (geração F<sub>1</sub>) foi criada isoladamente em bandejas plásticas de 32 células (Advento do Brasil, SP, Brasil), em um número máximo de 128 lagartas. As pupas provenientes de cada isofamília foram colocadas em gaiolas de PVC (40 cm de diâmetro × 30 cm de altura) de maneira que cada gaiola correspondeu a uma isofamília. A progênie de cada isofamília (geração F<sub>2</sub>) foi mantida isolada até o 3º ínstar de desenvolvimento para os bioensaios de ingestão com chlorantraniliprole, conforme descrito anteriormente, sendo testados aproximadamente 120 insetos por isofamília. Os insetos sobreviventes após 96 horas, foram transferidos individualmente para copos de 50 mL com dieta artificial, no qual acompanhou-se seu desenvolvimento até a emergência do adulto. Os adultos que completaram o ciclo foram criados conjuntamente em gaiolas de PVC (40 cm de diâmetro × 30 cm de altura) para a seleção de linhagem resistente, a qual

foi mantida em laboratório sob pressão de seleção com dose crescente a partir da dose diagnóstica até a dose de 2,85 µg i.a. cm<sup>-2</sup> de chlorantraniliprole.

Para observar a resposta da linhagem R-CHL a pressão de seleção, foram realizados bioensaio de dose-resposta da geração F<sub>3</sub> até a geração F<sub>11</sub> para estimativa da DL<sub>50</sub>. Para comparação, foram realizadas curvas dose-resposta para a linhagem LAB-SUS e para a população MT-2. Os dados de sobrevivência obtidos nestes bioensaios foram submetidos à análise de regressão de Probit no software R (R CORE TEAM, 2023), utilizando o pacote MASS, para estimativa das doses letais 50 (DL<sub>50</sub>) e seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%) (VENABLES; RIPLEY, 2013). A razão de resistência foi calculada dividindo a DL<sub>50</sub> da linhagem resistente pela DL<sub>50</sub> da linhagem suscetível (ROBERTSON *et al.*, 2017).

### **3.4. Caracterização do padrão de herança da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole**

A caracterização da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole foi realizada com bioensaios de dose-resposta das linhagens resistente (R-CHL) e suscetível (LAB-SUS). Aproximadamente 500 indivíduos de cada linhagem foram submetidos a bioensaios de ingestão, utilizando-se de seis a oito doses de 0,005 a 15,79 µg i.a. cm<sup>-2</sup> espaçadas logaritmicamente do inseticida chlorantraniliprole, com mortalidade variando de 5 a 95%. Os dados de sobrevivência obtidos nestes bioensaios foram analisados conforme o item 3.3.

Para determinar as bases genéticas da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole, cruzamentos recíprocos entre R-CHL e LAB-SUS foram realizados (H1 e H2) e submetidos a bioensaios de dose-resposta (item 3.3). A análise estatística de *likelihood ratio test* (LRT) e análise de paralelismo e igualdade foi feita para verificar se as linhagens possuem comportamento semelhante. O grau de dominância da resistência (D) foi estimado pela equação proposta por BOURGUET; GENISSEL; RAYMOND (2000), descrita a seguir:

$$D = \frac{MRS - MSS}{MRR - MSS}$$

Sendo MRR, MRS e MSS as mortalidades nas doses testadas da linhagem resistente, heterozigota e suscetível, respectivamente. Valores de D = 1 sugerem

herança completamente dominante,  $D = 0$  sugerem herança completamente recessiva, enquanto valores intermediários sugerem heranças incompletas (BOURGUET; GENISSEL; RAYMOND, 2000).

O método de STONE (1968) também foi utilizado para determinação da dominância da resistência, conforme equação a seguir:

$$D = \frac{2XF - XR - XS}{XR - XS}$$

Sendo XR, XF e XS os valores logarítmicos das DL<sub>50</sub> estimadas da linhagem resistente, heterozigota e suscetível, respectivamente. Valores de  $D = 1$  sugerem herança completamente dominante,  $D = -1$  sugerem herança completamente recessiva, enquanto valores intermediários sugerem heranças incompletas (STONE, 1968).

Para estimar o número de genes envolvidos na resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole, seguiu-se a metodologia proposta por (ROUSH; DALY, 1990) e (TSUKAMOTO, 1983). Ambos os heterozigotos (H1 e H2) foram cruzados com o parental fenotipicamente mais distinto dos heterozigotos (linhagem LAB-SUS) e a prole submetida ao bioensaio de dose-resposta. As concentrações utilizadas foram de 0,002 a 0,5 µg i.a. cm<sup>-2</sup>. A possibilidade de herança monogênica foi avaliada a partir do teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) proposto por (SOKAL; ROHLF, 1995), descrito a seguir:

$$\chi^2 = \frac{(Ni - p ni)^2}{(p q ni)}$$

Sendo  $Ni$  a mortalidade observada na concentração  $i$ ,  $ni$  o número de indivíduos testados,  $q = 1-p$  e  $p$  a mortalidade esperada a partir do modelo mendeliano (GEORGHIOU, 1969), descrita a seguir:

$$p = \frac{(a + b)}{2}$$

Sendo  $a$  a porcentagem de mortalidade da linhagem heterozigota representada por  $a$ , e  $b$  a porcentagem de mortalidade da linhagem parental utilizada. A hipótese de

herança monogênica foi rejeitada quando o  $\chi^2$  calculado foi maior ou igual ao  $\chi^2$  tabelado a 1 grau de liberdade e  $P < 0,05$ .

A estimativa de número de *loci* relacionados a resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole foi calculada a partir de fórmula proposta por LANDE (1981), descrita a seguir:

$$nE = \frac{(XRR - XSS)^2}{(8\sigma_s^2)}$$

Sendo  $XRR$  e  $XSS$  corresponde ao  $\log_{10}$  da  $CL_{50}$  das linhagens R-CHL e LAB-SUS respectivamente, e  $\sigma_s^2 = \sigma_B^2 + \sigma_B^2 - [\sigma_F^2 + 0.5\sigma_{RR}^2 + 0.5\sigma_{SS}^2]$  correspondem as variações fenotípicas estimadas pelo inverso do coeficiente angular ao quadrado dos 2 retrocruzamentos, da linhagem heterozigota, resistente e suscetível.

### 3.5. Resistência cruzada entre chlorantraniliprole e outras diamidas

Para avaliar a resistência cruzada entre chlorantraniliprole e outras diamidas foram utilizados indivíduos de terceiro ínstar das linhagens LAB-SUS e R-CHL. A  $DL_{50}$  de cada linhagem foi estimada a partir de bioensaios de ingestão pelo método de dose-resposta, conforme descrito anteriormente, para cada ingrediente ativo. Foi utilizado concentrações que variaram de 0,005 a 7.578,94  $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$  para o ingrediente ativo flubendiamide (Belt<sup>®</sup>, 480 g a.i.L-1, Bayer S.A., São Paulo, SP, Brasil), de 0,016 a 157,89  $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$  para cyantraniliprole (Benevia<sup>®</sup>, 100 g a.i.L-1, FMC, Campinas, SP, Brasil) e de 0,002 a 0,0505  $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$  para cyclaniliprole (Goemon<sup>®</sup>, 50 g a.i.L-1, ISK, Indaiatuba SP, Brasil). A razão de resistência foi calculada dividindo a  $DL_{50}$  da linhagem resistente pela  $DL_{50}$  da linhagem LAB-SUS para cada ingrediente ativo (ROBERTSON *et al.*, 2017).

### 3.6. Custo adaptativo da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole em dieta artificial e folha de soja não-Bt

O custo adaptativo associado à resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole foi estimado mediante alimentação com dieta artificial e com folhas de soja não-Bt (BMX Potência RR). Para tanto, utilizou-se a geração  $F_{15}$  das linhagens R-CHL e da

linhagem suscetível de referência de mesma composição genética (S-CHL). A linhagem S-CHL foi selecionada pelo método de *F<sub>2</sub> screen* da população MT-2, conforme descrito no item 3.3. Entretanto para estabelecimento da linhagem suscetível de mesma composição genética, foram selecionadas 4 isofamílias que tiveram 100% de mortalidade nos ensaios de dose-resposta com a dose diagnóstica. Lagartas destas 4 isolinhas, que não haviam sido submetidas ao bioensaio, foram utilizadas para montagem da linhagem S-CHL, que foi mantida em laboratório sem pressão de seleção a inseticidas. As linhagens R-CHL e S-CHL foram previamente adaptadas no substrato de alimentação por no mínimo 2 gerações, antes de realização dos ensaios de custo adaptativo. Indivíduos heterozigotos oriundos do cruzamento R-CHL ♂ × S-CHL ♀ também foram utilizados neste ensaio.

Neonatas das linhagens S-CHL, R-CHL e heterozigota foram individualizadas, com auxílio de pincel fino, em placas de plástico de 16 células (Advento do Brasil, São Paulo, Brasil), que continham o devido substrato de alimentação. As placas foram acondicionadas em câmaras climatizadas a  $25^{\circ} \pm 2$  °C,  $65 \pm 10\%$  de umidade e fotofase de 14 horas. O delineamento utilizado inteiramente casualizado com 8 repetições de 16 lagartas cada, totalizando 128 lagartas/linhagem/fonte de alimento. Os parâmetros biológicos avaliados foram a duração do desenvolvimento e sobrevivência das fases de ovo, larva, pupa, período ovo-adulto, peso de lagartas aos 14 dias, peso de pupas de 24 horas, razão sexual, longevidade dos adultos, fecundidade, fertilidade e duração dos períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição. Diariamente realizou-se avaliações para determinar os parâmetros de duração de desenvolvimento e sobrevivência das fases de ovo, larva, pupa e período ovo-adulto. Por sua vez, a longevidade dos adultos, fecundidade, fertilidade, duração dos períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição foram avaliados a partir da formação de 20 casais de cada linhagem. Estes casais foram individualizados em gaiolas de PVC (20 cm altura × 10 cm diâmetro) revestidos com papel A4, com solução de mel (10%) para alimentação e coberta com um 'tule' para oviposição da mariposa. Diariamente foram retiradas as posturas para contabilizar o número de ovos e o número de adultos mortos nas gaiolas. A segunda e a terceira postura de cada casal foi utilizada para aferir a viabilidade dos ovos e o período embrionário, alocando os ovos em copos de 500 mL e logo em seguida, em câmara climatizada a  $25^{\circ} \pm 2$  °C, umidade de  $65 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

Os parâmetros de custo adaptativo das linhagens de *H. armigera* que se alimentaram em dieta artificial e folha de soja não-Bt foram analisados no software R (R CORE TEAM, 2023) inicialmente no pacote *ExpDes*. Os dados obtidos foram submetidos à análise de resíduo para verificação de normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias a partir do teste Shapiro-Wilk e teste de Oneillmathews. Quando necessário os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguindo procedimento PROC GLM. As médias dos tratamentos foram comparadas utilizando o método dos mínimos quadrados ajustados com o teste Tukey (*lsmeans*). A partir do protocolo “*lifetable.sas*” (MAIA *et al.*, 2014) no SAS 9.1 foi confeccionada uma tabela de vida de fertilidade. Nela foram definidos a taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ), o intervalo médio entre gerações (T), a razão finita de crescimento ( $\lambda$ ) e a taxa intrínseca de crescimento ( $r_m$ ). O custo adaptativo relativo foi calculado pela divisão do  $r_m$  da linhagem resistente ou heterozigoto pelo  $r_m$  da linhagem suscetível.

### **3.7. Mistura de inseticidas como estratégia de manejo da resistência de *H. armigera***

A avaliação da mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* (Dipel ES-NT® 250 g/L, Sumitomo Chemical Brasil Indústria Química S.A., CE, Brasil) como estratégia de manejo da resistência de *H. armigera* foram avaliados mediante construção de isobogramas e avaliação da persistência da mistura.

#### **3.7.1. Isobograma**

Curvas de dose-resposta para caracterizar a suscetibilidade das linhagens LAB-SUS e R-CHL foram realizadas com insetos de 3<sup>o</sup> instar para chlorantraniliprole (chl) e *B. thuringiensis* (Bt) para as estimativas da DL<sub>50</sub> de cada inseticida para ambas as linhagens. A partir da DL<sub>50</sub> de cada ingrediente ativo foram realizadas misturas nas proporções (chl:Bt) de 0:1 (0:100), 1:1 (50:50), 1:0 (100:0), 2:1 (66:33), 1:2 (33:66), 3:1 (75:25) e 1:3 (25:75) da DL<sub>50</sub> de cada inseticida e exposto aos insetos pelo método de bioensaio de ingestão por tratamento superficial da dieta, conforme descrito anteriormente. Para cada proporção de mistura foi realizado uma

curva dose-resposta. Os dados de sobrevivência obtidos neste ensaio foram submetidos à análise de regressão de Probit no software R (R CORE TEAM, 2023), utilizando o pacote MASS, para estimativa da DL<sub>50</sub> das misturas e seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%)(VENABLES; RIPLEY, 2013). Finalmente, os resultados foram analisados mediante construção de isobogramas, para observar se existe efeitos de aditividade, sinergismo ou antagonismo entre os componentes da mistura (HUANG *et al.*, 2019; TALLARIDA, 2000; TAMMES, 1964). Foram testados os modelos de concentração aditiva (CA) e Hewlett e Voelund para identificar o padrão de resposta da mistura entre chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* (RITZ; STREIBIG; KNISS, 2021).

### **3.7.2. Persistência da mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis***

Para verificar a persistência de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* em condições de campo, utilizou-se a dose recomendada em bula de cada ingrediente ativo, testados individualmente e em mistura (Tabela 2). As plantas de soja não-Bt (TMG 7662 RR) em estágio vegetativo V5-V6 foram pulverizadas com pulverizador costal de CO<sub>2</sub> em um volume de pulverização de 150 L/hectare, conforme recomendação da bula dos produtos comerciais, com pressão constante e bico tipo leque (XR 110.015). As folhas de soja não-Bt foram coletadas 0, 1, 3, 8, 14 e 21 dias após a pulverização, sempre na altura do 5º nó (folhas que receberam pulverização do inseticida), de baixo para cima, e levadas ao laboratório para serem fornecidas, individualmente, às lagartas de 3º instar de *H. armigera*, em placas de 16 células. Cada célula continha ágar a 2,5% coberto por um papel filtro para manter a umidade do ambiente. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas, com um total de 16 parcelas (15 m<sup>2</sup> cada), divididas em 4 blocos e 6 subparcelas, correspondendo a cada dia de avaliação. Os tratamentos foram compostos por 4 repetições de 16 insetos, totalizando 64 insetos por dia/tratamento. A mortalidade foi avaliada após 7 dias depois da infestação dos insetos nos diferentes tempos de avaliação, sendo consideradas mortas as lagartas que apresentaram movimento descoordenado ao toque de um pincel.

Para análise estatística os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguindo procedimento PROC GLM. As comparações entre os

tratamentos foram realizadas pelas médias dos mínimos quadrados com ajuste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

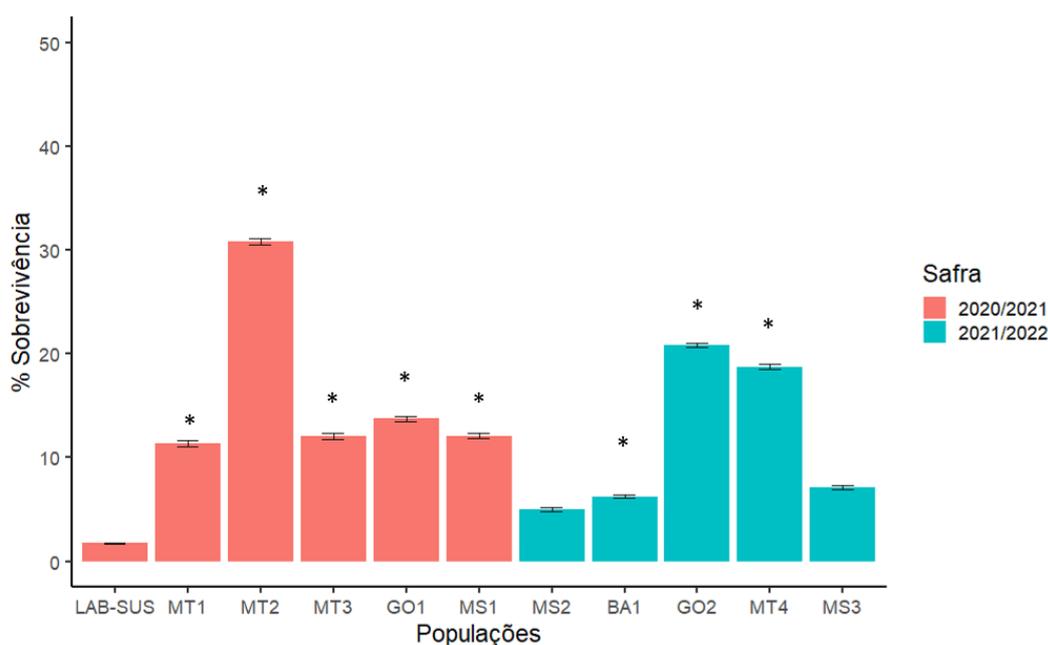
**Tabela 2.** Tratamentos e doses utilizadas no experimento de persistência da mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* no manejo de *H. armigera* em condições de campo.

Tratamentos	Ingrediente ativo	Dose (g. i.a ha <sup>-1</sup> )
1. Controle	-	-
2. Prêmio® + Dipel ES NT®	Chlorantraniliprole + <i>B. thuringiensis</i>	16 + 162,5
3. Dipel ES NT®	<i>B. thuringiensis</i>	162,5
4. Prêmio®	Chlorantraniliprole	16

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Monitoramento da suscetibilidade de *H. armigera* a chlorantraniliprole

Foi observado uma sobrevivência média entre 6,35% e 30,83% na avaliação da suscetibilidade a chlorantraniliprole em populações de *H. armigera* avaliadas entre as safras de 2020/2021 a 2021/2022, utilizando-se de bioensaio de dose diagnóstica (Figura 1). Oito populações apresentaram sobrevivências superiores ao da linhagem suscetível de referência. Apenas as populações coletadas em Costa Rica (MS) não apresentaram diferença significativa. A maior sobrevivência foi encontrada na população MT 2 (30,83%), seguida das populações GO 2 (20,83%) e MT 4 (18,75%).



**Figura 1.** Sobrevivência de *H. armigera* na dose diagnóstica de 0,99  $\mu\text{g}$  i.a.  $\text{cm}^{-2}$  de chlorantraniliprole em populações de campo coletadas na safra 2020/2021 e 2021/2022.

### 4.2. Seleção de linhagem resistente de *H. armigera* a chlorantraniliprole

A partir do método de  $F_2$  screen com a população coletada em Itiquira – MT (MT 2) foram estabelecidas 51 isolinhas, das quais 13 isolinhas (1108 lagartas) foram testadas na geração  $F_2$  na dose diagnóstica de 0,99  $\mu\text{g}$  i.a.  $\text{cm}^{-2}$ . Os

sobreviventes destas isofamílias (142 adultos) foram resgatados para estabelecer a linhagem R-CHL.

Foi observado uma resposta positiva à pressão de seleção, verificando-se aumento gradual na DL<sub>50</sub> para chlorantraniliprole, sendo que na geração F<sub>3</sub> a DL<sub>50</sub> foi de 0,544 µg i.a. cm<sup>-2</sup>, aumentando até 3,125 µg i.a. cm<sup>-2</sup> na geração F<sub>11</sub>. A linhagem LAB-SUS apresentou uma DL<sub>50</sub> de 0,021 µg i.a. cm<sup>-2</sup>. A razão de resistência na geração F<sub>11</sub> foi de 149 vezes (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resposta a seleção da linhagem resistente de *H. armigera* a chlorantraniliprole (R-CHL) exposta à dose diagnóstica de 0,99 µg i.a. cm<sup>-2</sup> de chlorantraniliprole.

Linhagem (geração)	n <sup>a</sup>	Coefficiente angular ± EP	DL <sub>50</sub> (IC 95%) <sup>b</sup>	gl <sup>c</sup>	χ <sup>2</sup> (P) <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
LAB-SUS	432	2,93± 0,22	0,021 (0,019-0,024)	4	1,84(0,76)	-
MT 2 (F <sub>2</sub> )	528	2,50 ± 0,20	0,157 (0,137-0,179)	4	4,10(0,39)	7
R-CHL (F <sub>3</sub> )	492	2,49 ± 0,21	0,544 (0,474-0,624)	4	2,67(0,61)	26
R-CHL (F <sub>5</sub> )	576	2,37 ± 0,18	0,852 (0,747-0,972)	4	1,36(0,85)	41
R-CHL (F <sub>7</sub> )	408	2,52 ± 0,21	0,895 (0,782-1,025)	4	2,78(0,59)	43
R-CHL (F <sub>10</sub> )	444	2,67 ± 0,22	1,566 (1,387-1,768)	4	1,43(0,84)	75
R-CHL (F <sub>11</sub> )	504	2,07 ± 0,16	3,125 (2,690-3,630)	5	1,54(0,90)	149

<sup>a</sup> Número de indivíduos testados

<sup>b</sup> Dose responsável pela mortalidade de 50% dos indivíduos testados em µg i.a./cm<sup>2</sup> e intervalo de confiança a 95%.

<sup>c</sup> grau de liberdade.

<sup>d</sup> qui-quadrado.

<sup>e</sup> Razão de Resistência: DL<sub>50</sub> da linhagem R-CHL/ DL<sub>50</sub> da linhagem S-CHL.

#### 4.3. Caracterização do padrão de herança da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole

O valor da estimativa da DL<sub>50</sub> da linhagem R-CHL (F<sub>12</sub>) após 10 gerações de seleção foi de 2,971 µg i.a./cm<sup>2</sup>, assim como para a linhagem LAB-SUS foi de 0,021 µg i.a./cm<sup>2</sup>, que resultou em uma razão de resistência de 142 vezes. A partir de análise de *likelihood ratio test* rejeitou-se a hipótese H<sub>0</sub>, mostrando que a linhagem R-CHL e LAB-SUS são diferentes (χ<sup>2</sup> = 37,2, g.l. = 1, p<0,01). As estimativas de DL<sub>50</sub> para os heterozigotos H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> foram de 0,562 µg i.a./cm<sup>2</sup> e 0,519 µg i.a./cm<sup>2</sup>,

resultando em uma razão de resistência de 27 e 24 vezes, respectivamente (Tabela 4). A partir de análise de LRT das curvas de dose-resposta das linhagens heterozigotas, foi aceita a hipótese que as linhagens são semelhantes ( $\chi^2 = 0,17$ , g.l.=1,  $p=0,865$ ). Finalmente, o mesmo resultado foi encontrado a partir da hipótese de igualdade e paralelismo ( $\chi^2 = 4,37$ , g.l.= 1,  $p=0,08$ ), onde se aceitou a hipótese nula, ou seja, a resistência não está ligada ao sexo e não há efeito maternal, sendo caracterizada como herança autossômica.

**Tabela 4.** Dose-resposta das linhagens suscetível (LAB-SUS), heterozigotas (H1 e H2) e resistente (R-CHL) de *H. armigera* a chlorantraniliprole.

Linhagem (geração)	n <sup>a</sup>	Coefficiente angular $\pm$ EP	DL <sub>50</sub> (IC 95%) <sup>b</sup>	gl <sup>c</sup>	$\chi^2$ (P) <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
LAB-SUS	432	2,93 $\pm$ 0,22	0,021 (0,019-0,024) a	4	1,84(0,76)	-
R-CHL $\text{\textcircled{f}}$ $\times$ LAB-SUS $\text{\textcircled{m}}$ (H1)	580	1,59 $\pm$ 0,12	0,562 (0,472-0,668) b	6	6,73(0,35)	27
R-CHL $\text{\textcircled{m}}$ $\times$ LAB-SUS $\text{\textcircled{f}}$ (H2)	580	1,56 $\pm$ 0,13	0,519 (0,439-0,614) b	5	2,58(0,76)	24
R-CHL	631	2,39 $\pm$ 0,16	2,971 (2,638-3,346) c	4	4,38(0,36)	142

<sup>a</sup> Número de indivíduos testados

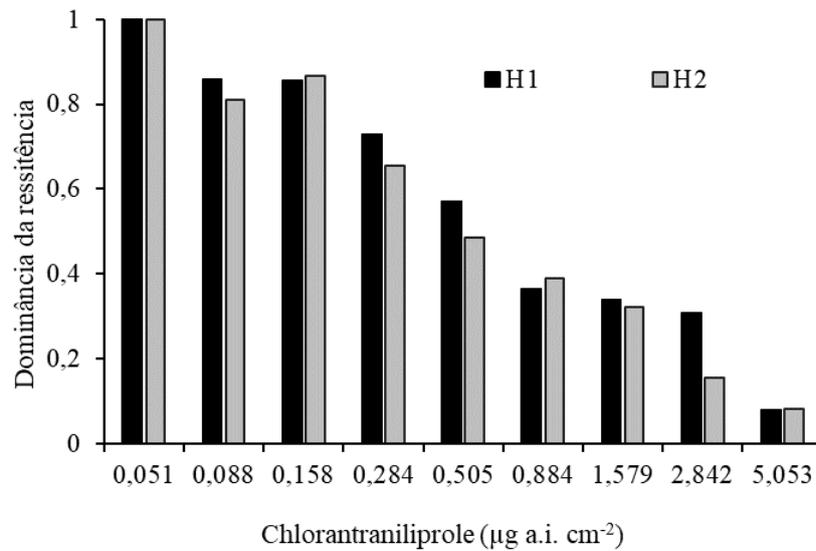
<sup>b</sup> Dose responsável pela mortalidade de 50% dos indivíduos testados em  $\mu\text{g i.a./cm}^2$  e intervalo de confiança a 95%.

<sup>c</sup> grau de liberdade.

<sup>d</sup> qui-quadrado

<sup>e</sup> Razão de Resistência: DL<sub>50</sub> da linhagem R-CHL/ DL<sub>50</sub> da linhagem LAB-SUS.

A partir do método de Bourguet, foi verificado que a dominância da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole é dependente da dose, sendo considerada como incompletamente dominante (DML > 0,60) na dose de bula de chlorantraniliprole. Entretanto a dominância da resistência diminuiu de acordo com o aumento das doses do ingrediente ativo (Figura 2).



**Figura 2.** Dominância da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole em diferentes doses estimada pelo método de Bourguet.

Pelo método de Stone, o grau de dominância dos heterozigotos H1 e H2 foi de 0,32 e 0,29 respectivamente. Esse valor também indica que a resistência a chlorantraniliprole em *H. armigera* é incompletamente dominante.

A mortalidade observada dos retrocruzamentos foi significativamente diferente da esperada pela análise de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) em quase todas as concentrações, rejeitando a hipótese de herança monogênica (Tabela 5). Desta forma, podemos sugerir que a herança da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole é poligênica, ou seja, ligado a mais de um gene. Pela fórmula proposta por LANDE (1981), de 1,18 a 1,3 *loci* contribuem efetivamente na resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole, sugerindo que mesmo com caráter poligênico a resistência está associada a poucos *loci*.

**Tabela 5.** Análise de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) baseada na mortalidade observada e esperada dos retrocruzamentos oriundos dos heterozigotos H1 e H2 com a linhagem LAB-SUS de *H. armigera* em 8 concentrações

Concentração ( $\mu\text{g i.a./cm}^2$ )	n <sup>a</sup>	Mortalidade nos retrocruzamentos		$\chi^2$	P
		Obs. <sup>b</sup>	Esp. <sup>c</sup>		
<b>R1 = ♀ H1 x ♂ LAB-SUS</b>					
0,005	71	4%	1%	4*	0,0411
0,009	72	22%	8%	18*	<0,0001
0,016	72	46%	18%	38*	<0,0001
0,029	72	60%	31%	27*	<0,0001
0,051	72	61%	42%	10*	0,0012
0,089	72	76%	56%	12*	0,0005
0,159	72	82%	57%	18*	<0,0001
0,286	72	89%	64%	20*	<0,0001
<b>R2 = ♀ LAB-SUS x ♂ H1</b>					
0,005	72	8%	1%	25*	<0,0001
0,009	72	25%	8%	26*	<0,0001
0,016	72	22%	18%	1	0,3580
0,029	72	61%	31%	30*	<0,0001
0,051	72	63%	42%	12*	0,0005
0,089	69	74%	56%	9*	0,0031
0,159	72	82%	57%	18*	<0,0001
0,286	72	88%	64%	18*	<0,0001
<b>R3 = ♀ H2 x ♂ LAB-SUS</b>					
0,005	72	17%	1%	123*	<0,0001
0,009	72	24%	8%	22*	<0,0001
0,016	71	37%	18%	17*	<0,0001
0,029	72	63%	31%	33*	<0,0001
0,051	72	58%	42%	8*	0,0060
0,089	72	78%	59%	11*	<0,0001
0,159	72	82%	50%	29*	<0,0001
0,286	72	96%	67%	27*	<0,0001
<b>R4 = ♀ LAB-SUS x ♂ H2</b>					
0,005	72	6%	1%	9*	0,0025
0,009	72	25%	8%	26*	<0,0001
0,016	72	31%	18%	8*	0,0058
0,029	72	43%	31%	5*	0,0306
0,051	68	51%	42%	2	0,1284
0,089	72	72%	59%	5*	0,0196
0,159	72	81%	50%	27*	<0,0001
0,286	72	93%	67%	22*	<0,0001

<sup>a</sup> Número de indivíduos testados

<sup>b</sup> Mortalidade observada nos retrocruzamentos em determinada dose

<sup>c</sup> Mortalidade esperada nos retrocruzamentos em determinada dose

#### 4.4. Resistência cruzada entre chlorantraniliprole e outras diamidas

A resistência cruzada foi verificada entre chlorantraniliprole e outras diamidas testadas. A menor razão de resistência foi encontrada para cyclaniliprole (28 vezes), seguida da diamidas cyantraniliprole (422 vezes) e flubendiamide (23.388 vezes) (Tabela 6).

**Tabela 6.** Resposta da linhagem suscetível (LAB-SUS) e resistente (R-CHL) de *H. armigera* exposta a bioensaio de dose-resposta com outras diamidas.

Linagem	Inseticida	n <sup>a</sup>	Coefficiente angular ± EP	DL <sub>50</sub> (IC 95%) <sup>b</sup>	gl <sup>c</sup>	χ <sup>2</sup> (P) <sup>d</sup>	RR <sup>e</sup>
LAB-SUS	Cyantraniliprole	480	2,70 ± 0,19	0,068 (0,061-0,077)	4	2,34 (0,67)	-
	Cyclaniliprole	444	2,66 ± 0,21	0,006 (0,005-0,007)	4	1,03 (0,90)	-
	Flubendiamide	600	2,34 ± 0,16	0,024 (0,021-0,027)	5	3,98 (0,55)	-
R-CHL	Cyantraniliprole	424	2,26 ± 0,19	28,67 (24,84-33,08)	4	1,66 (0,80)	422
	Cyclaniliprole	384	2,11 ± 0,19	0,166 (0,140-0,195)	4	0,77 (0,94)	28
	Flubendiamide	396	1,17 ± 0,12	561,30 (429,60-733,38)	7	4,27 (0,75)	23.388

<sup>a</sup> Número de indivíduos testados

<sup>b</sup> Dose responsável pela mortalidade de 50% dos indivíduos testados em µg i.a./cm<sup>2</sup> e intervalo de confiança a 95%.

<sup>c</sup> grau de liberdade.

<sup>d</sup> qui-quadrado

<sup>e</sup> Razão de Resistência: DL<sub>50</sub> da linhagem R-CHL/ DL<sub>50</sub> da linhagem LAB-SUS

#### 4.5. Custo adaptativo associado à resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole em dieta artificial e folha de soja não-Bt

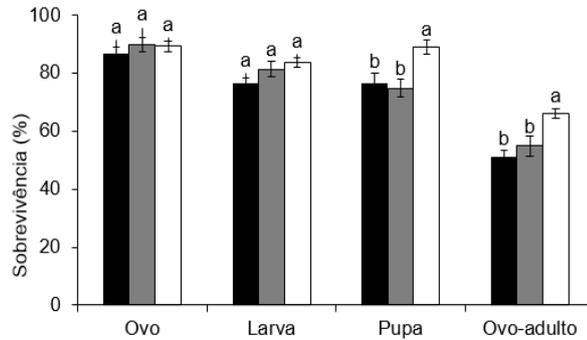
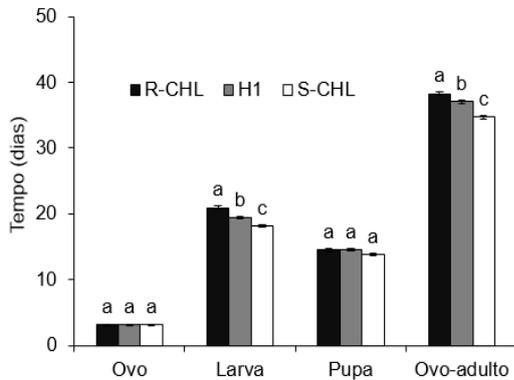
Não houve diferença significativa para o tempo de desenvolvimento de ovo (dieta artificial: F = 1,92; g.l.= 2, P = 0,18 e folhas de soja não-Bt: F = 2,29; g.l.= 2, P = 0,13), nem para a viabilidade da fase de ovo (dieta artificial: F = 0,5; g.l.=2, P =0,61 e folhas de soja não-Bt: F = 4,47; g.l.= 2, P = 0,031) entre as linhagens (Figura 3). O tempo de desenvolvimento de ovo variou entre 3 e 4 dias, e a média da viabilidade na dieta artificial e folha de soja não-Bt foi de 88,6% e de 81%.

O tempo de desenvolvimento do período larval foi diferente entre as linhagens em dieta artificial ( $F = 40,94$ ; g.l.= 2,  $P < 0,001$ ) e em folha de soja não-Bt ( $F = 5,71$ ; g.l.= 2,  $P = 0,015$ ) (Figura 3). Em ambos os substratos de alimentação a linhagem R-CHL apresentou o maior tempo de desenvolvimento larval (dieta artificial:  $>20$  dias; folhas de soja não-Bt:  $>25,5$  dias). Entretanto, quando alimentadas com dieta artificial ou folha de soja não-Bt, não se observou diferença significativa na sobrevivência larval (dieta artificial:  $df = F = 2,49$ ; g.l.=2,  $P = 0,11$  e folhas de soja não-Bt:  $F = 2,05$ , g.l.= 2,  $P = 0,16$ ). A média de sobrevivência do período larval em dieta artificial foi de 80,6% e em folhas de soja não-Bt de 77%.

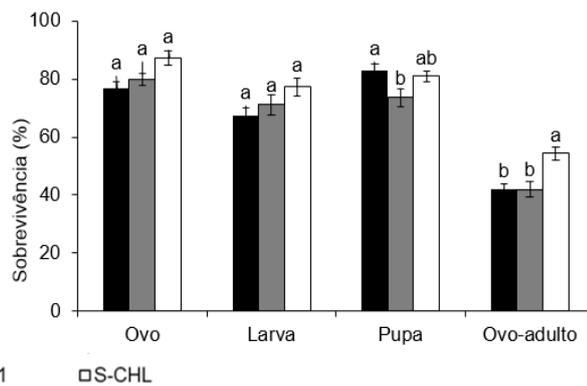
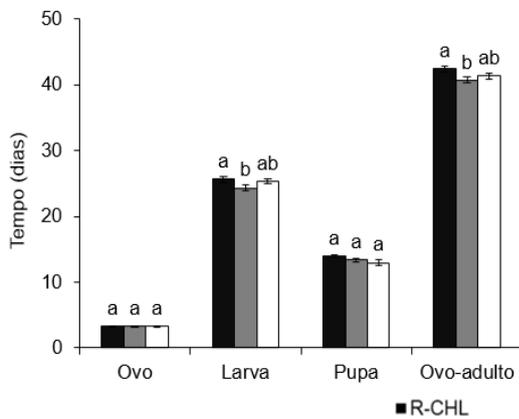
O tempo de desenvolvimento de pupa foi igual entre as linhagens em dieta artificial ( $F = 2,30$ , g.l.=2,  $P = 0,13$ ) e em folha de soja não-Bt ( $F = 1,15$ , g.l.=2,  $P = 0,24$ ) (Figura 3). Em dieta artificial o tempo médio de desenvolvimento foi de 14,3 dias e de 13,42 dias em folha de soja não-Bt. Por sua vez, a sobrevivência das pupas apresentou diferença significativa entre as linhagens em dieta artificial ( $F = 6,04$ , g.l.=2,  $P < 0,05$ ) e em folha de soja não-Bt ( $F = 3,95$ , g.l.=2,  $P = 0,043$ ), com maiores sobrevivências na linhagem S-CHL (89% e 83%, respectivamente).

As duas fontes alimentarem influenciaram significativamente no tempo de desenvolvimento ovo-adulto entre as linhagens, tanto em dieta artificial ( $F = 38,87$ , g.l.= 2,  $P < 0,001$ ), como em folha de soja não-Bt ( $F = 4,24$ , g.l.=2,  $P = 0,036$ ) (Figura 3). A linhagem R-CHL apresentou maior tempo de duração ovo-adulto tanto em dieta artificial ( $>38$  dias), como em folha de soja não-Bt ( $>41,3$  dias). No período ovo-adulto também houve diferença significativa na viabilidade entre as linhagens em dieta artificial ( $F = 8,04$ , g.l.=2,  $P < 0,005$ ), em folha de soja não-Bt ( $F = 10,21$ , g.l.=2,  $P = 0,002$ ). A linhagem S-CHL apresentou a maior sobrevivência do parâmetro ovo-adulto em dieta artificial (66%) e em folha de soja não-Bt (54%).

## a) Dieta artificial



## b) Folha de soja não-Bt



**Figura 3.** Tempo de desenvolvimentos e sobrevivência das fases de ovo, larva, pupa e ovo-adulto das linhagens resistente (R-CHL), suscetível (S-CHL) e heterozigota (H1) de *H. armigera* em a) dieta artificial e b) Folhas de soja não-Bt. Colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey. ( $P > 0,05$ ).

Os parâmetros de peso larval e o peso de pupa não diferiram entre as linhagens em dieta artificial (peso larval:  $F = 2,27$ , g.l.=2,  $P = 0,13$  e peso de pupa:  $F = 0,83$ , g.l.= 2,  $P = 0,45$ ). Diferente do encontrado em folhas de soja não-Bt, a qual teve diferença estatística entre os tratamentos no peso larval ( $F=90,1$ , g.l.= 2,  $P < 0,01$ ) e no peso de pupa ( $F= 5,93$ , g.l.= 2,  $P=0,013$ ). As linhagens R-CHL e H1 apresentaram uma diminuição de aproximadamente 30% no peso larval e aproximadamente 10% no peso de pupa. Em dieta artificial o peso médio foi de 270 mg na fase larval e 297 mg na fase de pupa, enquanto em folhas de soja não-Bt foi de 118 mg e 181 mg, respectivamente (Tabela 7).

**Tabela 7.** Parâmetros biológicos das linhagens suscetível (S-CHL), heterozigota (H1) e resistente (R-CHL) de *H. armigera* alimentadas em dieta artificial e folhas de soja não-Bt.

Linhagens	Peso larval (mg) <sup>a</sup>	Peso de pupa (mg) <sup>b</sup>
<i>Dieta artificial</i>		
S-CHL	284 ± 69,68 a <sup>c</sup>	312,85 ± 7,25 a
H1	281,75 ± 35,03 a	294,33 ± 19,59 a
R-CHL	247,41 ± 82,91 a	287,12 ± 39,15 a
<i>Folhas de soja não-Bt</i>		
S-CHL	148,44 ± 38,91 a	196,36 ± 13,89 a
H1	114,83 ± 18,85 b	170,52 ± 21,12 b
R-CHL	92,29 ± 22,70 b	178,21 ± 15,81 ab

<sup>a</sup>Peso larval aos 14 dias.

<sup>b</sup>Peso de pupa com <24 horas.

<sup>c</sup>Valores representam médias ± desvio padrão. Médias na coluna com as mesmas letras não apresentam diferença significativa (Teste Tukey,  $P > 0.05$ ).

Na tabela de vida de fertilidade as linhagens apresentaram diferenças significativas em dieta artificial e folha de soja não-Bt, que variaram também com o substrato de alimentação. Em dieta artificial, a linhagem S-CHL apresentou os parâmetros de intervalo médio entre gerações ( $T$ ), taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ), taxa intrínseca de crescimento populacional ( $r_m$ ) e razão finita de aumento da população ( $\lambda$ ) com valores superiores para o crescimento populacional, quando comparada com as linhagens R-CHL e H1. O custo adaptativo relativo da linhagem R-CHL e H1 foi de 0,7 e 0,8 respectivamente (Tabela 8).

As linhagens alimentadas em folha de soja não-Bt apresentaram diferença significativa apenas na duração média entre gerações ( $T$ ). Para os parâmetros taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ), taxa intrínseca de crescimento populacional ( $r_m$ ) e razão finita de aumento da população ( $\lambda$ ) todas as linhagens tiveram comportamento igual. Não foi observado custo adaptativo relativo da linhagem R-CHL e H1, evidenciando que no substrato de alimentação natural (folha de soja) não existe desvantagem adaptativa.

Os substratos de alimentação tiveram influência em todos os parâmetros da tabela de vida e fertilidade, onde as linhagens alimentadas em folha de soja não-Bt tiveram um desempenho estatisticamente pior que quando alimentadas em dieta artificial.

**Tabela 8.** Tabela de vida de fertilidade das linhagens suscetível (S-CHL), heterozigota (H1) e resistente (R-CHL) de *H. armigera* alimentadas em dieta artificial e soja não-Bt.

Linhagens	Parâmetros da tabela de vida de fertilidade				Custo adaptativo relativo <sup>c</sup>
	T (dias)	$R_o$ (♀ / ♀)	$r_m$ (♀ / ♀*dias)	$\lambda$	
<i>Dieta artificial</i>					
S-CHL	40,30 ± 0,18 Bc	399,87 ± 38,29 Aa	0,15 ± 0,002 Aa	1,17 ± 0,002 Aa	-
H1	43,15 ± 0,42 Bb	148,09 ± 27,34 Ab	0,12 ± 0,004 Ab	1,11 ± 0,006 Ab	0,8
R-CHL	46,63 ± 0,85 Ba	133,87 ± 27,63 Ab	0,11 ± 0,005 Ab	1,12 ± 0,004 Ab	0,7
<i>Folha de soja não-Bt</i>					
S-CHL	50,56 ± 0,60 Aa	83,36 ± 17,20 Ba	0,08 ± 0,004 Ba	1,09 ± 0,05 Ba	-
H1	48,10 ± 0,50 Ab	50,01 ± 11,02 Ba	0,08 ± 0,005 Ba	1,08 ± 0,05 Ba	1
R-CHL	50,15 ± 0,50 Aa	63,68 ± 11,42 Ba	0,08 ± 0,003 Ba	1,08 ± 0,03 Ba	1

<sup>a</sup>T = duração média de uma geração (dias);  $R_o$  = taxa líquida de reprodução (fêmea/fêmea/geração);  $r_m$  = taxa intrínseca de crescimento (por dia);  $\lambda$  = razão finita de aumento da população (por dia).

<sup>b</sup>Médias dentro da coluna seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ( $P > 0,05$ ) entre tratamentos (letras maiúsculas) e dentro de cada tratamento (letras minúsculas)

<sup>c</sup>Custo adaptativo relativo = ( $r_m$  linhagem resistente ou heterozigota)/(  $r_m$  linhagem suscetível).

#### 4.6. Mistura de ingredientes ativos como estratégia de manejo da resistência de *H. armigera*

##### 4.6.1. Isobograma

Para a linhagem LAB-SUS, a  $DL_{50}$  estimada para chlorantraniliprole foi de 0,021  $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$  e 1,179  $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$  para *B. thuringiensis*. Por sua vez, para a linhagem R-CHL, a  $DL_{50}$  para chlorantraniliprole foi de 2,968  $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$  e 7,405  $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$  para *B. thuringiensis* (Tabela 9).

As  $DL_{50}$  dos ingredientes ativos isolados para a linhagem LAB-SUS foram utilizadas para estabelecer combinações de sete misturas de diferentes proporções de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* (Tabela 10). A linhagem LAB-SUS respondeu as 7 curvas respostas das diferentes proporções da  $DL_{50}$  testadas. Ambas as curvas dos produtos isolados (0:100 e 100:0) estão à direita das curvas das misturas, demonstrando que foi necessária uma quantidade maior de ingrediente ativo dos produtos isolados para obter a mesma mortalidade (Figura 4). Quanto à mistura dos ingredientes ativos, a proporção de chl:bt que teve um melhor desempenho foi a

25:75, a qual está mais à esquerda na Figura 4, representando menores quantidades dos ingredientes ativos para obter as mesmas mortalidades que as outras proporções.

**Tabela 9.** Valores da DL<sub>50</sub> de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* estimados para as linhagens de *H. armigera* suscetível (LAB-SUS) e resistente (R-CHL) a chlorantraniliprole.

Linhagem	Inseticida	n <sup>a</sup>	Coef. angular ± EP	DL <sub>50</sub> (IC 95%) <sup>b</sup>	gl <sup>c</sup>	χ <sup>2</sup> (P) <sup>d</sup>
LAB-SUS	Chlorantraniliprole	432	2,93 ± 0,22	0,021 (0,019-0,024)	4	1,84 (0,76)
	<i>B. thuringiensis</i>	433	2,20 ± 0,20	1,179 (1,014-1,371)	4	7,05 (0,13)
R-CHL	Chlorantraniliprole	631	2,39 ± 0,16	2,968 (2,638-3,346)	4	1,84 (0,76)
	<i>B. thuringiensis</i>	628	1,38 ± 0,10	7,405 (6,171-8,895)	4	7,05 (0,13)

<sup>a</sup> Número de indivíduos testados

<sup>b</sup> Dose responsável pela mortalidade de 50% dos indivíduos testados em µg i.a./cm<sup>2</sup> e intervalo de confiança a 95%.

<sup>c</sup> grau de liberdade.

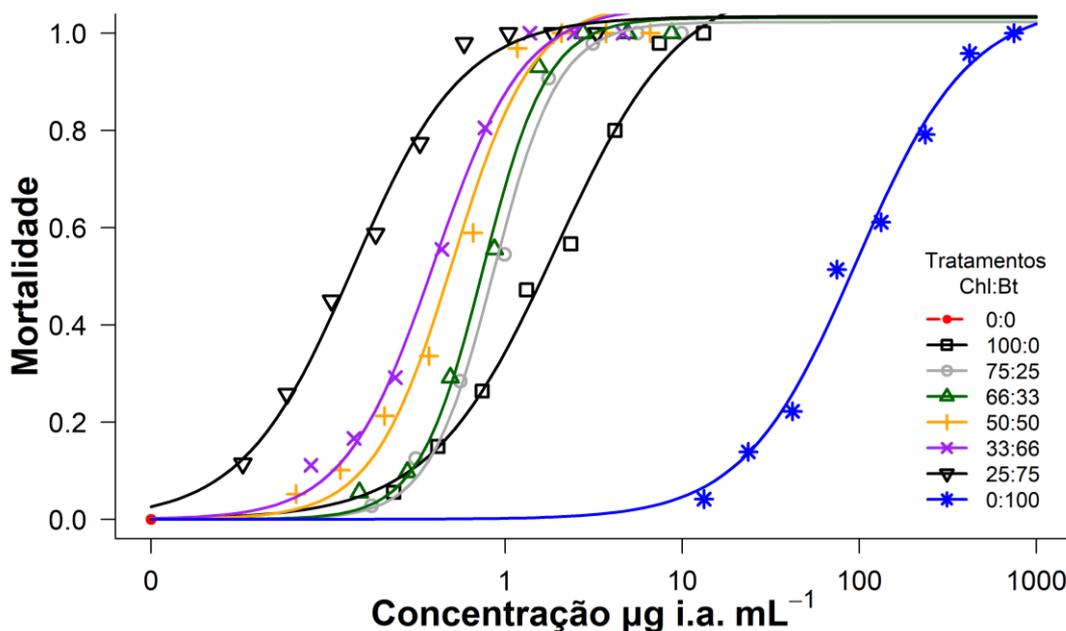
<sup>d</sup> qui-quadrado

Com os resultados das curvas de dose-resposta foi realizado o isoblograma (Figura 5), onde os modelos de concentração aditiva (F= 4,38, g.l.= 5, p<0,05), Hewlett (F= 4,69, g.l.= 4, p<0,05) e Voelund (F= 127,3, g.l.= 3, p<0,05) não se adequaram aos dados. Porém, ao retirar as proporções 33:66 e 25:75 (chl:bt), os dados do isoblograma (Figura 6) se ajustam ao modelo de concentração aditiva (F=0,51, g.l.= 3, p=0,675), ou seja, nas proporções 50:50, 66:33 e 75:25 os ingredientes ativos atuam independentemente. Por sua vez, ao realizar o isoblograma apenas com as proporções 33:66 e 25:75 o modelo de Hewlett (F=0,25, g.l.= 1, p=0,612) se ajustou, comprovando sinergismo destes dois ingredientes ativos em proporções com menores quantidades de chlorantraniliprole (Figura 7).

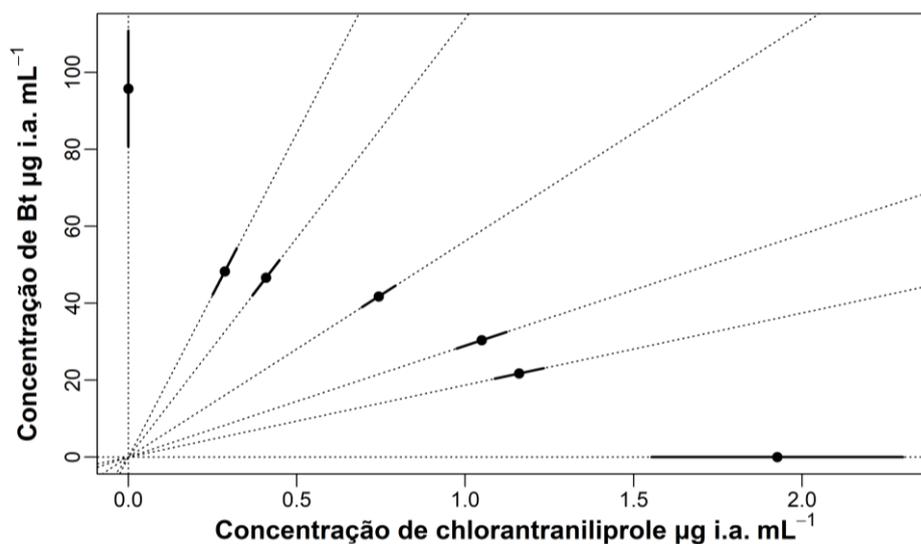
**Tabela 10.** Quantidade de ingrediente ativo ( $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$ ) das 8 proporções da mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis*, em função da  $DL_{50}$  de cada ingrediente ativo isolado, para a linhagem suscetível de *H. armigera* (LAB-SUS).

Proporção (chl:bt)	$10^{\log d - 0,75}$	$10^{\log d - 0,5}$	$10^{\log d - 0,25}$	d	$10^{\log d + 0,25}$	$10^{\log d + 0,5}$	$10^{\log d + 0,75}$	$10^{\log d + 1}$
<b>Chlorantraniliprole (<math>\mu\text{g i.a. cm}^{-2}</math>)</b>								
<b>0:100</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>25:75</b>	0,001	0,002	0,003	0,005	0,009	0,016	0,029	0,052
<b>33:66</b>	0,001	0,002	0,004	0,007	0,012	0,022	0,039	0,069
<b>50:50</b>	0,002	0,003	0,006	0,010	0,019	0,033	0,059	0,104
<b>66:33</b>	0,002	0,004	0,008	0,014	0,024	0,043	0,077	0,138
<b>75:25</b>	0,003	0,005	0,009	0,016	0,028	0,049	0,088	0,156
<b>100:0</b>	0,004	0,007	0,012	0,021 <sup>a</sup>	0,037	0,066	0,117	0,208
<b><i>B. thuringiensis</i> (<math>\mu\text{g i.a. cm}^{-2}</math>)</b>								
<b>0:100</b>	0,210	0,373	0,663	1,179 <sup>a</sup>	2,097	3,729	6,632	11,793
<b>25:75</b>	0,157	0,280	0,497	0,884	1,573	2,797	4,974	8,845
<b>33:66</b>	0,138	0,246	0,438	0,778	1,384	2,461	4,377	7,783
<b>50:50</b>	0,105	0,186	0,332	0,590	1,049	1,865	3,316	5,896
<b>66:33</b>	0,069	0,123	0,219	0,389	0,692	1,231	2,188	3,892
<b>75:25</b>	0,052	0,093	0,166	0,295	0,524	0,932	1,658	2,948
<b>100:0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

<sup>a</sup>  $DL_{50}$  de cada ingrediente ativo (d) utilizada para calcular as outras doses.



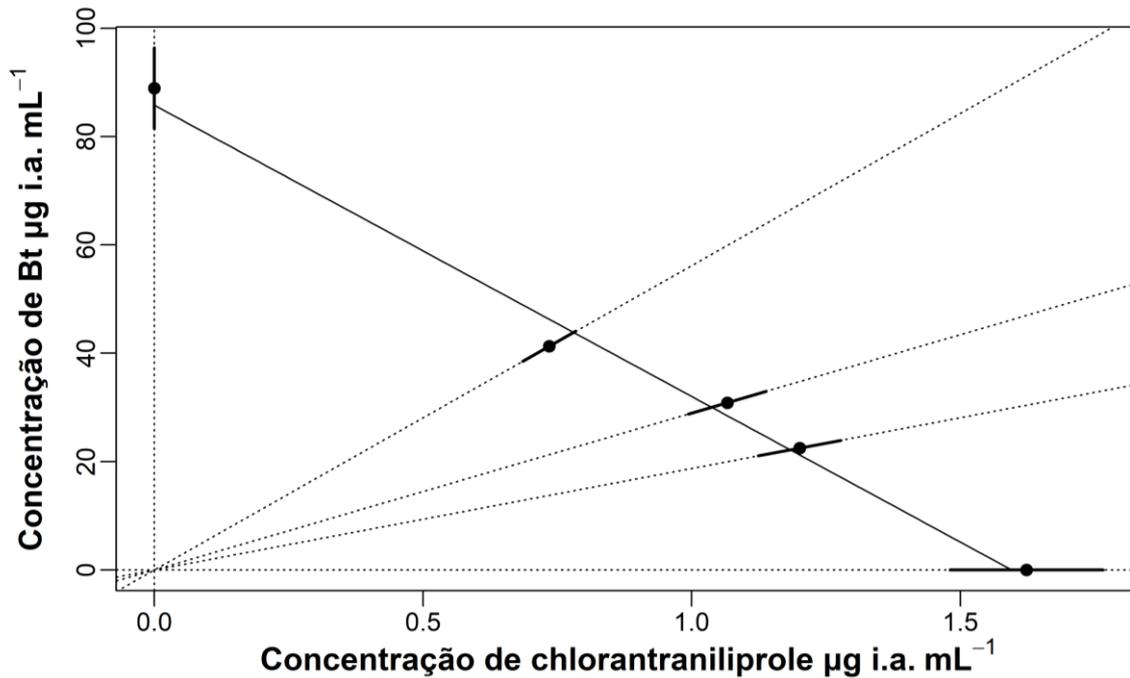
**Figura 4.** Curva de dose-resposta da mistura de diferentes proporções de chlorantranilprole e *B. thuringiensis* na linhagem suscetível (LAB-SUS) de *H. armigera*.



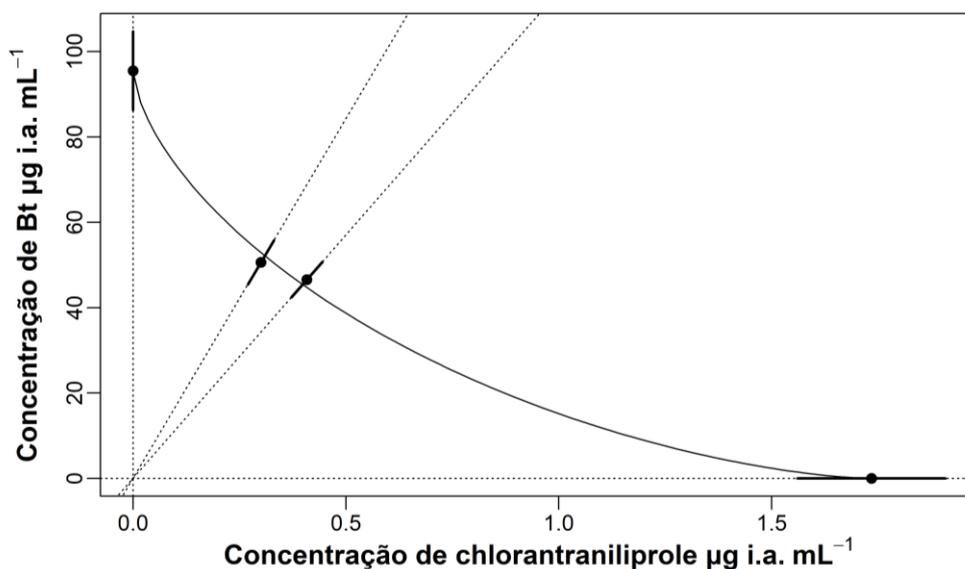
**Figura 5.** Isoblograma da mistura de diferentes proporções de chlorantranilprole: *B. thuringiensis* (chl:Bt) na linhagem suscetível (LAB-SUS) de *H. armigera*.

Para a linhagem R-CHL, as DL<sub>50</sub> dos ingredientes ativos isolados foram utilizadas para fazer cinco misturas de diferentes proporções de chlorantranilprole e *B. thuringiensis* (Tabela 11). A linhagem R-CHL respondeu às 5 curvas respostas das diferentes proporções da DL<sub>50</sub> testadas. Ambas as curvas dos produtos isolados

(0:100 e 100:0) estão à direita das outras 3 curvas, demonstrando que foi necessária uma quantidade maior de ingrediente ativo dos produtos isolados para obter a mesma mortalidade (Figura 8).



**Figura 6.** Isoblograma com ajuste do modelo de concentração aditiva das misturas nas proporções 50:50, 66:33 e 75:25 de chlorantraniliprole: *B. thuringiensis*, respectivamente, na linhagem suscetível (LAB-SUS) de *H. armigera*.



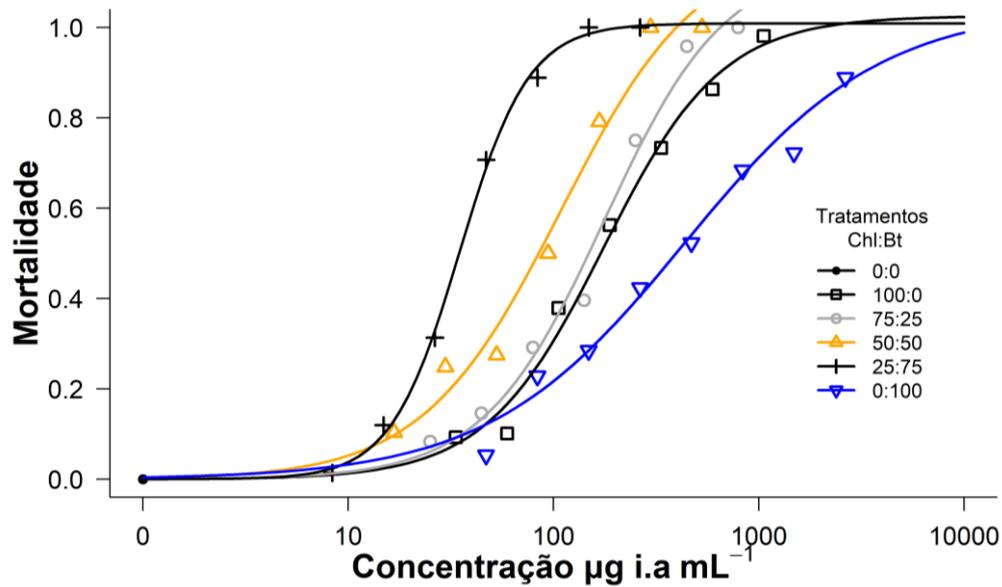
**Figura 7.** Isoblograma com ajuste do modelo de Hewlett das misturas nas proporções 33:66 e 25:75 de chlorantraniliprole: *B. thuringiensis*, respectivamente, na linhagem suscetível (LAB-SUS) de *H. armigera*.

**Tabela 11.** Quantidade de ingrediente ativo ( $\mu\text{g i.a. cm}^{-2}$ ) das 5 proporções da mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis*, em função da  $DL_{50}$  de cada ingrediente ativo isolado, para a linhagem resistente de *H. armigera* (R-CHL).

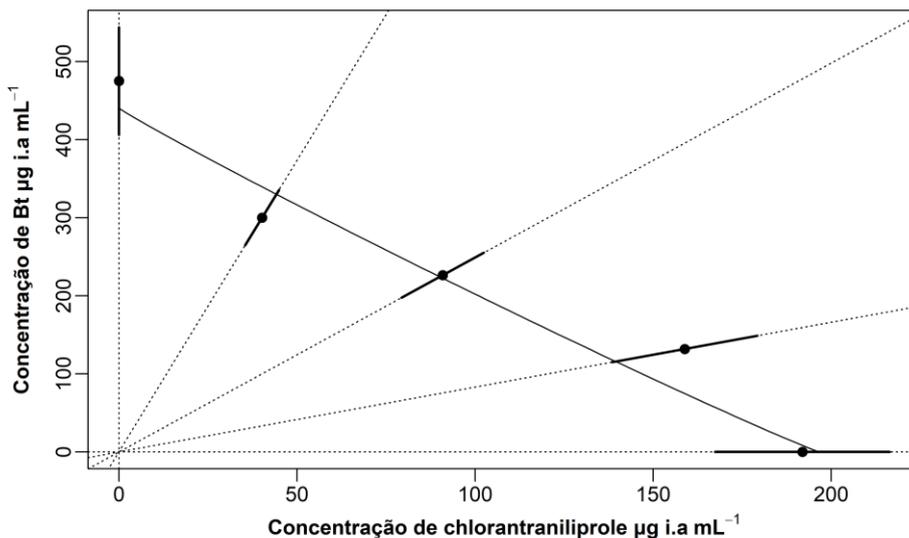
Proporção (chl:bt)	$10^{\log d - 0,75}$	$10^{\log d - 0,5}$	$10^{\log d - 0,25}$	d	$10^{\log d + 0,25}$	$10^{\log d + 0,5}$	$10^{\log d + 0,75}$	$10^{\log d + 1}$
<b>Chlorantraniliprole (<math>\mu\text{g i.a. cm}^{-2}</math>)</b>								
<b>0:100</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>25:75</b>	0,132	0,235	0,417	0,742	1,320	2,347	4,173	7,421
<b>50:50</b>	0,264	0,469	0,835	1,484	2,639	4,694	8,346	14,842
<b>75:25</b>	0,396	0,704	1,252	2,226	3,959	7,040	12,520	22,263
<b>100:0</b>	0,528	0,939	1,669	2,968 <sup>a</sup>	5,279	9,387	16,693	29,684
<b><i>B. thuringiensis</i> (<math>\mu\text{g i.a. cm}^{-2}</math>)</b>								
<b>0:100</b>	1,317	2,342	4,164	7,405 <sup>a</sup>	13,169	23,418	41,643	74,053
<b>25:75</b>	0,988	1,756	3,123	5,554	9,877	17,563	31,232	55,540
<b>50:50</b>	0,658	1,171	2,082	3,703	6,584	11,709	20,822	37,027
<b>75:25</b>	0,329	0,585	1,041	1,851	3,292	5,854	10,411	18,513
<b>100:0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

<sup>a</sup>  $DL_{50}$  de cada ingrediente ativo (d) utilizada para calcular as outras doses.

Com os dados de dose-resposta foi realizado o Isoblograma (Figura 9), onde o modelo de concentração aditiva se adequou aos dados ( $F=0,99$ , g.l.=3,  $p=0,3979$ ), ou seja, os ingredientes ativos atuam de maneira independentemente na linhagem resistente.



**Figura 8.** Curva de dose-resposta da mistura de diferentes proporções de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* na linhagem resistente (R-CHL) de *H. armigera*.



**Figura 9.** Isoblograma com ajuste do modelo de concentração aditiva das misturas de diferentes proporções de chlorantraniliprole: *B. thuringiensis* na linhagem resistente (R-CHL) de *H. armigera*.

#### 4.6.2. Persistência da mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis*

A linhagem LAB-SUS apresentou comportamento estatisticamente diferente dos demais tratamentos em todos os dias de avaliação. O tratamento controle apresentou mortalidade inferior a 20% em todas as avaliações. Já o tratamento com *B. thuringiensis* apresentou uma persistência curta no campo, com mortalidade de 100% no dia da pulverização, 77% 24 horas após a pulverização, e 25% no terceiro dia após a pulverização. Finalmente, o tratamento com chlorantraniliprole e o tratamento com a mistura de ambos os ingredientes ativos apresentaram comportamento estatisticamente iguais, com mortalidades próximas a 100% até 14 dias após a pulverização, e uma redução para valores próximos a 70% aos 21 dias após a pulverização (Tabela 12 e Figura 10).

**Tabela 12.** Média percentual de mortalidade ( $\pm$ DP) de *H. armigera* submetidos aos tratamentos isolados e de mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* na linhagem suscetível (LAB-SUS) nas diferentes datas de avaliação após a pulverização.

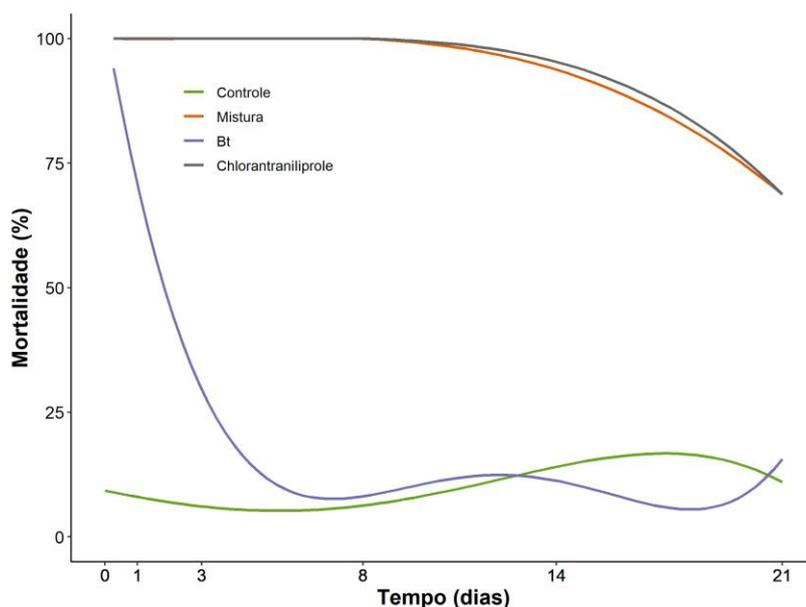
Tratamento	Datas de coleta (dias após a pulverização)					
	0	1	3	8	14	21
<b>Controle</b>	9 $\pm$ (3) b <sup>b</sup>	7 $\pm$ (3) c	6 $\pm$ (3) b	6 $\pm$ (3) b	13 $\pm$ (4) b	11 $\pm$ (4) b
<b>Chlorantraniliprole + <i>B. thuringiensis</i></b>	100 $\pm$ (1) a	100 $\pm$ (1) a	100 $\pm$ (1) a	100 $\pm$ (1) a	90 $\pm$ (4) a	69 $\pm$ (6) a
<b><i>B. thuringiensis</i></b>	83 $\pm$ (4) a	75 $\pm$ (5) b	25 $\pm$ (5) b	9 $\pm$ (4) b	11 $\pm$ (4) b	15 $\pm$ (4) b
<b>Chlorantraniliprole</b>	100 $\pm$ 1 a	100 $\pm$ (1) a	100 $\pm$ (1) a	100 $\pm$ (1) a	95 $\pm$ (2) a	69 $\pm$ (6) a

<sup>a</sup>Mortalidade  $\pm$  desvio padrão

<sup>b</sup>Letras diferentes representam diferença significativa dentro da mesma data de avaliação (coluna).

A linhagem R-CHL apresentou comportamento estatisticamente diferente dos demais tratamentos apenas nas duas primeiras avaliações, sendo todos os tratamentos iguais do 3<sup>o</sup> ao 21<sup>o</sup> dia após a pulverização. O tratamento controle e o tratamento com chlorantraniliprole apresentaram mortalidades estatisticamente iguais, inferiores a 15% em todas as datas de avaliação. O tratamento com *B. thuringiensis* isolado apresentou uma persistência estatisticamente igual ao da mistura de *B. thuringiensis* e chlorantraniliprole, com mortalidades próximas a 85%

no dia da pulverização e próximas a 50% 24 horas após a pulverização (Tabela 13 e Figura 11).



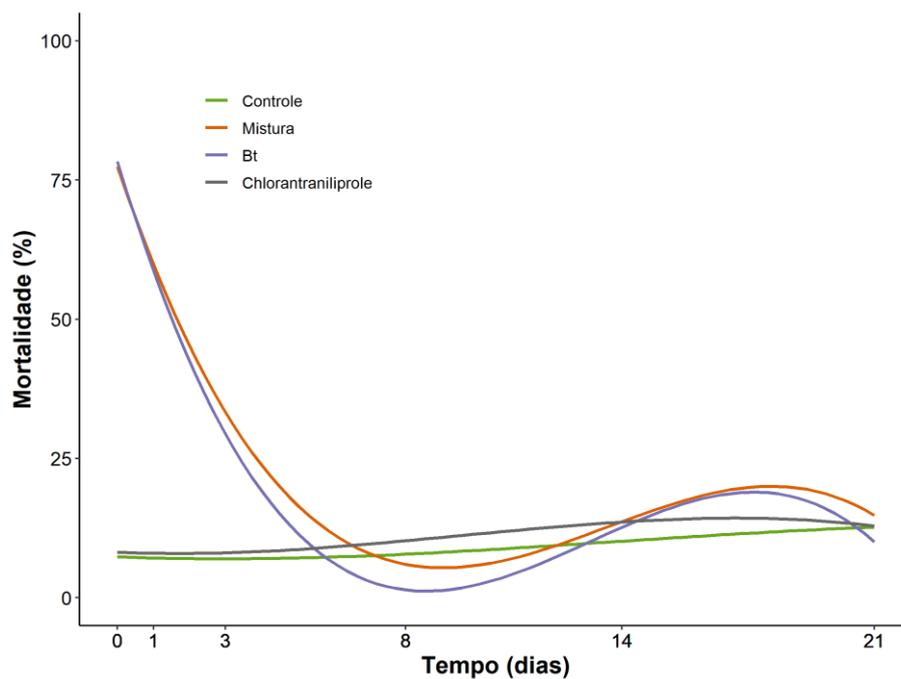
**Figura 10.** Regressão polinomial da persistência dos tratamentos isolados e de mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis*, ao longo de 21 dias de avaliação na linhagem suscetível de *H. armigera* (LAB-SUS).

**Tabela 13.** Média percentual de mortalidade de *H. armigera* submetidos aos tratamentos isolados e de mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* na linhagem resistente (R-CHL) nas diferentes datas de avaliação após a pulverização.

Tratamento	Datas de coleta (dias após a pulverização)					
	0	1	3	8	14	21
<b>Controle</b>	6 ± (3) b <sup>b</sup>	6 ± (3) b	8 ± (4) a	6 ± (3) a	11 ± (4) a	12 ± (4) a
<b>Chlorantraniliprole + <i>B. thuringiensis</i></b>	87 ± (8) a	48 ± (9) ab	28 ± (6) a	12 ± (4) a	9 ± (3) a	15 ± (5) a
<b><i>B. thuringiensis</i></b>	85 ± (10) a	52 ± (8) a	22 ± (5) a	10 ± (2) a	7 ± (3) a	11 ± (4) a
<b>Chlorantraniliprole</b>	4 ± (2) b	10 ± (3) b	11 ± (4) a	6 ± (3) a	15 ± (4) a	12 ± (4) a

<sup>a</sup>Mortalidade ± desvio padrão

<sup>b</sup>Letras diferentes representam diferença significativa dentro da mesma data de avaliação (coluna).



**Figura 11.** Regressão polinomial da persistência dos tratamentos isolados e de mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis*, ao longo de 21 dias de avaliação na linhagem resistente de *H. armigera* (R-CHL).



## 5. DISCUSSÃO

Foram verificadas reduções significativas na suscetibilidade a chlorantraniliprole em populações de *H. armigera* avaliadas nas safras 2020/2021 e 2021/2022 nas principais regiões produtoras de soja e algodão no país. Com a aprovação em caráter emergencial de chlorantraniliprole para o manejo de *H. armigera* em 2013, tanto em pulverizações foliares como em tratamento de semente, além do uso crescente de moléculas diamidas para o controle de outros lepidópteros-praga, tem favorecido a evolução da resistência de pragas a diamidas. Mesmo com a supressão populacional de *H. armigera* com a adoção da tecnologia Bt (HORIKOSHI *et al.*, 2021b), resultados publicados por PEREIRA *et al* (2020) e ABBADE NETO (2021) mostram redução na suscetibilidade de populações de *H. armigera* para chlorantraniliprole entre as safras de 2013 a 2020, com sobrevivência de ~30%, em populações coletada em regiões do Centro-Oeste e na Bahia. Além disso, outros estudos têm documentado a redução na suscetibilidade a chlorantraniliprole em outros importantes insetos-praga no Brasil, como para *S. frugiperda* no Brasil (OKUMA *et al.*, 2022), *T. absoluta* (LEITE *et al.*, 2020) e *P. xylostella* (RIBEIRO *et al.*, 2014).

Neste trabalho foi selecionada uma linhagem de *H. armigera* resistente a chlorantraniliprole, a partir de uma população coletada no município de Itiquira no estado do Mato Grosso (MT 2). Foi verificado um aumento gradual da razão de resistência desta linhagem em laboratório, quando exposta ao inseticida em diferentes ciclos de pressão de seleção. Em comparação com a linhagem suscetível de referência, após 10 gerações de pressão seleção, a razão de resistência aumentou de 26 vezes para 142 vezes. O padrão de herança da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole foi caracterizado como autossômico, incompletamente dominante e poligênico. Este é o primeiro trabalho que caracteriza o padrão de herança da resistência de uma linhagem de *H. armigera* resistente a chlorantraniliprole no mundo, e apresentou resultados preocupantes para o manejo da resistência, visto que em herança incompletamente dominante o indivíduo heterozigoto se comporta de maneira similar ao indivíduo resistente (BOURGUET; GENISSEL; RAYMOND, 2000; STONE, 1968), favorece a manutenção do alelo de resistência no campo. Um padrão de herança similar foi encontrado para *H. armigera* resistente a diamida ftálica flubendiamide (autossômico e completamente

dominante) (ABBADÉ-NETO *et al.*, 2022), entretanto o mecanismo de resistência não foi encontrado. A maioria dos casos de resistência reportados para diamidas em Lepidoptera são mediados por alterações no sítio alvo com padrão de herança da resistência autossômica, incompletamente recessiva e monogênica (RICHARDSON *et al.*, 2020), diferente do encontrado neste trabalho. Foi o caso de *S. frugiperda*, que os padrões de herança de linhagens selecionadas foram caracterizados como autossômico, incompletamente recessivo e monogênico tanto para a mutação I4734M (BOAVENTURA *et al.*, 2020; BOLZAN *et al.*, 2019), como para a mutação I4790M/K (OKUMA *et al.*, 2022), com razões de resistência para chlorantraniliprole de 250 vezes e 713 vezes, respectivamente. O mesmo padrão de herança foi encontrado para *S. exigua* relacionada a mutação G4946E, que apresentou razão de resistência de 223 vezes para chlorantraniliprole. Alterações enzimáticas também contribuíram para a resistência de diferentes espécies a diamidas (citocromo P450s, carboxilesterases e glutathione S-transferases) proporcionando razões de resistência menores, e em sua maioria com caráter poligênico (RICHARDSON *et al.*, 2020). Assim podemos sugerir que mais de um mecanismo de resistência está envolvido na resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole, devido a razão de resistência encontrada e ao caráter poligênico selecionado no presente estudo.

Neste estudo foi verificado que a linhagem selecionada com resistência a chlorantraniliprole apresentou resistência cruzada a outras diamidas testadas, com maiores razões de resistência para flubendiamide (23.388 vezes), seguido de cyantraniliprole (422 vezes) e cyclaniliprole (28 vezes). A variação entre as razões de resistência pode estar relacionada com a estrutura das moléculas. Chlorantraniliprole e cyantraniliprole possuem moléculas similares, se diferenciando apenas pela substituição de um grupo clorado na molécula de chlorantraniliprole, para um grupo cianeto na molécula de cyantraniliprole, podendo explicar a similar resistência cruzada. Por sua vez, a diferença de chlorantraniliprole para cyclaniliprole é maior, com alteração de um grupo metil por um grupo brometo, além da adição de um grupo ciclopropano, sugerindo ser esse o motivo de uma menor razão de resistência. Para a diamida ftálica flubendiamide, a diferença ocorre na inversão da amida central, alterando o sítio de ligação da molécula e foi mais afetado pelo mecanismo de resistência selecionado (RICHARDSON, 2019). A mutação G4946E foi relacionada com maiores razões de resistência para flubendiamide, seguida de cyantraniliprole com valores similares a chlorantraniliprole

e em menor valor para cyclaniliprole em *S. exigua* e *P. xylostella* (JIANG *et al.*, 2021; ZUO *et al.*, 2017). Por sua vez, para a linhagem de *H. armigera* resistente a flubendiamide não foi encontrada resistência cruzada com chlorantraniliprole e cyantraniliprole (ABBADÉ-NETO *et al.*, 2022). Esse resultado comprova que o mecanismo de resistência da linhagem selecionada neste trabalho é diferente do mecanismo selecionado para *H. armigera* resistente a flubendiamide (ABBADÉ-NETO *et al.*, 2022) e sugere que a mutação G4946E esteja relacionada a resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole. Estudos são necessários para a compreensão do mecanismo de resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole para melhor posicionamento das diamidas no manejo da resistência. O cenário para os ingredientes ativos do grupo químico das diamidas é extremamente preocupante, visto a resistência cruzada encontrada para todos os ingredientes ativos testados. Merece atenção o ingrediente ativo cyclaniliprole que foi lançado no mercado na safra 2021/2022, e já apresenta resistência cruzada com chlorantraniliprole. Portanto, a rotação de inseticidas com o uso de ingredientes ativos pertencentes a grupos químicos distintos é de fundamental importância para o manejo da resistência em *H. armigera*, visto que os mecanismos de resistência para diamidas relatados na literatura não conferem resistência a outros grupos químicos. Estudos demonstram a ausência de resistência cruzada entre diamidas e o grupo das espinosinas (KANG *et al.*, 2017; SHAH; SHAD, 2020; SILVA *et al.*, 2019), inibidores da biossíntese de quitina (SILVA *et al.*, 2019) e oxadiazinas (KANG *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2019) que podem ser utilizados em esquema de rotação com chlorantraniliprole.

A existência de custo adaptativo foi verificada quando insetos foram alimentados em dieta artificial, no entanto, não foi verificado impacto nos parâmetros de crescimento populacional quando os insetos foram expostos a folhas de soja não-Bt. A ausência de custo adaptativo no hospedeiro natural da espécie é de grande preocupação, pois em um ambiente sem pressão de seleção, ele tende a se comportar de maneira similar ao indivíduo suscetível, fazendo com que os alelos de resistência permaneçam no campo. Ausência de custo adaptativo em hospedeiros naturais também foram encontrados para linhagem de *S. frugiperda* resistente a proteína Vip3A (CHEN *et al.*, 2019); *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelida) resistente a *azinphosmethyl* (ARGENTINE; CLARK; FERRO, 1989); *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) resistente a malathion

(BEEMAN; NANIS, 1986) e *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera:Aleyodidae) resistente a acetamiprid (TAQUET *et al.*, 2019). No presente estudo foram utilizadas linhagens com bases genéticas semelhantes, fator crucial para obtenção de resultados confiáveis e precisos na análise de custo adaptativo (PADOVEZ *et al.*, 2022; RAYMOND; WRIGHT; BONSALL, 2011), visto que a utilização de linhagens de laboratório pode levar a conclusões precipitadas devido a composição genética diferente entre as linhagens. A tabela de vida de fertilidade demonstrou a presença de um custo adaptativo relativo em dieta artificial da linhagem resistente e heterozigota entre 30% e 20% menor em relação a linhagem suscetível (S-CHL). Trabalhos que avaliaram o custo adaptativo associado a resistência de *H. armigera* a ingredientes ativos encontraram resultados similares ao deste trabalho, como relatado em dieta artificial para linhagens resistentes a flubendiamide (ABBADENETO *et al.*, 2022), a indoxacarb (BIRD, 2020), a spinosad (WANG *et al.*, 2010), a proteína Bt Cry1Ac (BIRD; AKHURST, 2007) e indícios de custo adaptativo em linhagens resistentes a piretroides (ACHALEKE; BRÉVAULT, 2010). O mesmo foi relatado para linhagem de *P. xylostella* resistente ao grupo das diamidas, que tiveram redução em parâmetros da fase de larva e da fase reprodutiva (LIU *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2014) e para uma linhagem de *M. domestica* resistente a chlorantraniliprole que teve um custo adaptativo relativo 34% menor (SHAH; SHAD, 2020). Compreender a existência de custo adaptativo associados a resistência é de fundamental importância para o entendimento da evolução da resistência (GASSMANN, 2023; TABASHNIK; CARRIÈRE, 2017) e devem ser explorados em estratégias de manejo da resistência para *H. armigera*. A ausência de custo adaptativo em folhas de soja não-Bt pode auxiliar na compreensão da redução de suscetibilidade de *H. armigera* a chlorantraniliprole que foi observado entre as safras de 2013 a 2022. Por outro lado, devido a presença de custo adaptativo em dieta artificial, estudos com outros hospedeiros alternativos devem ser conduzidos para avaliar a presença de desvantagens adaptativas que possam ser utilizadas em um programa de manejo da resistência para *H. armigera* resistente a chlorantraniliprole.

No estudo com chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* var. *kurstaki* não foi observada resistência cruzada entre os ingredientes ativos, resultado positivo para o manejo da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole. No estudo com a linhagem suscetível, as proporções de misturas (chl:Bt) 25:75 e 33:66, com maiores proporções da DL<sub>50</sub> de *B. thuringiensis* tiveram resultado sinérgico em laboratório.

Estudos de laboratório com linhagens suscetíveis mostram resultados semelhantes da interação positiva entre baixas concentrações de chlorantraniliprole com altas concentrações de *B. thuringiensis* para diversos Lepidópteros, inclusive *H. armigera* (BRANSCOME *et al.*, 2016a, 2019; WAKIL *et al.*, 2013). Conclusão idêntica foi encontrada entre a mistura de *B. thuringiensis* com flubendiamide para *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), *S. exigua* e *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (BRANSCOME *et al.*, 2016). Os efeitos sinérgicos desta mistura podem estar relacionados ao modo de ação dos ingredientes ativos, visto que baixas doses de chlorantraniliprole proporciona substanciais efeitos subletais em *H. armigera* (ZHANG *et al.*, 2013), permitindo uma maior eficácia das altas doses de *B. thuringiensis*. No campo não se observou nenhuma interação entre os ingredientes ativos na dose de bula, sendo necessário testar outras proporções de mistura para observar se o sinergismo se reflete no campo em populações suscetíveis. Contudo, para o manejo da resistência de *H. armigera*, a mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* var. *kurstaki* não se mostrou uma boa alternativa, visto que não foi observada nenhuma vantagem na combinação desses inseticidas na linhagem resistente. Em laboratório, todas as proporções testadas na linhagem resistente de *H. armigera* a chlorantraniliprole se comportaram de forma aditiva, não sendo observado sinergismo. O mesmo resultado se observou no campo. Esse resultado provavelmente seja consequência do mecanismo de resistência da linhagem selecionada, que reduz os efeitos subletais de chlorantraniliprole. Uma das condições para o sucesso da mistura no manejo de resistência é que os ingredientes ativos devem apresentar persistência semelhante. Entretanto, a persistência de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* var. *kurstaki* foi substancialmente diferente, sendo que a mistura dos inseticidas se comportou de maneira similar a *B. thuringiensis* var. *kurstaki* isolado, não apresentando vantagens. Por esses fatores que a utilização de 2 ingredientes ativos em rotação é mais eficiente no manejo da resistência quando comparado com a mistura (SOUTH; HASTINGS, 2018). Além disso, um dos objetivos da mistura de ingredientes ativos é que ela seja sinérgica, para permitir a diminuição das doses dos ingredientes ativos e torná-la economicamente viável. Entretanto, essa prática não deve ser realizada na mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis*, visto que historicamente observamos um aumento na frequência de resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole (PEREIRA

et al., 2020) e um aumento da utilização de soja Bt (Cry1Ac) (HORIKOSHI et al., 2021b), que pode vir a comprometer a eficácia de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*. Desta forma, doses subletais iriam acelerar a evolução da resistência para ambos os ingredientes ativos. Nesse sentido, para o manejo de *H. armigera* resistente a chlorantraniliprole devemos prezar pela utilização de ingredientes ativos de diferentes grupos químicos em sistema de rotação (FFRENCH-CONSTANT; BASS, 2017), incluindo plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas Bt (HORIKOSHI et al., 2021b, 2021a); o uso de entomopatógenos (MANTZOUKAS et al., 2022; MURARO et al., 2022); a preservação de predadores e parasitoides desta espécie (PARRA, 2014b; PEREIRA et al., 2019; WEBER et al., 2021); assim como o uso de produtos mais seletivos.

Neste trabalho reportou-se uma redução significativa na suscetibilidade de *H. armigera* a chlorantraniliprole ao longo de 2 anos de monitoramento. Além disso, a resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole foi caracterizada como autossômica, incompletamente dominante e poligênica, com resistência cruzada com outras diamidas e ausência de custo adaptativo em folhas de soja não-Bt. Por fim, a mistura dos ingredientes ativos chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* não foi uma boa estratégia de manejo da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole, visto que a mistura não apresentou sinergismo em campo e não satisfaz os pressupostos de mistura para o manejo da resistência. Sendo assim, os resultados deste trabalho demonstram um alto risco de evolução da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole e outras diamidas, caso estratégias de manejo da resistência não sejam implementadas no Brasil.

## 6. CONCLUSÕES

- Há redução na suscetibilidade a chlorantraniliprole em populações de *H. armigera* coletadas nas safras 2020/2021 e 2021/2022 em algumas regiões do Brasil;
- O padrão de herança da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole é autossômico, incompletamente dominante e poligênica;
- Há resistência cruzada entre chlorantraniliprole e os ingredientes ativos flubendiamide, cyantraniliprole e cyclaniliprole em *H. armigera*;
- Existe custo adaptativo associado à resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole quando lagartas se alimentaram de dieta artificial, entretanto não foi observado custo adaptativo em folhas de soja não-Bt;
- A mistura de chlorantraniliprole e *B. thuringiensis* não é eficiente como estratégia para o manejo da resistência de *H. armigera* a chlorantraniliprole.



## REFERÊNCIAS

ABBADE NETO, D. de O. **Dinâmica da resistência a inseticidas diamidas em populações de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) do Brasil.** 2021. USP, Piracicaba - SP, 2021. Disponível em: <[https://www.buscaintegrada.usp.br/primo\\_library/libweb/action/display.do?tabs=detailsTab&ct=display&fn=search&doc=usp\\_base03003037944&indx=2&reclds=usp\\_base03003037944&recldxs=1&elementId=1&renderMode=poppedOut&displayMode=full&frbrVersion=&vl\(4708304UI6\)](https://www.buscaintegrada.usp.br/primo_library/libweb/action/display.do?tabs=detailsTab&ct=display&fn=search&doc=usp_base03003037944&indx=2&reclds=usp_base03003037944&recldxs=1&elementId=1&renderMode=poppedOut&displayMode=full&frbrVersion=&vl(4708304UI6))>. Acesso em: 21 ago. 2021.

ABBADE-NETO, D.; AMADO, D.; PEREIRA, R. M.; BASSO, M.; SPINELI-SILVA, S.; GONÇALVES, T. M.; SOARES CORRÊA, A.; OMOTO, C. First Report of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) Resistance to Flubendiamide in Brazil: Genetic Basis and Mechanisms of the Resistance. **Agronomy**, v. 12, n. 7, p. 1664, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/agronomy12071664>>.

ABID, A. D.; SAEED, S.; ZAKA, S. M.; SHAHZAD, S.; ALI, M.; IQBAL, M.; IQBAL, N.; JAMAL, Z. A. Field evaluation of *nucleopolyhedrosis* virus and some biorational insecticides against *Helicoverpa armigera* Hubner (Noctuidae: Lepidoptera). **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 8, p. 2106–2110, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.025>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

ACHALEKE, J.; BRÉVAULT, T. Inheritance and stability of pyrethroid resistance in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Central Africa. **Pest Management Science**, v. 66, n. 2, p. 137–141, 2010.

AGROFIT. **MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Disponível em: <[https://agrofit.agricultura.gov.br/primeira\\_pagina/extranet/AGROFIT.html](https://agrofit.agricultura.gov.br/primeira_pagina/extranet/AGROFIT.html)>. Acesso em: 12 fev. 2023.

AHMAD, M.; ARIF, M. I.; ATTIQUE, M. R. Pyrethroid resistance of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. **Bulletin of Entomological Research**, v. 87, n. 4, p. 343–347, 1997. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S0007485300037366>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

ALI, A.; CHOUDHURY, R. A.; AHMAD, Z.; RAHMAN, F.; KHAN, F. R.; AHMAD, S. K. Some Biological Characteristics of *Helicoverpa armigera* on Chickpea. **Tunisian Journal of Plant Protection**, v. 99, n. 1, 2009.

AMIZADEH, M.; HEJAZI, M. J.; NIKNAM, G.; ARZANLOU, M. Compatibility and interaction between *Bacillus thuringiensis* and certain insecticides: perspective in management of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 25, n. 6, p. 671–684, 3 jun. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1007030>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

ANDOW, D. A.; ALSTAD, D. N. F2 Screen for Rare Resistance Alleles. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n. 3, p. 572–578, 1998.

APRD. **ARTHROPOD PESTICIDE RESISTANCE DATABASE**. Disponível em: <<https://www.pesticideresistance.org/>>. Acesso em: 9 fev. 2023.

ARGENTINE, J. A.; CLARK, J. M.; FERRO, D. N. Relative Fitness of Insecticide-Resistant Colorado Potato Beetle Strains (Coleoptera: Chrysomelidae). **Environmental Entomology**, v. 18, n. 4, p. 705–710, 1989. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/ee/18.4.705>>. Acesso em: 10 fev. 2023.

ARMES, N. J.; JADHAV, D. R.; BOND, G. S.; KING, A. B. S. Insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* in South India. **Pesticide Science**, v. 34, n. 4, p. 355–364, 1992. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.2780340409>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

ARNEMANN, J. A.; JAMES, W. J.; WALSH, T. K.; GUEDES, J. V. C.; SMAGGHE, G.; CASTIGLIONI, E.; TAY, W. T. Mitochondrial DNA COI characterization of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Paraguay and Uruguay. **Genetics and Molecular Research**, v. 15 (2), 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15028292>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

BEEMAN, R. W.; NANIS, S. M. Malathion Resistance Alleles and Their Fitness in the Red Flour Beetle (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 3, p. 580–587, 1986. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jee/79.3.580>>. Acesso em: 10 fev. 2023.

BIRD, L. J. Relative fitness and stability of resistance in a near-isogenic strain of indoxacarb resistant *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). n. July, 2020.

BIRD, L. J.; AKHURST, R. J. Relative Fitness of Cry1A Resistant and Susceptible *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on Conventional and Transgenic Cotton. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 5, p. 1699–1709, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1603/0022-0493-97.5.1699>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

BIRD, L. J.; AKHURST, R. J. Effects of host plant species on fitness costs of Bt resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, v. 40, n. 2, p. 196–203, 2007.

BIRD, L. J.; DRYNAN, L. J.; WALKER, P. W. The Use of F2 *Screening* for Detection of Resistance to Emamectin Benzoate, Chlorantraniliprole, and Indoxacarb in Australian Populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 110, n. 2, p. 651–659, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jee/tox037>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

BIRD, L. J.; DRYNAN, L. J.; WALKER, P. W. Relative fitness and stability of resistance in a near-isogenic strain of indoxacarb resistant *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science**, v. 76, n. 12, p. 4077–4085, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.5962>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

BLISS, C. I. The toxicity of poisons applied jointly. **Annals of Applied Biology**, v. 26, n. 3, p. 585–615, 1939. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1744-7348.1939.tb06990.x>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

BOAVENTURA, D.; BOLZAN, A.; PADOVEZ, F. E. O.; OKUMA, D. M.; OMOTO, C.; NAUEN, R. Detection of a ryanodine receptor target-site mutation in diamide insecticide resistant fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Pest Management Science**, v. 76, n. 1, p. 47–54, 1 jan. 2020. Disponível em: <[doi.org/10.1002/ps.5505](https://doi.org/10.1002/ps.5505)>. Acesso em: 26 fev. 2023.

BOLZAN, A.; PADOVEZ, F. E. O.; NASCIMENTO, A. R. B.; KAISER, I. S.; LIRA, E. C.; AMARAL, F. S. A.; KANNO, R. H.; MALAQUIAS, J. B.; OMOTO, C. Selection and characterization of the inheritance of resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole and cross-resistance to other diamide insecticides. **Pest Management Science**, v. 75, n. 10, p. 2682–2689, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.5376>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

BORGERT, C. J.; PRICE, B.; WELLS, C. S.; SIMON, G. S. Evaluating Chemical Interaction Studies for Mixture Risk Assessment. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 7, n. 2, p. 259–306, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/20018091094376>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

BOURGUET, D.; GENISSEL, A.; RAYMOND, M. Insecticide Resistance and Dominance Levels. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 6, p. 1588–1595, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/20018091094376>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

BRANSCOME, D.; LAKE, V.; ROGER, S.; HAWTHORN, W.; BALA, D.; BUFFALO GROVE. **Synergic *Bacillus thuringiensis* subs. *aizawai*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and chlorantraniliprole mixtures for diamondback moth, beet armyworm, sugarcane borer, soybean looper, corn earworm, cabbage looper, and southwestern corn borer control.** 2016a.

BRANSCOME, D.; STOREY, R.; ELDRIDGE, R.; BRAZIL, E.; DEVISETTY, B. **Synergistic *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and chlorantraniliprole mixtures.** [s.l.: s.n.].

BRANSCOME, D.; VILLA, L.; STOREY, R.; WOODS, H.; ELDRIDGE, J. R.; BRAZIL, E. **Synergistic *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and flubendiamide mixtures for beet armyworm, soybean looper, corn earworm, and cabbage looper control.** 2016b.

BRUGGER, K. E.; COLE, P. G.; NEWMAN, I. C.; PARKER, N.; SCHOLZ, B.; SUVAGIA, P.; WALKER, G.; HAMMOND, T. G. Selectivity of chlorantraniliprole to parasitoid wasps. **Pest Management Science**, v. 66, n. 10, p. 1075–1081, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.1977>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

CHEN, X.; HEAD, G. P.; PRICE, P.; KERNS, D. L.; RICE, M. E.; HUANG, F.; GILREATH, R. T.; YANG, F. Fitness costs of Vip3A resistance in *Spodoptera frugiperda* on different hosts. **Pest Management Science**, v. 75, n. 4, p. 1074–1080, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.5218>>. Acesso em: 10 fev. 2023.

CLAIR, C.; NORRIS, E.; MASLOSKI, K.; COATS, J.; GASSMANN, A. Evaluation of pyrethroids and organophosphates in insecticide mixtures for management of western corn rootworm larvae. **Pest Management Science**, v. 76, n. 11, p. 3871–3878, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32501631/>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

COLBY, S. R. Calculating Synergistic and Antagonistic Responses of Herbicide Combinations. **Weeds**, v. 15, n. 1, p. 20, 1967. . Acesso em: 21 ago. 2021.

CORDOVA, D.; BENNER, E. A.; SACHER, M. D.; RAUH, J. J.; SOPA, J. S.; LAHM, G. P.; SELBY, T. P.; STEVENSON, T. M.; FLEXNER, L.; GUTTERIDGE, S.; RHOADES, D. F.; WU, L.; SMITH, R. M.; TAO, Y. Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 84, n. 3, p. 196–214, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2005.07.005>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

CURTIS, C. F. Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. **Bulletin of Entomological Research**, v. 75, n. 2, p. 259–266, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S0007485300014346>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, n. 1, p. 110–113, 15 abr. 2013. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/pat/article/view/23691>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

DAVID, M. D. The potential of pro-insecticides for resistance management. **Pest Management Science**, v. 77, n. 8, p. 3631–3636, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.6369>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

DOUGLAS, A. E. Strategies for Enhanced Crop Resistance to Insect Pests. **Annual Review of Plant Biology**, v. 69, p. 637–660, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040248>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

DURIGAN, M. R. **Resistance to pyrethroid and oxadiazine insecticides in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil**. 2018. Piracicaba - SP, 2018. Disponível em: <[https://www.buscaintegrada.usp.br/primeo\\_library/libweb/action/search.do](https://www.buscaintegrada.usp.br/primeo_library/libweb/action/search.do)>. Acesso em: 21 ago. 2021.

DURIGAN, M. R.; CORRÊA, A. S.; PEREIRA, R. M.; LEITE, N. A.; AMADO, D.; DE SOUSA, D. R.; OMOTO, C. High frequency of CYP337B3 gene associated with control failures of *Helicoverpa armigera* with pyrethroid insecticides in Brazil. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 143, p. 73–80, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.09.005>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

EMBRAPA. **AÇÕES EMERGENCIAIS PROPOSTAS PELA EMBRAPA PARA O MANEJO INTEGRADO DE *Helicoverpa spp.* EM ÁREAS AGRÍCOLAS**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/10180/1602515/A%C3%A7%C3%B5es+emergenciais+propostas+pela+Embrapa+-+Documento+oficial/3a569ce1-c132-4bfa-8314-bc993ce8b920>>. Acesso em: 1 mar. 2023.

EPPO. Data sheets on quarantine organisms n° 110: *Helicoverpa armigera*. **European and Mediterranean Plant Protection Organization**, v. 1, n. 5, p. 6, 1981. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500013>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

FFRENCH-CONSTANT, R. H.; BASS, C. Does resistance really carry a fitness cost? **Current Opinion in Insect Science**, v. 21, p. 39–46, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/J.COIS.2017.04.011>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

FITT, G. P. The Ecology of *Heliothis* Species in Relation to Agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, v. 34, n. 1, p. 17–53, 1989. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev.en.34.010189.000313>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

GASSMANN, A. J. Fitness costs of resistance and their potential application for insect resistance management. **Insect Resistance Management**, p. 465–491, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823787-8.00004-0>>. Acesso em: 22 jan. 2023.

GASSMANN, A. J.; CARRIÈRE, Y.; TABASHNIK, B. E. Fitness Costs of Insect Resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, v. 54, p. 147–163, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.54.110807.090518>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 83–92, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-83582015000100010>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

GEORGHIOU, G. P. Genetics of resistance to insecticides in houseflies and mosquitoes. **Experimental Parasitology**, v. 26, n. 2, p. 224–255, 1969. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0014-4894\(69\)90116-7](https://doi.org/10.1016/0014-4894(69)90116-7)>. Acesso em: 21 ago. 2021.

GEORGHIOU, G. P. **Management of Resistance in Arthropods**. [s.l.] Springer, Boston, MA, 1983. 769–792 p.

GNAMM, C.; JEANGUENAT, A.; DUTTON, A. C.; GRIMM, C.; KLOER, D. P.; CROSSTHWAITE, A. J. Novel diamide insecticides: Sulfoximines, sulfonimidamides and other new sulfonimidoyl derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 11, p. 3800–3806, 2012.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean Caterpillar: A Rearing Procedure and Artificial Medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487–488, 1976. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jee/69.4.487>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

GUNNING, R. V.; MOORES, G. D.; DEVONSHIRE, A. L. Insensitive Acetylcholinesterase and Resistance to Thiodicarb in Australian *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 55, n. 1, p. 21–28, 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1006/pest.1996.0031>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

GUO, L.; LIANG, P.; ZHOU, X.; GAO, X. Novel mutations and mutation combinations of ryanodine receptor in a chlorantraniliprole resistant population of *Plutella xylostella* (L.). [s.d.] Disponível em: <<https://10.1038/srep06924>>. Acesso em: 26 fev. 2023.

HARDY, N. B.; PETERSON, D. A.; ROSS, L.; ROSENHEIM, J. A. Does a plant-eating insect's diet govern the evolution of insecticide resistance? Comparative tests of the pre-adaptation hypothesis. **Evolutionary Applications**, v. 11, n. 5, p. 739–747, 1 jun. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/eva.12579>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; GODOY, D. N.; SEMEÃO, A. A.; WILLSE, A.; CORAZZA, G. O.; RUTHES, E.; FERNANDES, D. de S.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; BUENO, A. de F.; OMOTO, C.; BERGER, G. U.; CORRÊA, A. S.; MARTINELLI, S.; DOURADO, P. M.; HEAD, G. Resistance status of lepidopteran soybean pests following large-scale use of MON 87701 × MON 89788 soybean in Brazil. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–15, 2021a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-00770-0>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

HORIKOSHI, R. J.; DOURADO, P. M.; BERGER, G. U.; DE S. FERNANDES, D.; OMOTO, C.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; CORRÊA, A. S. Large-scale assessment of lepidopteran soybean pests and efficacy of Cry1Ac soybean in Brazil. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2021b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-95483-9>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

HUANG, R.; PEI, L.; LIU, Q.; CHEN, S.; DOU, H.; SHU, G.; YUAN, Z.; LIN, J.; PENG, G.; ZHANG, W.; FU, H. Isobologram Analysis: A Comprehensive Review of Methodology and Current Research. **Frontiers in Pharmacology**, n. 8, p. 1222, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01222>>. Acesso em: 10 out. 2021.

IRAC. **Insecticide Resistance Action Committee | IRAC**. Disponível em: <<https://irac-online.org/>>. Acesso em: 21 jan. 2023.

JIANG, D.; QIAN, C.; WANG, D.; WANG, F.; ZHAO, S.; YANG, Y.; BAXTER, S. W.; WANG, X.; WU, Y. Varying contributions of three ryanodine receptor point mutations to diamide insecticide resistance in *Plutella xylostella*. **Pest Management Science**, v. 77, n. 11, p. 4874–4883, 1 nov. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.6534>>. Acesso em: 28 fev. 2023.

KANG, W. J.; KOO, H. N.; JEONG, D. H.; KIM, H. K.; KIM, J.; KIM, G. H. Functional and genetic characteristics of Chlorantraniliprole resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Entomological Research**, v. 47, n. 6, p. 394–403, 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1748-5967.12258>>. Acesso em: 23 jan. 2023.

KARIM, S. Management of *Helicoverpa armigera*: A Review and Prospectus for Pakistan. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 3, n. 8, p. 1213–1222, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.3923/PJBS.2000.1213.1222>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

KAUR, P.; DILAWARI, V. K. Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) from India. **Pest Management Science**, v. 67, n. 10, p. 1294–1302, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.2185>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

LAHM, G. P.; CORDOVA, D.; BARRY, J. D. New and selective ryanodine receptor activators for insect control. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4127–4133, 2009. Disponível em: <<https://10.1016/J.BMC.2009.01.018>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

LEITE, N. A.; ALVES-PEREIRA, A.; CORRÊA, A. S.; ZUCCHI, M. I.; OMOTO, C. Demographics and Genetic Variability of the New World Bollworm (*Helicoverpa zea*) and the Old World Bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **PLOS ONE**, v. 9, n. 11, p. e113286, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113286>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

LEITE, S. A.; DOS SANTOS, M. P.; RESENDE-SILVA, G. A.; DA COSTA, D. R.; MOREIRA, A. A.; LEMOS, O. L.; GUEDES, R. N. C.; CASTELLANI, M. A. Area-Wide Survey of Chlorantraniliprole Resistance and Control Failure Likelihood of the Neotropical Coffee Leaf Miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 3, p. 1399–1410, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jee/toaa017>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

LI, X.; LI, R.; ZHU, B.; GAO, X.; LIANG, P. Overexpression of cytochrome P450 CYP6BG1 may contribute to chlorantraniliprole resistance in *Plutella xylostella* (L.). **Pest Management Science**, v. 74, n. 6, p. 1386–1393, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ps.4816>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

LIU, X.; NING, Y.; WANG, H.; WANG, K. Cross-resistance, mode of inheritance, synergism, and fitness effects of cyantraniliprole resistance in *Plutella xylostella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 157, n. 3, p. 271–278, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/eea.12361>>. Acesso em: 25 jan. 2023.

LOPES-DA-SILVA, M.; SANCHES, M. M.; STANCIOLI, A. R.; ALVES, G.; SUGAYAMA, R.; LOPES-DA-SILVA, M.; SANCHES, M. M.; STANCIOLI, A. R.; ALVES, G.; SUGAYAMA, R. The Role of Natural and Human-Mediated Pathways for Invasive Agricultural Pests: A Historical Analysis of Cases from Brazil. **Agricultural Sciences**, v. 5, n. 7, p. 634–646, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.4236/AS.2014.57067>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

MACHADO, E. P.; GARLET, C. G.; WESCHENFELDER, M. A. G.; FÜHR, F. M.; GODOY, D. N.; PRETTO, V. E.; CONTINI, R. E.; FRANCO, C. R.; OMOTO, C.; BERNARDI, O. Interspecific variation in susceptibility to insecticides by Lepidopteran pests of soybean, cotton, and maize crops from Brazil. **Journal of Economic Entomology**, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jee/toab265>>. Acesso em: 13 jan. 2022.

MAIA, A. D. H. N.; PAZIANOTTO, R. A. D. A.; LUIZ, A. J. B.; MARINHO-PRADO, J. S.; PERVEZ, A. Inference on Arthropod Demographic Parameters: Computational Advances Using R. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 1, p. 432–439, 1 fev. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1603/EC13222>>. Acesso em: 4 fev. 2023.

MANI, G. S. Evolution of resistance in the presence of two insecticides. **Genetics**, v. 109, p. 761–783, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/genetics/109.4.761>>. Acesso em: 11 fev. 2023.

MANTZOUKAS, S.; KITSIOU, F.; LAGOIANNIS, I.; ELIOPOULOS, P. A. Potential Use of *Fusarium* Isolates as Biological Control Agents: *Helicoverpa armigera*(Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) Case Study. **Applied Sciences**, v. 12, n. 17, p. 8918, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/app12178918>>. Acesso em: 26 jan. 2023.

MAPA. **Portaria 148, de 26 de dezembro de 2017**. Brasília - DF. Diário Oficial da União, 2018.

MASTRANGELO, T.; PAULO, D. F.; BERGAMO, L. W.; MORAIS, E. G. F.; SILVA, M.; BEZERRA-SILVA, G.; AZEREDO-ESPIN, A. M. L. Detection and Genetic Diversity of a *Heliothine* Invader (Lepidoptera: Noctuidae) From North and Northeast of Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 3, p. 970–980, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1603/EC13403>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

MCCAFFERY, A. R.; WALKER, A. J.; TOPPER, C. P. Insecticide resistance in the bollworm, *Helicoverpa armigera* from Indonesia. **Pesticide Science**, v. 32, n. 1, p. 85–90, 1991. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.2780320109>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

MURARO, D. S.; GONÇALVES, T. M.; AMADO, D.; LIMA, M. F.; POPHAM, H. J. R.; MARÇON, P. G.; OMOTO, C. Baseline Susceptibility and Cross-Resistance of HearNPV in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Insects**, v. 13, n. 9, p. 820, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/insects13090820>>. Acesso em: 25 jan. 2023.

MURÚA, M. G.; SCALORA, F. S.; NAVARRO, F. R.; CAZADO, L. E.; CASMUZ, A.; VILLAGRÁN, M. E.; LOBOS, E.; GASTAMINZA, G. First Record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 2, p. 854–856, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1653/024.097.0279>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

NELSON, A. C.; KURSAR, T. A. Interactions among plant defense compounds: a method for analysis. **CHEMOECOLOGY**, v. 9, n. 2, p. 81–92, 1999.

OKUMA, D. M.; CUENCA, A.; NAUEN, R.; OMOTO, C. Large-Scale Monitoring of the Frequency of Ryanodine Receptor Target-Site Mutations Conferring Diamide Resistance in Brazilian Field Populations of Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insects**, v. 13, n. 7, p. 626, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/insects13070626>>. Acesso em: 11 jan. 2023.

PADOVEZ, F. E. P.; KANNO, R.; OMOTO, C.; GUIDOLIN, A. S. Fitness costs associated with chlorantraniliprole resistance in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) strains with different genetic backgrounds. **Pest Management Science**, v. 78, n. 3, p. 1279–1286, 1 mar. 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.6746>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

PARRA, J. R. P. Biological Control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 420–429, 2014a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0167>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

PARRA, J. R. P. Biological Control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 420–429, 2014b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0167>>. Acesso em: 26 jan. 2023.

PARRA, J. R. P.; COELHO, A. Applied Biological Control in Brazil: From Laboratory Assays to Field Application. **Journal of Insect Science**, v. 19, n. 2, 2019. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jinsectscience/article/19/2/5/5368158>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

PEARCE, S. L.; CLARKE, D. F.; EAST, P. D.; ELFEKIH, S.; GORDON, K. H. J.; JERMIIN, L. S.; MCGAUGHRAN, A.; OAKESHOTT, J. G.; PAPANIKOLAOU, A.; PERERA, O. P.; RANE, R. v.; RICHARDS, S.; TAY, W. T.; WALSH, T. K.; ANDERSON, A.; ANDERSON, C. J.; ASGARI, S.; BOARD, P. G.; BRETSCHNEIDER, A.; CAMPBELL, P. M.; CHERTEMPS, T.; CHRISTELLER, J. T.; COPPIN, C. W.; DOWNES, S. J.; DUAN, G.; FARNSWORTH, C. A.; GOOD, R. T.; HAN, L. B.; HAN, Y. C.; HATJE, K.; HORNE, I.; HUANG, Y. P.; HUGHES, D. S. T.; JACQUIN-JOLY, E.; JAMES, W.; JHANGIANI, S.; KOLLMAR, M.; KUWAR, S. S.; LI, S.; LIU, N. Y.; MAIBECHE, M. T.; MILLER, J. R.; MONTAGNE, N.; PERRY, T.; QU, J.; SONG, S. v.; SUTTON, G. G.; VOGEL, H.; WALENZ, B. P.; XU, W.; ZHANG, H. J.; ZOU, Z.; BATTERHAM, P.; EDWARDS, O. R.; FEYEREISEN, R.; GIBBS, R. A.; HECKEL, D. G.; MCGRATH, A.; ROBIN, C.; SCHERER, S. E.; WORLEY, K. C.; WU, Y. D. Genomic innovations, transcriptional plasticity and gene loss underlying the evolution and divergence of two highly polyphagous and invasive *Helicoverpa* pest species. **BMC Biology** 2017 15:1, v. 15, n. 1, p. 1–30, 31 jul. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12915-017-0402-6>>. Acesso em: 1 mar. 2023.

PEARSON, E. O. **The Insect Pests of Cotton in Tropical Africa**. London: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1958. 355 p.

PEDGLEY, D. E. Windborne migration of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the British Isles. **Entomologist's Gazette**, v. 36, n. 1, p. 15–20, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S1742758400022669>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

PEREIRA, F. P.; REIGADA, C.; DINIZ, A. J. F.; PARRA, J. R. P. Potential of Two Trichogrammatidae species for *Helicoverpa armigera* control. **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 6, p. 966–973, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13744-019-00730-4>>. Acesso em: 26 jan. 2023.

PEREIRA, R. M.; ABBADE NETO, D.; AMADO, D.; DURIGAN, M. R.; FRANCISCATTI, R. A.; MOCHETI, M.; OMOTO, C. Baseline susceptibility and frequency of resistance to diamide insecticides in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. **Crop Protection**, v. 137, p. 105266, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105266>>.

POZEBON, H.; MARQUES, R. P.; PADILHA, G.; O'NEAL, M.; VALMORBIDA, I.; BEVILAQUA, J. G.; TAY, W. T.; ARNEMANN, J. A. Arthropod Invasions Versus Soybean Production in Brazil: A Review. **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 4, p. 1591–1608, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jee/toaa108>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

QAYYUM, M. A.; WAKIL, W.; ARIF, M. J.; SAHI, S. T.; SAEED, N. A.; RUSSELL, D. A. Multiple Resistances Against Formulated Organophosphates, Pyrethroids, and Newer-Chemistry Insecticides in Populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 1, p. 286–293, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jee/tou037>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

R CORE TEAM. **The R project for statistical computing**. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 21 jan. 2023.

RAMAKRISHNAN, R.; JUSKO, W. J. Interactions of aspirin and salicylic acid with prednisolone for inhibition of lymphocyte proliferation. **International Immunopharmacology**, v. 1, n. 11, p. 2035–2042, 2001. . Acesso em: 21 ago. 2021.

RAYMOND, B.; WRIGHT, D. J.; BONSALE, M. B. Effects of host plant and genetic background on the fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Heredity**, v. 106, n. 2, p. 281–288, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/hdy.2010.65>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

REED, W. *Heliothis armigera* (Hb.) (Noctuidae) in Western Tanganyika. I.—Biology, with special reference to the pupal stage. **Bulletin of Entomological Research**, v. 56, n. 1, p. 117–125, 1965. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S0007485300057084>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

RIBEIRO, L. M. S.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; FERREIRA, H. N.; TEIXEIRA, Á. A. C.; SIQUEIRA, H. A. A. Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 104, n. 1, p. 88–96, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S0007485313000576>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

RICHARDSON, E. B.; TROCZKA, B. J.; GUTBROD, O.; DAVIES, T. G. E.; NAUEN, R. Diamide resistance: 10 years of lessons from lepidopteran pests. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 3, p. 911–928, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10340-020-01220-y>>. Acesso em: 11 fev. 2023.

RICHARDSON, E. P. B. **Investigation and characterisation of diamide insecticide resistance conferred by target-site mutations in the Ryanodine Receptor of lepidopteran pests.** [s.l.: s.n.]

RITZ, C.; STREIBIG, J. C.; KNISS, A. How to use statistics to claim antagonism and synergism from binary mixture experiments. **Pest Management Science**, v. 77, n. 9, p. 3890–3899, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.6348>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

ROBERTSON, J. L.; JONES, M. M.; OLGUIN, E.; ALBERTS, B. Bioassays with Arthropods. **Bioassays with Arthropods**, v. 3, p. 1–194, 2007. Disponível em: <<https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781315373775/bioassays-arthropods-jacqueline-robertson-moneen-jones-efren-olguin-brad-alberts>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

ROBERTSON, J. L.; JONES, M. M.; OLGUIN, E.; BRAD ALBERTS. **Bioassays with Arthropods.** 3rd. ed. New York: CRC Press, 2017. 212 p.

RODITAKIS, E.; VASAKIS, E.; GRISPOU, M.; STAVRAKAKI, M.; NAUEN, R.; GRAVOUIL, M.; BASSI, A. First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides. **Journal of Pest Science**, v. 88, n. 1, p. 9–16, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10340-015-0643-5>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

ROUSH, R. T. Two toxin strategies for management of insecticidal transgenic crops: can pyramiding succeed where pesticide mixtures have not? **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 353, n. 1376, p. 1777–1786, 1998. Disponível em: <<https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rstb.1998.0330>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

ROUSH, R. T.; DALY, J. C. The Role of Population Genetics in Resistance Research and Management. **Pesticide Resistance in Arthropods**, p. 97–152, 1990. Disponível em: <[https://doi.org/10.1007/978-1-4684-6429-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-6429-0_5)>. Acesso em: 21 ago. 2021.

SHABBIR, M. Z.; HE, L.; SHU, C.; YIN, F.; ZHANG, J.; LI, Z.-Y. Assessing the Single and Combined Toxicity of Chlorantraniliprole and *Bacillus thuringiensis* (GO33A) against Four Selected Strains of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), and a Gene Expression Analysis. **Toxins**, v. 13, n. 3, p. 227, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/toxins13030227>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

SHAH, R. M.; SHAD, S. A. House fly resistance to chlorantraniliprole: cross resistance patterns, stability and associated fitness costs. **Pest Management Science**, v. 76, n. 5, p. 1866–1873, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.5716>>. Acesso em: 25 jan. 2023.

SHAH, R. M.; SHAD, S. A. Genetics and mechanism of resistance to chlorantraniliprole in *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Ecotoxicology**, v. 30, n. 4, p. 552–559, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10646-021-02390-w>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

SILVA, J. E.; RIBEIRO, L. M. da S.; VINASCO, N.; GUEDES, R. N. C.; SIQUEIRA, H. Á. A. Field-evolved resistance to chlorantraniliprole in the tomato pinworm *Tuta absoluta*: inheritance, cross-resistance profile, and metabolism. **Journal of Pest Science**, v. 92, n. 4, p. 1421–1431, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10340-018-1064-z>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

SILVA, J. E.; RIBEIRO, L. M. da S.; VINASCO, N.; GUEDES, R. N. C.; SIQUEIRA, H. Á. A. Field-evolved resistance to chlorantraniliprole in the tomato pinworm *Tuta absoluta*: inheritance, cross-resistance profile, and metabolism. **Journal of Pest Science**, v. 92, n. 4, p. 1421–1431, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10340-018-1064-z>>. Acesso em: 23 jan. 2023.

SILVA, S. S. **Risco de evolução da resistência a espinosinas em *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil**. 2019. Piracicaba - SP, 2019. Disponível em: <[https://www.buscaintegrada.usp.br/primo\\_library/libweb/action/search.do](https://www.buscaintegrada.usp.br/primo_library/libweb/action/search.do)>. Acesso em: 21 ago. 2021.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry : the principles and practice of statistics in biological research I**. New York : Freeman, 1995. 43210 p.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S. v.; LOPES-LIMA, A.; YANO, S. A. C.; MICHELI, A.; MORAIS, E. G. F.; GALLO, P.; PEREIRA, P. R. V. S.; SALVADORI, J. R.; BOTTON, M.; ZENKER, M. M.; AZEVEDO-FILHO, W. S. Timeline and geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliiothinae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 60, n. 1, p. 101–104, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rbe.2015.09.008>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

SOUTH, A.; HASTINGS, I. M. Insecticide resistance evolution with mixtures and sequences: a model-based explanation. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, p. 1–20, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12936-018-2203-y>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

SPARKS, T. C.; CROSSTHWAITE, A. J.; NAUEN, R.; BANBA, S.; CORDOVA, D.; EARLEY, F.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; FUJIOKA, S.; HIRAO, A.; KARMON, D.; KENNEDY, R.; NAKAO, T.; POPHAM, H. J. R.; SALGADO, V.; WATSON, G. B.; WEDEL, B. J.; WESSELS, F. J. Insecticides, biologics and nematocides: Updates to IRAC's mode of action classification - a tool for resistance management. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 167, p. 104587, 1 jul. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104587>>. Acesso em: 27 fev. 2023.

SPARKS, T. C.; STORER, N.; PORTER, A.; SLATER, R.; NAUEN, R. Insecticide resistance management and industry: the origins and evolution of the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) and the mode of action classification scheme. **Pest Management Science**, v. 77, n. 6, p. 2609–2619, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.6254>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

SPARKS, T. C.; WESSELS, F. J.; LORSBACH, B. A.; NUGENT, B. M.; WATSON, G. B. The new age of insecticide discovery-the crop protection industry and the impact of natural products. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 161, p. 12–22, 1 nov. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.09.002>>. Acesso em: 27 fev. 2023.

SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PAULA-MORAES, S. V. de; YANO, S. A. C. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 6, p. 689–692, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000600015>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

STEINBACH, D.; GUTBROD, O.; LÜMMEN, P.; MATTHIESEN, S.; SCHORN, C.; NAUEN, R. Geographic spread, genetics and functional characteristics of ryanodine receptor based target-site resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 63, p. 14–22, 1 ago. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2015.05.001>>. Acesso em: 26 fev. 2023.

STONE, B. F. A formula for determining degree of dominance in cases of monofactorial inheritance of resistance to chemicals. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 38, n. 2, p. 325, 1968. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2554319/>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

STREIBIG, J. C. Joint action of root-absorbed mixtures of auxin herbicides in *Sinapis alba* L. and barley (*Hordeum vulgare* L.). **Weed Research**, v. 27, n. 5, p. 337–347, 1987. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/J.1365-3180.1987.TB00771.X>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

SUN, Y.; XU, L.; CHEN, Q.; QIN, W.; HUANG, S.; JIANG, Y.; QIN, H. Chlorantraniliprole resistance and its biochemical and new molecular target mechanisms in laboratory and field strains of *Chilo suppressalis* (Walker). **Pest Management Science**, v. 74, n. 6, p. 1416–1423, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.4824>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

TABASHNIK, B. E. Evaluation of synergism among *Bacillus thuringiensis* toxins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 10, p. 3343–3346, 1992. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/aem.58.10.3343-3346.1992>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

TABASHNIK, B. E.; CARRIÈRE, Y. Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. **Nature Biotechnology**, v. 35, n. 10, p. 926–935, 11 out. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nbt.3974>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

TALLARIDA, R. J. Drug synergism and dose-effect data analysis. p. 247, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1201/9781420036107>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

TALLARIDA, R. J. Revisiting the Isobole and Related Quantitative Methods for Assessing Drug Synergism. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 342, n. 1, p. 2–8, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1124/jpet.112.193474>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

TAMMES, P. M. L. Isoboles, a graphic representation of synergism in pesticides. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 70, n. 3, p. 73–80, 1964. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF01974412>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

TANG, T.; HU, F.; WANG, P.; FU, W.; LIU, X. Broflanilide effectively controls *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera exigua* exhibiting diverse susceptibilities to chlorantraniliprole and emamectin benzoate. **Pest Management Science**, v. 77, n. 3, p. 1262–1272, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.6139>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

TAQUET, A.; DELATTE, H.; BARRÈS, B.; SIMIAND, C.; GRONDIN, M.; JOURDAN-PINEAU, H. Insecticide resistance and fitness cost in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) invasive and resident species in La Réunion Island. **Pest Management Science**, v. 76, p. 1235–1244, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.5633>>. Acesso em: 10 fev. 2023.

TAY, W. T.; SORIA, M. F.; WALSH, T.; THOMAZONI, D.; SILVIE, P.; BEHERE, G. T.; ANDERSON, C.; DOWNES, S. A Brave New World for an Old World Pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **PLOS ONE**, v. 8, n. 11, p. e80134, 18 nov. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080134>>. Acesso em: 1 mar. 2023.

TAY, W. T.; WALSH, T. K.; DOWNES, S.; ANDERSON, C.; JERMIIN, L. S.; WONG, T. K. F.; PIPER, M. C.; CHANG, E. S.; MACEDO, I. B.; CZEPAK, C.; BEHERE, G. T.; SILVIE, P.; SORIA, M. F.; FRAYSSINET, M.; GORDON, K. H. J. Mitochondrial DNA and trade data support multiple origins of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera, Noctuidae) in Brazil. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/srep45302>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

TEMPLE, J. H.; POMMIREDDY, P. L.; COOK, D. R.; MARÇON, P.; LEONARD, B. R.; BOMMIREDDY, P. L. Arthropod Management Susceptibility of Selected Lepidopteran pests to rynaxypyr®, a novel Insecticide. **The Journal of Cotton Science**, v. 13, p. 23–31, 2009. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20093125257>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

TORRES-VILA, L. M.; RODRÍGUEZ-MOLINA, M. C.; LACASA-PLASENCIA, A.; BIELZA-LINO, P.; RODRÍGUEZ-DEL-RINCÓN, Á. Pyrethroid resistance of *Helicoverpa armigera* in Spain: Current status and agroecological perspective. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 93, n. 1–3, p. 55–66, 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(02\)00003-8](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(02)00003-8)>. Acesso em: 21 ago. 2021.

TSUKAMOTO, M. Methods of Genetic Analysis of Insecticide Resistance. In Pest resistance to pesticides, ed. Georghiou. **Pest Resistance to Pesticides**, p. 71–98, 1983.

VENABLES, W. N.; RIPLEY, B. D. Modern Applied Statistics with S-PLUS. 2013. Disponível em: <[https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3121-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3121-7_1)>. Acesso em: 21 ago. 2021.

VITERI, D. M.; LINARES, A. M.; FLORES, L. Use of the Entomopathogenic Nematode *Steinernema carpocapsae* in Combination with Low-Toxicity Insecticides to Control Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae. **BioOne**, v. 101, n. 2, p. 327–329, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1653/024.101.0228>>. Acesso em: 26 ago. 2021.

WAKIL, W.; GHAZANFAR, M. U.; RIASAT, T.; QAYYUM, M. A.; AHMED, S.; YASIN, M. Effects of interactions among *Metarhizium anisopliae*, *Bacillus thuringiensis* and chlorantraniliprole on the mortality and pupation of six geographically distinct *Helicoverpa armigera* field populations. **Phytoparasitica**, v. 41, n. 2, p. 221–234, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12600-012-0282-9>>. Acesso em: 26 jan. 2023.

WAKIL, W.; USMAN GHAZANFAR, M.; QAYYUM, M. A.; TAHIR, M. Eficacia Insecticida de *Azadirachta indica*, *Nucleopolihedrovirus* y Clorantraniliprol solo y sus Aplicaciones Integradas contra Poblaciones de Campo de *Helicoverpa armigera* Hübner. **Article in Chilean Journal of Agricultural Research**, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.4067/S0718-58392012000100009>>. Acesso em: 20 set. 2021.

WANG, D.; QIU, X.; REN, X.; NIU, F.; WANG, K. Resistance selection and biochemical characterization of spinosad resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 95, n. 2, p. 90–94, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/J.PESTBP.2009.07.003>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

WANG, D.; QIU, X.; WANG, H.; QIAO, K.; WANG, K. Reduced fitness associated with spinosad resistance in *Helicoverpa armigera*. **Phytoparasitica**, v. 38, n. 2, p. 103–110, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12600-009-0077-9>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

WANG, N. C.; LI, Z. H. Studies on the biology of cotton bollworm (*Heliothis armigera* Hübner) and tobacco budworm (*Heliothis assulta* Quenee). **Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)**, v. 1, n. Z1, p. 13–24, 1984. . Acesso em: 21 ago. 2021.

WANG, Q.; RUI, C.; WANG, L.; NAHIYOON, S. A.; HUANG, W.; ZHU, J.; JI, X.; YANG, Q.; YUAN, H.; CUI, L. Field-evolved resistance to 11 insecticides and the mechanisms involved in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science**, v. 77, p. 5086–5095, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.6548>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

WANG, Y.; MA, Y.; ZHOU, D. S.; GAO, S. X.; ZHAO, X. C.; TANG, Q. B.; WANG, C. Z.; VAN LOON, J. J. A. Higher plasticity in feeding preference of a generalist than a specialist: experiments with two closely related *Helicoverpa* species. **Scientific Reports 2017 7:1**, v. 7, n. 1, p. 1–12, 19 dez. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-017-18244-7>>. Acesso em: 1 mar. 2023.

WEBER, I. D.; LOPES, W. R.; DE PAULA, L. C. B.; ALBERNAZ-GODINHO, K. C.; CZEPAK, C. Tachinids associated with lepidopteran pests in agricultural crops in south-central region of Goiás, Brazil. **BioControl**, v. 66, n. 5, p. 625–637, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10526-021-10098-3>>. Acesso em: 25 jan. 2023.

WU, K.; LIANG, G.; GUO, Y. Phoxim Resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in China. **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 4, p. 868–872, 1997. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jee/90.4.868>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

WU, M.; ZHANG, S.; YAO, R.; WU, S.; SU, J.; GAO, C. Susceptibility of the Rice Stem Borer, *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae), to Flubendiamide in China. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 3, p. 1250–1255, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1603/EC14053>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

ZALUCKI, M.; DAGLISH, G.; FIREMPONG, S.; TWINE, P. The Biology and Ecology of *Heliothis Armigera* (Hubner) and *Heliothis Punctigera* Wallengren (Lepidoptera, Noctuidae) in Australia - What Do We Know. **Australian Journal of Zoology**, v. 34, n. 6, p. 779–814, 1986. Disponível em: <<https://doi.org/10.1071/ZO9860779>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

ZHANG, R. min; DONG, J. feng; CHEN, J. hua; JI, Q. e.; CUI, J. jie. The Sublethal Effects of Chlorantraniliprole on *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 12, n. 3, p. 457–466, 1 mar. 2013. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60246-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60246-4)>. Acesso em: 6 mar. 2023.

ZUO, Y.; WANG, H.; XU, Y.; HUANG, J.; WU, S.; WU, Y.; YANG, Y. CRISPR/Cas9 mediated G4946E substitution in the ryanodine receptor of *Spodoptera exigua* confers high levels of resistance to diamide insecticides. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 89, p. 79–85, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/J.IBMB.2017.09.005>>. Acesso em: 23 jan. 2023.