

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

**Bases para um programa de manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorfenapyr no Brasil**

**Rubens Hideo Kanno**

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

Piracicaba  
2018

**Rubens Hideo Kanno**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Bases para um programa de manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda*  
(J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorfenapyr no Brasil**

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

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

**Piracicaba**  
**2018**

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

Kanno, Rubens Hideo

Bases para um programa de manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorfenapyr no Brasil/ Rubens Hideo Kanno - - Piracicaba, 2018.

58 p.

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

1. Lagarta-do-cartucho 2. Manejo da resistência de insetos 3. Resistência cruzada I. Título

## RESUMO

### **Bases para um programa de manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorfenapyr no Brasil**

As principais táticas de controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) têm sido o uso de inseticidas e cultivos Bt no Brasil. Devido à intensa pressão de seleção, a evolução da resistência de *S. frugiperda* aos principais inseticidas de diferentes grupos químicos e a proteínas Bt já foram documentados no Brasil. Sendo assim, estudos para preservar a vida útil de inseticidas com novos mecanismos de ação como a de chlorfenapyr (desacoplador da fosforilação oxidativa mediante a interrupção do gradiente de prótons) são fundamentais em programas de Manejo da Resistência de Insetos (MRI). Para a implementação de programas proativos de manejo da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr, foram conduzidos estudos para caracterizar e monitorar a suscetibilidade de populações de campo de *S. frugiperda* a chlorfenapyr, estimar a frequência do alelo da resistência a chlorfenapyr pelo método de F<sub>2</sub> screen e avaliar a resistência cruzada entre chlorfenapyr e outros inseticidas e proteínas Bt. O método de bioensaio utilizado foi o de tratamento superficial da dieta. Os dados das linhas-básicas de suscetibilidade das populações de campo a chlorfenapyr demonstraram uma variação da CL<sub>50</sub> de 13,87 a 25,07 µg/mL. A concentração diagnóstica de 56 µg/mL foi estimada mediante análise conjunta dos dados de linha-básica de suscetibilidade baseada na CL<sub>99</sub>. A suscetibilidade foi monitorada a partir de populações de campo de *S. frugiperda* coletadas nas principais regiões produtoras de milho no Brasil entre 2016 e 2018. A taxa de sobrevivência na concentração diagnóstica variou de 0 a 8,4%. Pelo método de F<sub>2</sub> screen a frequência alélica estimada nas safras para a 2<sup>a</sup> safra 2016 e a 1<sup>a</sup> safra 2017 foi de 0,0008 e a frequência para a entressafra 2016-2017 foi de 0,0012. Não foi verificada resistência cruzada entre chlorfenapyr e os inseticidas: lambda-cyhalothrin, chlorpirifos, lufenuron, teflubenzuron, spinosad e chlorantraniliprole e as proteínas Bt: Cry1F, Cry1A.105/Cry2Ab2, Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F e Vip3Aa20 expressas em milho geneticamente modificado. Os resultados demonstraram uma alta suscetibilidade das populações de campo a chlorfenapyr, uma baixa frequência do alelo da resistência e ausência de resistência cruzada aos principais inseticidas e proteínas Bt. Portanto, o inseticida chlorfenapyr pode ser utilizado como uma ferramenta em programas de MRI em *S. frugiperda* no Brasil.

**Palavras-chave:** lagarta-do-cartucho, manejo da resistência de insetos, resistência cruzada

## ABSTRACT

### **Bases for resistance management program of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorfenapyr in Brazil**

Chemical control and Bt crops are the major control tactics to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. Due to intense selection pressure, the evolution of *S. frugiperda* resistance to major insecticides from different chemical groups and to Bt proteins has already been documented in Brazil. Therefore, studies to preserve the lifetime of insecticides with new mode of action such as chlorfenapyr (uncouplers of oxidative phosphorylation via disruption of the proton gradient) are important in Insect Resistance Management (IRM) programs. For implementing a proactive resistance management program of *S. frugiperda* to chlorfenapyr, studies were conducted to characterize and monitor the susceptibility of field populations of *S. frugiperda* to chlorfenapyr, to estimate the frequency of resistance alleles to chlorfenapyr using F<sub>2</sub> screen method and to evaluate the cross-resistance patterns of chlorfenapyr and other insecticides and Bt proteins. Diet overlay bioassays was used to characterize the baseline susceptibility data of field population of *S. frugiperda* to chlorfenapyr. The LC<sub>50</sub> ranged from 13.87 a 25.07 µg/mL. A diagnostic concentration of 56 µg/mL was estimated from the joint analysis of the baseline susceptibility data, based on LC<sub>99</sub>. Susceptibility was monitored from field populations of *S. frugiperda* collected from major corn growing regions in Brazil from 2016 to 2018. The survival rate at the diagnostic concentration ranged from 0 to 8.4%. Using the F<sub>2</sub> screen method, the estimated allele frequency for the 2nd crop season 2016 and 1st crop season 2017 was 0.0008 and the frequency for the offseason 2016-2017 was 0.0012. No cross-resistance was verified between chlorfenapyr and the insecticides: lambda-cyhalothrin, chlorpyrifos, lufenuron, teflubenzuron, spinosad and chlorantraniliprole and to Bt proteins: Cry1F, Cry1A.105/Cry2Ab2, Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F and Vip3Aa20 expressed in genetically modified maize. The results demonstrated a high susceptibility of field populations of *S. frugiperda* to chlorfenapyr, a low resistance allele frequency and lack of cross-resistance to major insecticides and Bt proteins. Therefore, chlorfenapyr can be used as an importante tool in IRM programs of *S. frugiperda* in Brazil.

**Keywords:** fall armyworm, insect resistance management, cross-resistance

## 1. INTRODUÇÃO

O sistema de produção de soja, milho e algodão tem sido caracterizado pela sobreposição e sucessão de cultivos no Brasil nas últimas décadas, principalmente na região do cerrado, o que tem acarretado o aumento de problemas de pragas. Uma das consequências da intensificação da agricultura tem sido o aumento do número de pulverizações de inseticidas para o controle dessas pragas. O grande desafio em programas de controle de pragas envolvendo o uso de inseticidas é a seleção de linhagens resistentes (METCALF, 1980), pois o aumento da frequência de indivíduos resistentes pode levar ao fracasso no controle de pragas tornando a resistência um problema econômico.

Uma das pragas mais relevantes em sistemas de produção de cultivos no Brasil tem sido *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), considerada a principal praga da cultura do milho (CRUZ, 1995), mas devido ao seu hábito polífago, esta praga tem causado sérios danos em outros cultivos, tais como de algodão, soja, sorgo, arroz e trigo (MOSCARDI; KASTELIC, 1984; CORTEZ; WAQUIL, 1997; BOTTON et al., 1998; DEGRANDE, 1998). O controle de *S. frugiperda* tem sido feito principalmente com o uso de inseticidas, o que contribuiu para a evolução da resistência a inseticidas. Casos de resistência de *S. frugiperda* tem sido detectados para inseticidas dos principais grupos químicos, tais como piretroides, organofosforados, benzoilureias e espinosinas (DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001; CARVALHO et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2016; OKUMA et al., 2018). A utilização de inseticidas com diferentes mecanismos de ação é uma das estratégias de manejo da resistência de insetos a inseticidas (GEORGHIOU, 1983). Nesse contexto, o inseticida chlorfenapyr, que tem um modo de ação único, apresenta-se como alternativa para o manejo da resistência a inseticidas em *S. frugiperda*.

O inseticida chlorfenapyr pertence ao grupo químico dos análogos de pirazol que atuam na respiração celular. Este inseticida atua como um desacoplador da fosforilação oxidativa via interrupção do gradiente de prótons da membrana mitocondrial impedindo a formação de ATP (TREACY et al., 1994). Casos de resistência a chlorfenapyr já têm sido reportados em pragas agrícolas, tais como *Tetranychus urticae* (UESUGI; GOKA; OSAKABE, 2002; HERRON; ROPHAIL; WILSON, 2004; VAN LEEUWEN; STILLATUS; TIRRY, 2004; NICASTRO et al., 2013; FERREIRA et al., 2015), *Plutella xylostella* (JIANG et al., 2015; ZHANG et al., 2016; LIMA NETO;

SIQUEIRA, 2017; WANG et al., 2018), *Oxycarenushy alinipennis* (ULLAH; SHAH; SHAD, 2016), *Bemisia tabaci* (AHMAD; AKHTAR, 2018), *Diaphorina citri* (NAEEM et al., 2016) e *Earias vittella* (AHMAD; IQBAL ARIF, 2009).

Até o presente momento ainda não foi documentado fracassos no controle de *S. frugiperda* com o uso de chlorfenapyr. Contudo, devido ao potencial risco de evolução de resistência, estudos para subsidiar a implantação de estratégias proativas de manejo da resistência devem ser realizados. Sendo assim, os objetivos da presente dissertação foram caracterizar e monitorar a suscetibilidade de *S. Frugiperda* a chlorfenapyr, estimar a frequência dos alelos da resistência a chlorfenapyr e avaliar a resistência cruzada de chlorfenapyr em linhagens resistentes de *S. frugiperda* a inseticidas e proteínas Bt, com o intuito de prolongar a vida útil dessa molécula é fornecer bases para a implementação de estratégias em programas de manejo da resistência.

## 2. CONCLUSÕES

- A suscetibilidade a chlorfenapyr em populações de *S. frugiperda* no Brasil é alta.
- A frequência do alelo da resistência a chlorfenapyr em populações de *S. frugiperda* no Brasil é baixa.
- Não há resistência cruzada em *S. frugiperda* entre chlorfenapyr e os inseticidas: lambda-cyhalothrin, chlorpyrifos, lufenuron, teflubenzuron, spinosad e chlorantraniliprole e as proteínas: Cry1F, Cry1A.105/Cry2Ab2, Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F e Vip3Aa20 expressas em milho geneticamente modificado.



### 3. REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.; AKHTAR, K. P. Susceptibility of cotton whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) to diverse pesticides in Pakistan. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 4, p. 1834–1841, 3 ago. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/jee/toy112>>.
- AHMAD, M.; IQBAL ARIF, M. Resistance of Pakistani field populations of spotted bollworm *Earias vittella* (Lepidoptera: Noctuidae) to pyrethroid, organophosphorus and new chemical insecticides. **Pest Management Science**, v. 65, n. 4, p. 433–439, 22 jan. 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.1702>>.
- BOTTON, M.; CARBONARI, J. J.; GARCIA, M. S.; MARTINS, J. F. S. Preferência alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz e capim-arroz. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 207–212, 1998.
- CARVALHO, R. A.; OMOTO, C.; FIELD, L. M.; WILLIAMSON, M. S.; BASS, C. Investigating the Molecular Mechanisms of Organophosphate and Pyrethroid Resistance in the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, 2013.
- CORTEZ, M. G. R.; WAQUIL, J. M. Influência de cultivar e nível de infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no rendimento do sorgo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 407-410, 1997.
- CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, CNPMS, 1995. 45 p. (Circular Técnica, 21).
- DEGRANDE, P. E. **Guia prático de controle das pragas do algodoeiro**. Dourados: UFMS, 1998. 60p.
- DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 311-316, 2001.
- GEORGHIOU, G. P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. (eds.), **Pest resistance to pesticides**. Springer, 1983. p. 769–792.
- HERRON, G. A.; ROPHAIL, J.; WILSON, L. J. Chlorfenapyr resistance in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from Australian cotton. **Experimental & Applied Acarology**, v. 34, n. 3, p. 315–321, nov. 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10493-004-0407-z>>.
- HUNT, D.; F. TREACY, M. Pyrrole Insecticides: A New Class of Agriculturally Important Insecticides Functioning as Uncouplers of Oxidative Phosphorylation. In: ISHAAYA, I.; DEGHEELE, D. (Ed.). **Insecticides with Novel Modes of Action: Mechanism and Application**. Berlin: Springer-Verlag, 1998. p. 138-151.
- JIANG, T.; WU, S.; YANG, T.; ZHU, C.; GAO, C. Monitoring Field Populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) for Resistance to Eight Insecticides in

China. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 65–73, 1 mar. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1653/024.098.0112>>.

LIMA NETO, J. E.; SIQUEIRA, H. Á. A. D. E. Selection of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: plutellidae) to chlorfenapyr Resistance: heritability and the number of genes involved. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 1067-1072, 2017.

METCALF, R. L. Changing Role of Insecticides in Crop Protection. **Annual Review of Entomology**, v. 25, n. 1, p. 219–256, 1 jan. 1980. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev.en.25.010180.001251>>.

MOSCARDI, F.; KASTELIC, J. G. Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja, PR. **EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). Resultados de pesquisa de soja**, v. 1985, p. 128, 1984.

NAEEM, A.; FREED, S.; JIN, F. L.; AKMAL, M.; MEHMOOD, M. Monitoring of insecticide resistance in *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) from citrus groves of Punjab, Pakistan. **Crop Protection**, v. 86, p. 62–68, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219416300709>>.

NASCIMENTO, A. R. B. do; FARIAS, J. R.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; OMOTO, C. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science**, v. 72, n. 4, p. 810–815, 2016.

NICASTRO, R. L.; SATO, M. E.; ARTHUR, V.; DA SILVA, M. Z. Chlorfenapyr resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*: stability, cross-resistance and monitoring of resistance. **Phytoparasitica**, v. 41, n. 5, p. 503–513, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12600-013-0309-x>>.

OKUMA, D. M.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; SILVA, A. P.; OMOTO, C. Inheritance and fitness costs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to spinosad in Brazil. **Pest Management Science**, v. 74, n. 6, p. 1441–1448, 14 dez. 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ps.4829>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

SHIN, E.-H.; KIM, N.-J.; KIM, H. K.; PARK, C.; LEE, D.-K.; AHN, Y. J.; CHANG, K.-S. Resistance of field-collected populations of *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae) to insecticides in the Republic of Korea. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 15, n. 1, p. 1–4, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226861511000896>>.

TREACY, M.; MILLER, T.; BLACK, B.; GARD, I.; HUNT, D.; HOLLINGWORTH, R. M. Uncoupling activity and pesticidal properties of pyrroles. **Biochemical Society Transactions**, v. 22, n. 1, p. 244-247, 1 fev. 1994. Disponível em: <<http://www.biochemsoctrans.org/content/22/1/244.abstract>>.

UESUGI, R.; GOKA, K.; OSAKABE, M. H. Genetic Basis of Resistances to Chlorfenapyr and Etoxazole in the Two-Spotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 6, p. 1267–1274, 1 dez. 2002. Disponível

em: <<http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-95.6.1267>>.

ULLAH, S.; SHAH, R. M.; SHAD, S. A. Genetics, realized heritability and possible mechanism of chlorfenapyr resistance in *Oxycarenus hyalinipennis* (Lygaeidae: Hemiptera). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 133, p. 91–96, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357516300141>>.

VAN LEEUWEN, T.; STILLATUS, V.; TIRRY, L. Genetic analysis and cross-resistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Experimental & Applied Acarology**, v. 32, n. 4, p. 249, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1023/B:APPA.0000023240.01937.6d>>.

WANG, X.; WANG, J.; CAO, X.; WANG, F.; YANG, Y.; WU, S.; WU, Y. Long-term monitoring and characterization of resistance to chlorfenapyr in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from China. **Pest Management Science**, v. 0, n. ja, 25 set. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ps.5222>>.

YOO, D.-H.; SHIN, E.-H.; LEE, D.-K.; AHN, Y. J.; CHANG, K.-S.; KIM, H.-K.; KIM, S.-Y.; PARK, C. Insecticide susceptibility of field-collected populations of *Culex tritaeniorhynchus* in the Republic of Korea. **Journal of Insect Science**, v. 13, n. 1, p. 2, 1 jan. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1673/031.013.0201>>.

ZHANG, S.; ZHANG, X.; SHEN, J.; MAO, K.; YOU, H.; LI, J. Susceptibility of field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to a selection of insecticides in Central China. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 132, p. 38–46, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357516300062>>.