

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE JOANINHAS PREDADORAS AO LAMBDA-
CIALOTRINA

por

AGNA RITA DOS SANTOS RODRIGUES

(Sob Orientação do Professor Jorge Braz Torres)

RESUMO

Inseticidas e inimigos naturais são empregados nos agroecossistemas dividindo o mesmo objetivo de reduzir populações de pragas. No entanto, raros são os exemplos da ação simultânea com resultados aditivos ou sinérgicos de controle. A resistência em joaninhas ao lambda-cialotrina, produto utilizado para o controle de pragas não alvo das joaninhas, pode resultar em uso simultâneo do controle biológico e químico. Assim, neste estudo foi investigada a suscetibilidade de 28 populações brasileiras de oito espécies de joaninhas e duas populações de joaninhas norte americanas ao inseticida lambda-cialotrina, bem como a caracterização dos mecanismos e herança da resistência em espécies com alto grau de tolerância. Entre as populações e espécies estudadas foram determinadas razões de resistência variando de 11- a 38-vezes em quatro populações de *Eriopis connexa* Germar e de 220-vezes para a população americana de *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, sendo assim consideradas como selecionadas em campo para resistência ao lambda-cialotrina. Além disso, baseado na DL₅₀ de sete espécies estudadas com ocorrência natural em algodoeiro, 22 e 96% das populações foram mais tolerantes à maior dose recomendada do lambda-cialotrina para uso na cultura do algodão e a DL₅₀ estimada para *Anthonomus grandis* Boh., respectivamente. A população estudada de *E. connexa* possui

herança da resistência autossomal e incompletamente dominante, enquanto que a resistência *knockdown* em *H. convergens* é ligado ao sexo e incompletamente recessiva. Os testes indicaram herança poligênica para *E. connexa*. Para *E. connexa* e *H. convergens*, a dominância efetiva variou em função da dose utilizada. O butóxido de piperonila (PBO) inibiu completamente o metabolismo do lambda-cialotrina em *E. connexa*, tornando a população resistente similar a população suscetível, enquanto que em *H. convergens*, o metabolismo foi apenas parcialmente inibido por este sinergista. Vale ressaltar que foi observada alta atividade de esterases na população resistente de *E. connexa*. Estes resultados compõem o primeiro relato de resistência de joaninhas à inseticida no Brasil e a primeira caracterização da herança e metabolismo quanto à resistência de joaninhas no mundo.

PALAVRAS-CHAVE: Coccinellidae, piretróide, suscetibilidade, herança da resistência, metabolismo.

CHARACTERIZATION OF RESISTANCE TO LAMBDA-CYHALOTHRIN IN PREDATORY
LADYBEETLES

by

AGNA RITA DOS SANTOS RODRIGUES

(Under the Direction of Professor Jorge Braz Torres)

ABSTRACT

Insecticides and natural enemies are used or preserved sharing the same objective of reducing pest populations in the crop ecosystems. However, the examples of simultaneous action with additive or synergistic outcomes are rare. The resistance in lady beetles to the insecticide lambda-cyhalothrin, which is widely used against pests nontarget of the lady beetles, can result in simultaneous use of chemical and at least partial biological control. In this study was investigated the susceptibility of 28 Brazilian and 2 North American lady beetle populations to the lambda-cyhalothrin. Furthermore, studies were conducted to characterize the mechanisms and the inheritance of resistance for those species exhibiting high levels of tolerance to lambda-cyhalothrin. Among the studied populations resistance ratios were determined varying from 115- to 38-fold in four populations of *Eriopis connexa* Germar and 220-fold in one North American population of *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville; therefore, there is strong evidence for selection of resistance to lambda-cyhalothrin in the field. Further, 22 and 96% of the Brazilian populations exhibited LD₅₀ value that exceed the recommended lambda-cyhalothrin dose to spray cotton fields and the LD₅₀ calculated for boll weevil (*Anthonomus grandis* Boh.). The lady beetle *E. connexa* exhibited autosomal and incompletely dominant inheritance of resistance to lambda-

cyhalothrin; while the knockdown effect for *H. convergens* was sex linked and incompletely recessive. The tests indicated polygenically inherited resistance for both species with effective dominance varying as function of the dose applied. Resistance in *E. connexa* was completely inhibited with piperonyl butoxide (PBO), while the resistance in *H. convergens* was only partially inhibited with this synergist. High level of esterase activity was found in the resistant population of *E. connexa*. These results show the first record of resistance for lady beetles in Brazil and the first characterization of inheritance of resistance and metabolism related to insecticide resistance in lady beetles in the world.

KEY WORDS: Coccinellidae, pyrethroids, susceptibility, inheritance of resistance, metabolism.

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE JOANINHAS PREDADORAS AO LAMBDA-
CIALOTRINA

Por

AGNA RITA DOS SANTOS RODRIGUES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2012

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE JOANINHAS PREDADORAS AO LAMBDA-
CIALOTRINA

Por

AGNA RITA DOS SANTOS RODRIGUES

Comitê de Orientação:

Jorge Braz Torres – DEPA/UFRPE

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira – DEPA/UFRPE

John Russell Ruberson – UGA

José Eudes de Moraes Oliveira – Embrapa Semiárido

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE JOANINHAS PREDADORAS AO LAMBDA-
CIALOTRINA

por

AGNA RITA DOS SANTOS RODRIGUES

Orientador:

Jorge Braz Torres – UFRPE

Examinadores:

John Russell Ruberson - UGA

Miguel Michereff Filho – Embrapa Hortaliças

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira – UFRPE

Reginaldo Barros – UFRPE

DEDICATÓRIA

À Deus por ter me dado força para superar meus obstáculos e paz de espírito quando mais precisei.
Aos meus pais pelo carinho e amor incondicional.
Aos meus irmãos pela confiança e ajuda para que realizasse meus humildes sonhos. Aos meus pequenos pela esperança de dias repletos de felicidade.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela bolsa de estudo concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), através do Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior (PDEE), processo BEX 7095/10-4.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola (PPGEA) pela oportunidade da realização deste curso.

À University of Georgia pela oportunidade para executar parte da minha pesquisa.

Ao meu Orientador Jorge Braz Torres por todo e qualquer tipo de auxílio prestado durante o tempo de convívio, principalmente pelas palavras e confiança.

Aos professores do PPGEA por promoverem nossa formação profissional, em especial a Herbert, Manoel Guedes e Vargas.

Ao professor John R. Ruberson por toda ajuda e conhecimento passado durante o estágio na UGA, bem como a todos do laboratório que contribuíram para a realização deste trabalho.

À Michael D. Toews pelo acolhimento e auxílio durante a realização deste trabalho.

À Duncan McClusky, Juan Carlos Diaz-Perez e Xinzhi Ni que promoveram a integração entre alunos estrangeiros com bons momentos de descontração.

À John Herbert, Ta-I Huang, Ishakh, Anne Marie, Anita, Siva, Obinna e Miguel Soria pela amizade estabelecida.

À Karla Diaz por ter feito meus dias mais suaves seja pela ajuda na criação das joaninhas ou pela convivência do dia a dia.

Aos secretários da Coordenação da Fitossanidade, Darci, Romildo e Ariella, pela dedicação e presteza.

À Miguel Michereff Filho por um dia ter se preocupado comigo e ajudado quando precisei.

À Mirian Fernandes Furtado Michereff pela amizade sincera e profissionalismo que trago como referência.

Ao amigo Hélio Wilson “Mestre da Ciência” que sempre transmitiu palavras de incentivo e se fez presente em minha vida.

Ao “Dr. Pesquisador PhD” Joézio e ao mestre Ivênio pela confiança. A minha irmã Heliete, Sandrinha, pela dedicação.

À Joana Maria Santos Ferreira, Marcelo da Costa Mendonça e Genésio Tâmara Ribeiro pela experiência.

Às pessoas de cada Laboratório por onde passei: Entomologia da Embrapa CPATC, Biologia Animal em Viçosa e Entomologia da UGA.

Aos alunos do PPGEA.

À Aline Spíndola, Paloma, Daniel e Ivan por terem sido alicerce do meu trabalho.

Aos meninos e amigos do laboratório: Felipe Colares, Eduardo, Emerson, Robério, Itílio, Êzio, Martin e Maurício.

Às amigas: Alice Maria, Christian, Roberta Leme, Amanda, Poliana, Aldeni, Laura, Cléo e Nicolle.

À Cecília por palavras de apoio e incentivo, aliados a momentos de diversão mesmo quando acometida por angústia.

À Karla Fernanda e Jennifer pelo significado que têm em minha vida.

Aos componentes do eterno grupo Maguari: Alan, Aline Alves, José Reginaldo, Vanice e Viviane.

Aos meus pais José Arlindo Rodrigues e Josefa dos Santos Rodrigues fonte de amor inesgotável. Aos meus irmãos: Alexandra, Alex, Adeyde e Werik. Aos irmãos adquiridos: Robson, Valmir e Marcela. Aos meus pequenos, razão da minha vida: Ana Melanie, Matheus, Meyve, Júnior, Miguel e Brenno.

Enfim, a todos os colegas, companheiros e diversos que um dia conheci.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
Controle químico de pragas agrícolas	3
Efeitos dos inseticidas em inimigos naturais.....	5
Seletividade de inseticidas	6
Resistência a inseticidas	8
Documentação da resistência a inseticidas em inimigos naturais	11
Seletividade integrada no manejo de pragas	14
Inseticidas piretróides: características, classificação e modo de ação	16
Mecanismos de resistência de artrópodes a piretróides	19
Herança da resistência a piretróides	22
Coccinellidae: preferência alimentar e história de vida	24
Papel de joaninhas no controle biológico.....	26
LITERATURA CITADA.....	29
2 SUSCETIBILIDADE AO LAMBDA-CIALOTRINA EM POPULAÇÕES DE JOANINHAS PREDADORAS.....	42
RESUMO	43
ABSTRACT	44

INTRODUÇÃO	45
MATERIAL E MÉTODOS	47
RESULTADOS.....	51
DISCUSSÃO.....	53
AGRADECIMENTOS	58
LITERATURA CITADA.....	59
3 HERANÇA DA RESISTÊNCIA AO LAMBDA-CIALOTRINA EM <i>Eriopsis connexa</i> (GERMAR) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE).....	68
RESUMO	69
ABSTRACT	70
INTRODUÇÃO	71
MATERIAL E MÉTODOS	74
RESULTADOS.....	80
DISCUSSÃO.....	82
AGRADECIMENTOS	87
LITERATURA CITADA.....	88
4 RESISTÊNCIA DE <i>Eriopsis connexa</i> (GERMAR) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) AO LAMBDA-CIALOTRINA É MEDIADA POR ESTERASES.....	98
RESUMO	99
ABSTRACT	100
INTRODUÇÃO	101
MATERIAL E MÉTODOS	103

RESULTADOS.....	109
DISCUSSÃO.....	111
AGRADECIMENTOS.....	115
LITERATURA CITADA.....	115
5 CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO LAMBDA-CIALOTRINA EM POPULAÇÃO DE CAMPO DE <i>Hippodamia convergens</i> (GUÉRIN- MÉNEVILLE) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE).....	123
RESUMO	124
ABSTRACT	125
INTRODUÇÃO	126
MATERIAL E MÉTODOS	129
RESULTADOS.....	135
DISCUSSÃO.....	139
AGRADECIMENTOS.....	147
LITERATURA CITADA.....	148

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O controle de artrópodes-pragas foi moderadamente satisfatório com a utilização de inseticidas/acaricidas de primeira geração, compostos inorgânicos, contendo arsênio e fluoreto, ou produtos botânicos tais como nicotina, rotenona e piretrinas (Casida 1980). Os compostos inorgânicos foram substâncias utilizadas em grande quantidade, enquanto que os produtos botânicos não estavam amplamente disponíveis, por eram muito caros e com baixa fotoestabilidade (Casida & Quistad 1998). Com a descoberta e utilização dos produtos da segunda geração, os primeiros compostos orgânicos sintéticos, principalmente os hidrocarbonetos clorados (DDT, aldrin e dieldrin) e organofosforados, o controle de pragas foi considerado praticamente alcançado (Casida 1980), uma vez que tais produtos apresentavam efeito letal a qualquer organismo e em quantidades relativamente baixas comparadas aos inseticidas inorgânicos (Casida & Quistad 1998). E, assim, todos os problemas referentes ao controle de pragas pareciam ter sido resolvidos ou solucionáveis (Casida & Quistad 1998).

Apesar dos benefícios obtidos com a utilização dos primeiros compostos orgânicos sintéticos, o amplo espectro de ação e a persistência destes produtos acarretaram diversos problemas toxicológicos e ambientais (Newsom 1967). Dentre eles, ressurgência de pragas, surtos de pragas secundárias, resistência¹ e impacto na população de inimigos naturais (Bartlett 1964,

¹A resistência é uma característica pré-adaptativa, genética e hereditária (Dobzhansky 1951), definida como a habilidade herdada de um organismo em tolerar ou evitar doses de um tóxico que seriam letais para a maioria dos indivíduos da mesma espécie (WHO 1957, WHO 1960).

Georghiou 1972, Croft 1990), com este último aspecto geralmente influenciando os demais (Croft 1990).

Inimigos naturais podem influenciar a ocorrência de ressurgência de pragas se o rápido aumento da população da praga-alvo é observado após a aplicação de um agrotóxico (inseticida, acaricida, fungicida e herbicida), em resposta a eliminação de grande parte da população dos seus agentes de controle (Bartlett 1964). Por outro lado, o surto de pragas secundárias é registrado se o aumento populacional é referente a uma praga não-alvo do produto utilizado (van den Bosch *et al.* 1982). Adicionalmente, casos de resistência em artrópodes-alvos podem ser resultantes da ausência de controle exercido por inimigos naturais sobre indivíduos sobreviventes da praga-alvo (i.e., resistentes) após a exposição ao produto (Johnson & Tabashnik 1999).

Como forma de minimizar os problemas oriundos do controle químico e maximizar a ação de inimigos naturais (controle biológico²), surgiu o manejo integrado de pragas (MIP) (Croft 1990). O princípio fundamental do MIP é a utilização harmoniosa e integrada de diferentes métodos de controle de pragas (Stern *et al.* 1959). Dentre os métodos usualmente utilizados têm-se o controle genético, legislativo, físico e mecânico-cultural, resistência de plantas, comportamental, biológico e o controle químico, com este último apresentando posição de destaque. Uma das táticas de utilização do controle químico é o uso dos produtos de maneira a minimizar o impacto sobre os agentes de controle biológico. Assim, recomenda-se o uso somente quando a população da praga-alvo atinge o nível de controle (i.e., densidade populacional da praga que requer medidas curativas de controle), de forma a conservar a população de inimigos naturais nos agroecossistemas (Stern *et al.* 1959). A tomada de decisão para a utilização do

²Ação de predadores, parasitóides e patógenos, reduzindo a população de um organismo a níveis inferiores aos que seriam observados sem a sua presença (DeBach 1968).

controle químico, também, busca minimizar os efeitos negativos dos produtos químicos sobre os agentes de controle biológico através da seletividade que pode ser mediante a seletividade fisiológica (produto mais tóxico para a praga-alvo do que para o agente de controle biológico) ou através da seletividade ecológica (minimizar o contato entre o inseticida com o agente de controle biológico).

Controle químico de pragas agrícolas

O uso de inseticidas constitui uma tática chave no manejo integrado de pragas, com a produtividade da cultura dependendo da sua eficiência (Jeyanthi & Kombairaju 2005). Com a descoberta dos primeiros produtos orgânicos sintéticos hidrocarbonetos clorados (Moduladores de canais de sódio e antagonistas de canais de cloro mediados pelo GABA), organofosforados, carbamatos (ambos inibidores da acetilcolinesterase) e piretróides (modulador do canal de sódio) (Casida 1980), houve uma ampla substituição dos produtos inorgânicos e botânicos no controle de pragas em meados da década de 30 até os anos 70 (Tomizawa & Casida 2005). Assim, os principais produtos inorgânicos contendo arsênio e fluoreto (produzindo problemas digestivos e até mesmo ação tóxica sobre diversos órgãos) e botânicos como a nicotina (agonista do receptor nicotínico da acetilcolina), a rotenona (inibidor do complexo da cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria) e as piretrinas (modulador do canal de sódio) passaram de posição de destaque para menor importância no mercado de inseticidas (Isman 2006).

Em razão dos problemas oriundos da utilização dos primeiros produtos orgânicos sintéticos, houve a tentativa de descoberta de novas moléculas com diferentes modos de ação e/ou de modificações nas formas de utilização. Por exemplo, produtos botânicos voltaram a receber atenção no mercado para o controle de pragas, principalmente com a descoberta de novos

metabólitos secundários de plantas como a azadiractina e os óleos essenciais, mostrando efeito deterrente e tóxico em artrópodes pragas (Isman 2006). Outros produtos utilizados são os inseticidas reguladores de crescimento, vulgarmente conhecidos por IGRs (*insect growth regulator*) que fazem parte da terceira geração de inseticidas (Williams 1967). Os IGRs (inibidores da síntese de quitina, juvenóides, anti-juvenóides e agonistas de ecdisteróides) ainda apresentam limitado uso na agricultura pela lenta ação e atuar apenas em algumas fases do ciclo de vida e serem específicos para determinados grupos de insetos (Casida & Quistad 1998).

O sistema nervoso de artrópodes sempre foi e continua sendo alvo de diferentes produtos para o controle de pragas (Casida & Quistad 1998). Assim, novas moléculas com atividade neurotóxica também foram desenvolvidas, principalmente buscando reduzir o efeito da resistência cruzada, sendo alguns exemplos: avermectina e análogos (ativadores de canais de cloro) (Kornis 1995), neonicotinóides (agonistas do receptor nicotínicos da acetilcolina) (Tomizawa & Casida 2005), oxadiazinas (bloqueadores de canais de sódio dependentes da voltagem) (McCann *et al.* 2001), espinosinas (ativadores alostéricos de receptores nicotínicos da acetilcolina) (Salgado & Sparks 2005) e fenilpirazóis (antagonistas de canais de cloro mediados pelo GABA) (Gant *et al.* 1998). Por outro lado, produtos sem ação neurotóxica também foram desenvolvidos e são utilizados para o controle de pragas. Por exemplo, as diamidas antranílicas que apresentam como sítio alvo os canais de cálcio (Lahm *et al.* 2005). Estas moléculas atuam nos receptores da rianodina, acarretando a ativação da liberação irregular dos estoques de cálcio das células, provocando letargia, paralisia e morte do inseto (Cordova *et al.* 2006). Outros produtos com ação tóxica para insetos são listados em www.ira-br.org.br/Arquivos/Folder_Acao.pdf.

Efeitos dos inseticidas em inimigos naturais

Letalidade é o efeito imediato de inseticidas comumente observados nos inimigos naturais (Johnson & Tabashnik 1999). No entanto, além de letalidade, estes produtos podem produzir diversos efeitos subletais (Blümen *et al.* 2000). Os efeitos letais e subletais podem ocorrer através do contato direto e indireto com os inseticidas (Johnson & Tabashnik 1999). De modo geral, os inimigos naturais podem estar expostos diretamente, no momento da aplicação do produto (pulverização e fumigação) (Croft 1990). Outra forma de exposição é através do contato com resíduo na planta, dependendo principalmente do comportamento da espécie em questão e de propriedades do produto utilizado (Croft 1990). Já o contato indireto refere-se ao impacto mediado pela cadeia trófica através da presa, hospedeiro e derivados de plantas contaminados (Waage 1989) e; também, pela diminuição e mudança na distribuição da população de presas e/ou hospedeiros (Powell *et al.* 1985, Waage 1989).

Dentre os efeitos subletais frequentemente citados, tem-se o prolongamento do período de desenvolvimento, redução da viabilidade de imaturos, deformações, redução da fecundidade, da fertilidade e da longevidade, alteração da razão sexual e do comportamento de predação ou parasitismo (Johnson & Tabashnik 1999). Recentemente, este tema foi revisado por Desneux *et al.* (2007), apresentando um sumário dos efeitos subletais de diversos inseticidas em diferentes organismos benéficos, incluindo o grupo de inimigos naturais. Apesar de receber menor atenção, casos de hormese³ após a utilização de doses subletais também têm sido registrados em inimigos naturais (Zanuncio *et al.* 2003, Guedes *et al.* 2009).

³ Hormese (hormaein = excitar) é um fenômeno bifásico, onde a resposta de um organismo é estimulada por baixas doses de um composto e inibido em altas doses (Calabrese & Baldwin 2001).

O impacto de pesticidas em vários grupos de inimigos naturais (ácaros, dípteros, crisopídeos, himenópteros parasitoides e coccinelídeos) foi resumido por Croft (1990). Este autor também apresenta diversos fatores que podem influenciar a resposta de inimigos naturais a pesticidas: atributos intrínsecos aos inimigos naturais (classificação taxonômica, estágio do ciclo de vida, idade, tamanho, peso, sexo, ocorrência de diapausa e ritmo circadiano), das presas ou hospedeiros (estratégia de alimentação, densidade populacional, nutrição), ambientais (temperatura, luminosidade e pH) e dos produtos em si (tipo, dose e formulação, bem como os métodos de aplicação).

Uma das formas de reduzir o impacto de inseticidas nos inimigos naturais é a busca da seletividade (Ruberson *et al.* 1998). Sendo assim, o primeiro passo é reconhecer os efeitos potenciais que um produto pode vir a produzir no inimigo natural e quais são os fatores que podem contribuir para o aumento ou a redução dos efeitos negativos da utilização do produto.

Seletividade de inseticidas

Seletividade é a capacidade de um pesticida controlar a praga enquanto não afeta os inimigos naturais e outras espécies não-alvo (Croft 1990). A seletividade pode ser fisiológica ou ecológica (Ripper *et al.* 1951, Newson *et al.* 1976, Hull & Beers 1985), entretanto a distinção entre essas duas categorias pode não ser simples. Isto porque a forma de aplicação de um determinado produto pode influenciar a fisiologia do artrópode quando da exposição (Croft 1990). A seletividade tem sido tópico frequente de discussão, entretanto o principal fator para a escolha do produto a ser utilizado é a redução das perdas provocadas pela praga, com eficiência e rapidez, ficando a seletividade do produto ao inimigo natural em segundo plano (Croft 1990).

A seletividade fisiológica refere-se à presença de uma característica entre os dois organismos, praga-alvo e inimigo natural, que permite a discriminação entre eles em termos de mortalidade quando exposto ao pesticida (Hull & Beers 1985). Basicamente, este tipo de seletividade está relacionado à tolerância da espécie de inimigo natural ao produto (Mullin & Croft 1985). Dentre as características fisiológicas que podem vir a distinguir artrópodes pragas de inimigos naturais podemos citar: a taxa de penetração, excreção, sequestro, destoxificação e insensibilidade de sítio alvo (Croft 1990).

Raros são os casos onde a praga-alvo é mais suscetível do que o inimigo natural a um dado produto em um determinado agroecossistema (Croft & Brown 1975). Apesar de novas moléculas terem sido descobertas e utilizadas em substituição aos hidrocarbonetos clorados (historicamente com maior impacto em inimigos naturais), os produtos da segunda geração, ainda hoje utilizados no manejo de pragas, apresentam baixa seletividade a estes agentes de controle (produtos de contato) (Bartlett 1964, Hull & Beers 1985). Com destaque para os organofosforados, carbamatos e piretróides, principais produtos no mercado, indicados para controle de ampla gama de pragas (Casida & Quistad 1998).

Uma das formas de minimizar o efeito da oferta limitada de produtos seletivos é a utilização de estratégias ecologicamente seletivas (Newson *et al.* 1976). Principalmente, pela exposição diferencial de inimigos naturais em relação à praga-alvo, seja através de características do produto *per se* ou da manipulação da forma de aplicação (Hull & Beers 1985). Mudanças na formulação (encapsulamento do ingrediente ativo) e no grau de ação sistêmica são exemplos de alterações intrínsecas que podem promover seletividade aos pesticidas. Entretanto, a ação sistêmica como forma de obtenção de seletividade ecológica não é válida para inimigos naturais que se alimentam ocasionalmente de produtos da planta (Torres *et al.* 2010). Já a diminuição das doses utilizadas e

da frequência de aplicação dos produtos, o uso de produtos pouco persistentes, a aplicação de produtos em razão da distribuição temporal e espacial dos inimigos naturais no habitat se enquadram no princípio da seletividade ecológica (Hull & Beers 1985, Croft 1990, Johnson & Tabashnik 1999).

Ao considerar o tema “seletividade”, dois aspectos são controversos. O primeiro aspecto diz respeito à seletividade ecológica, principalmente porque a utilização de subdoses ou a redução da frequência de aplicação, que pode promover parcial controle da praga-alvo (Johnson & Tabashnik 1999). Entretanto, apesar de permitir a sobrevivência de indivíduos-praga, seu controle poderia ser exercido pelos inimigos naturais que sobrevivem a subdoses do produto no campo (Tabashnik & Croft 1982). Já o segundo retrata a ocorrência de inimigos naturais tolerando doses de pesticidas que controlam a praga-alvo (inimigos naturais resistentes), como uma forma alternativa de se obter a seletividade fisiológica (Croft 1990, Johnson & Tabashnik 1999). Fato que é dificilmente observado e registrado, quando comparado aos artrópodes-pragas (Tabashnik & Johnson 1999).

Resistência a inseticidas

A evolução da resistência a pesticidas por populações de artrópodes-pragas é o maior problema não resolvido da entomologia aplicada (Tabashnik & Croft 1982). Após a utilização intensiva de pesticidas sintéticos por décadas, populações de artrópodes vêm sendo expostas e selecionadas a um ou diferentes produtos, reduzindo a probabilidade de obtenção de uma população não-selecionada ou suscetível em campo. Em razão da resistência múltipla⁴ e cruzada⁵,

⁴Quando a co-ocorrência de diferentes mecanismos resistência confere sobrevivência a grupos químicos distintos (Metcalf 1955).

⁵Sobrevivência de indivíduos após a exposição a produtos quimicamente relacionados, promovida por um único

os artrópodes-pragas toleram grande parte dos pesticidas disponíveis para seu controle (Metcalf 1980). Assim, Whalon & Ghaghey (1998), re-definiram resistência como um processo micro-evolucionário, onde a alteração genética resultante da pressão de seleção pelo uso de pesticida produz populações de artrópodes com diferenciado e difícil modo de manejo.

Diversos fatores contribuem para a rápida evolução e o crescente número de casos de resistência em artrópodes a pesticidas (Georghiou & Taylor 1977a, 1977b). Dentre os fatores genéticos e bioecológicos são citados a frequência inicial, número e dominância de alelos que conferem resistência, o número de gerações por ano, o desempenho reprodutivo, o modo de reprodução, a ocorrência de movimento entre ambientes (dispersão e migração), a preferência alimentar e refúgio para as populações da praga (Georghiou & Taylor 1977a). Além destes fatores, o uso abusivo e indiscriminado de pesticidas para o controle de pragas é um dos principais contribuintes para a evolução da resistência, causando aumento na frequência e na dose aplicada e/ou da substituição por um produto mais tóxico (Georghiou 1986).

O primeiro caso de resistência foi detectado em 1914, na cochonilha-de-São-José *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock) (Hemiptera: Diaspididae) ao enxofre em pó (Melander 1914). Desde então, o número de casos de resistência tem sido registrados, contando com cerca de 600 espécies de artrópodes resistentes a um ou diferentes produtos (Whalon *et al.* 2011). Maiores informações sobre o registro de resistência em artrópodes podem ser obtidas na publicação online: “Arthropod Pesticide Resistance Database”, o APRD (<http://www.pesticideresistance.org>).

As principais ordens de artrópodes com espécies resistentes são em ordem decrescente: Diptera, Lepidoptera, Acari, Coleoptera e Hemiptera. Na maioria, os casos de resistência na ordem Diptera são relacionados a espécies vetores de doenças em humanos e animais, enquanto

mecanismo de resistência (Metcalf 1955).

que para as demais ordens, a seleção para resistência ocorre em diferentes agroecossistemas (Whalon *et al.* 2008). Estes autores também listaram as 20 primeiras espécies de artrópodes resistentes a diferentes produtos, sendo 13 pragas agrícolas, com destaque para *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), espécie que apresenta resistência a mais de 80 produtos utilizados para o seu controle (Whalon *et al.* 2008).

A insensibilidade de sítio-alvo, a destoxificação metabólica e a reduzida penetração de inseticidas têm sido relatadas como os principais mecanismos de resistência de artrópodes a inseticidas e acaricidas (Georghiou & Taylor 1986), com as respostas comportamentais sendo citadas com menor frequência. A insensibilidade de sítio-alvo pode ser resultante da alteração da sequência de aminoácidos que formam a proteína, por exemplo, promovendo modificações na sua conformação. Dois tipos de insensibilidade de sítio-alvo têm sido frequentemente citados, a acetilcolinesterase alterada (organofosforados e carbamatos), e a resistência *knockdown* (*kdr*) ou super *kdr* (DDT e piretróides) (Miller 1988, Price 1991). A destoxificação metabólica é composta por reações enzimáticas que transformam compostos tóxicos em produtos mais hidrofílicos e menos tóxicos (Price 1991). Em geral, a clivagem hidrolítica (esterases), reações oxidativas (mediadas pelo complexo da citocromo P-450) e de conjugação (glutathione-S-transferase) são os processos mais importantes (Metcalf 1989). Já a redução na penetração pode ser resultante da interação entre propriedades físico-químicas da molécula (coeficiente de partição, lipofilicidade, dentre outros) (Brooks 1976) e da cutícula do artrópode (maior conteúdo lipídico e protéico) (Vinson & Law 1971). Já as respostas comportamentais, tais como repelência, irritabilidade, xenofobia ou exofilia visam evitar a sua exposição ao produto (Georghiou 1972).

Documentação da resistência a inseticidas em inimigos naturais

A resistência a inseticidas em artrópodes-pragas é um fator que dificulta o manejo de pragas. Já a evolução da resistência em inimigos naturais é considerada benéfica, visto que permite a sobrevivência de indivíduos após a utilização de inseticida, podendo atuar como agentes de controle para indivíduos da praga, que sobrevivem ao tratamento. E, até mesmo a atuação simultânea desses métodos de controle. Assim, o uso de inimigos naturais resistentes a inseticidas seria um grande avanço no manejo integrado de pragas. Entretanto, pouco se sabe e tem sido feito nesta área.

O registro de casos de inimigos naturais resistentes é relativamente baixo (Croft 1990). Das 500 espécies de artrópodes resistentes registradas até 1990, somente 32 eram predadores ou parasitóides, sendo 11 espécies de Hymenoptera (Aphelinidae, Braconidae, Eulophidae, Trichogrammatidae, Aphidiidae), 12 Acari (Phytoseiidae), um Dermaptera (Labiduridae), dois Hemiptera (Geocoridae e Nabidae), um Araneae (Clubionidae), um Neuroptera (Chrysopidae), um Diptera (Cecidomyiidae) e três Coleoptera (Coccinellidae) (Croft 1990). Após 20 anos deste sumário, não houve acréscimo significativo de casos de novas espécies de inimigos naturais apresentando resistência (6 casos), sendo quatro de Hymenoptera, um Acari e um Coleoptera (Staphylinidae), enquanto que foram adicionados aproximadamente 100 espécies de pragas à lista desde o sumário feito por Georghiou em 1986 (Whalon *et al.* 2011).

Diversas hipóteses tentam explicar o porquê da menor ocorrência de resistência em inimigos naturais quando comparados a artrópodes-pragas. De acordo com Tabashnik & Johnson (1999), isto pode ser consequência da falta de documentação. Populações de inimigos naturais aumentando nas lavouras não atraem atenção, como no caso das espécies pragas e, assim, podem estar gerando uma distorção na descoberta de populações de inimigos naturais resistentes em

relação às populações de herbívoros. Também, sendo função das técnicas e parâmetros de avaliação (Croft & Brown 1975).

Outras hipóteses são referentes à pré-adaptação diferencial e limitação de alimento (Croft & Morse 1979). A pré-adaptação diferencial baseia-se em diferenças nos mecanismos de destoxificação, variação genética, comportamental e ecológica, sugerindo uma baixa probabilidade de seleção de inimigos naturais para resistência. Portanto, poucos estudos são destinados a esta área devido à menor probabilidade de obtenção de sucesso. Dentre as hipóteses relacionadas à pré-adaptação diferencial, a destoxificação enzimática recebe posição de destaque (Croft & Morse 1979). Tal fato está relacionado à maior capacidade de fitófagos em destoxificar tais produtos, uma vez que eles são frequentemente desafiados pelas defesas metabólicas das plantas (Plapp & Bull 1978). Entretanto, as diferenças entre inimigos naturais e pragas para tolerância a inseticidas baseando na destoxificação tem sido desmistificada (Theiling & Croft 1988). Já a hipótese de limitação de alimento refere-se à escassez de presas e/ou hospedeiros para os inimigos naturais que sobrevivem após as pulverizações de produtos não seletivos, tendo como principais consequências, a dispersão destes para outra área em busca de alimento e falhas em sua reprodução (Georghiou 1972).

O primeiro caso registrado de resistência em inimigos naturais foi com *Macrocentrus ancylivorus* Rohwer (Hym.: Braconidae) parasitóide de *Grapholitha molesta* (Busck) (Lep.: Tortricidae) (Croft 1990). Entretanto, dentre os inimigos naturais, os ácaros da família Phytoseiidae tem recebido maior atenção, sendo considerados modelos para estudos de resistência, em razão de seu modo de reprodução, baixa dispersão e características biológicas (Croft & Brown 1975). Por exemplo, ácaros predadores oriundos de pomares de citros, videira, macieira e de outros agroecossistemas, são documentados possuindo considerável variabilidade

no grau de suscetibilidade a uma gama de inseticidas e acaricidas, com algumas espécies consideradas altamente resistentes (Croft 1990, Tabashnik & Johnson 1999). Vale ressaltar que Poletti & Omoto (2003) revisaram a ocorrência de resistência nesse grupo de inimigos naturais, abordando também casos de utilização de inimigos naturais resistentes como ferramenta no manejo de pragas.

Outro grupo de inimigos naturais apresentando resistência são as joaninhas predadoras (Coleoptera: Coccinellidae). Apesar de Croft (1990) citar as joaninhas *Stethorus punctum* (LeConte) e *Stethorus punctillum* (Weise) como espécies resistentes ao azinfol-metil na cultura da maçã (Hull & Starner 1983, Pasqualini & Malavolta 1985), tal observação não foi confirmada. Até então, a detecção de resistência em populações de joaninhas refere-se aos estudos com *Coleomegilla maculata* (De Geer) na cultura do algodão (Head *et al.* 1977, Graves *et al.* 1978) e com *Stethorus gilvifrons* (Muls.) em macieira (Kumral *et al.* 2011).

Apesar do primeiro registro de resistência em Neuroptera ter sido feito em 1985 para *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae), foram os estudos recentes que geraram maiores informações sobre a resistência nesta espécie. Pathan *et al.* (2008) detectaram resistência de *C. carnea* a diferentes produtos pertencentes aos grupos dos piretróides e organofosforados. Dentre os produtos testados, os organofosforados clorpirifós e profenofós e os piretróides lambda-cialotrina, alfametrina e deltametrina. Em sequência, estudos foram conduzidos visando determinar os mecanismos e caracterizar a herança de resistência, bem como a ocorrência de custo adaptativo e potencial de predação (Pathan *et al.* 2010, Sayyed *et al.* 2010).

Os resultados com *C. carnea* demonstram que apesar de raros, é possível detectar populações de inimigos naturais resistentes em campo quando estes também são expostos à pressão de seleção pelo uso de inseticidas. Além de raros, muitos estudos não deram continuidade

para o entendimento do fenômeno. Estudos posteriores devem ser conduzidos após a constatação da resistência, visando obter informações adicionais que possam permitir a ampliação da utilização de outros inimigos naturais resistentes no manejo de pragas, como tem sido realizado com ácaros predadores. Entretanto, a manutenção de populações de inimigos naturais resistentes esbarra na necessidade da produção da presa/hospedeiro para a sua criação (difícil obtenção ou alto custo de produção), na possibilidade de ocorrência de custos adaptativos com baixa sobrevivência e reprodução, bem como na instabilidade da resistência, não sendo mantida nas gerações futuras sem pressão de seleção ou mesmo após a liberação em campo.

Seletividade integrada no manejo de pragas

Em agroecossistemas, a importância de inimigos naturais geralmente é aparente quando ocorre a redução drástica da população após a utilização de inseticidas (Dutcher 2007). Entretanto, reduzir completamente o impacto de tais produtos em inimigos naturais é praticamente impossível se eles são utilizados para o controle de pragas. Isto somente poderia ser obtido se inseticidas não fossem utilizados, o que é improvável. A análise das espécies individualmente denota vários efeitos dos inseticidas (efeitos letais e subletais) (Johnson & Tabashnik 1999, Desneux *et al.* 2007). Mesmo produtos considerados seletivos (bioinseticidas) apresentam impacto para alguma espécie de inimigo natural, tais como a redução da população de presa/hospedeiro, efeito na sobrevivência e reprodução, repelência, e etc. Este pode ser o motivo pelo qual ao se estudar seletividade, somente poucas espécies destes agentes de controle são consideradas (i.e., aquelas consideradas fatores chave de mortalidade) (Croft 1990).

Apesar de vários produtos terem sido desenvolvidos e seus efeitos em alguns grupos de inimigos naturais serem observados, a seletividade fisiológica é difícil de ser obtida.

Principalmente, porque a tolerância natural aos inseticidas em inimigos naturais não é comum, e a evolução de resistência não é freqüente (Croft 1990). Além disso, a redução da dose e frequência de aplicação de inseticidas para controle de pragas (seletividade ecológica) não é vista como uma opção viável. Então, a integração das seletividades fisiológica e ecológica é uma alternativa para o manejo de pragas⁶, reduzindo o impacto de inseticidas em inimigos naturais, mesmo quando são utilizados produtos com amplo espectro de ação (organofosforados, piretróides e carbamatos) (Casida & Quistad 1998). Principalmente, porque estes produtos oferecem um rápido controle, produzindo efeito letal à praga por contato, antes desta causar injúrias às plantas (Dutcher 2007).

Produtos com atividade sistêmica ou em forma de grânulos (aplicados via tratamento de sementes ou no sulco de plantio) são exemplos comuns de utilização de produtos não seletivos de forma seletiva para determinados grupos de inimigos naturais (Torres *et al.* 2010). Deve-se considerar que mesmo estando o produto tóxico no interior da planta, reduzindo a probabilidade de contato com o inimigo natural (Hull & Beers 1985), alguns grupos de inimigos naturais com ocorrência natural no solo tais como carabídeos, ou mesmo, predadores de parte aérea da planta, que se alimentam desta ocasionalmente, podem sofrer impacto de inseticidas sistêmicos.

Além do mais, a seletividade deixa de ser vista simplesmente como uma característica entre o inimigo natural, a praga alvo e inseticida, e passa a ser considerada também como uma resposta de inimigos naturais a diferentes produtos utilizados no manejo de pragas (Inglesfield 1989). Assim, estudos são conduzidos comparando o efeito de produtos essencialmente não seletivos, mas que produzem resultados diferenciados. Por exemplo, utilizar organofosforados como padrão para testar o impacto de piretróides em inimigos naturais em diferentes agroecossistemas (Inglesfield 1989). Se a escolha reside entre produtos não seletivos, que a opção viável seja aquela

⁶ Seletividade integrada

que produza menor impacto em inimigos naturais, entretanto produza controle da praga satisfatoriamente. Sendo assim, piretróides recebem posição de destaque, em razão da produção de *knockdown*, letalidade, espectro de ação, atividade residual, repelência e deterrência de alimentação para artrópodes-pragas e do menor impacto em inimigos naturais quando comparado a outros produtos (Hirano 1989), bem como do baixo preço e da indicação de uso para diversas culturas (Watkinson 1989).

Inseticidas piretróides: características, classificação e modo de ação

Os inseticidas piretróides têm sido amplamente utilizados no controle de diversas pragas, mesmo sendo a resistência de pragas-alvo o maior empecilho para sua utilização de forma sustentável. Estes inseticidas fazem parte da segunda geração, formada pelos primeiros compostos orgânicos sintéticos (Casida 1980). Piretróides, a exemplo dos hidrocarbonetos clorados (em geral, DDT, aldrin e dieldrin), organofosforados e carbamatos, apresentam como característica principal a toxicidade ao nervo (Casida 1980). Entretanto, os inseticidas piretróides atuam tanto no sistema nervoso periférico quanto no sistema nervoso central (Miller 1988). Dentre os inseticidas lipofílicos, os piretróides sintéticos são os mais tóxicos (Casida 1980). Os piretróides foram formados por modificações estruturais das piretrinas extraídas das flores do piretro, *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. (Asteraceae) (Elliott 1976). Estas moléculas são principalmente ésteres formados pela combinação de um álcool e ácido meiótico (Elliott & Janes 1978). As relações de estrutura-atividade em piretróides são baseadas principalmente na forma e estereoquímica da molécula, em oposição as suas propriedades eletrônicas (Sattelle & Yamamoto 1988). Assim, o ponto crucial para o sucesso dos inseticidas piretróides foi escolher as piretrinas I (maior atividade inseticida) (Sawicki *et al.* 1962), em relação às piretrinas II (melhor efeito

knockdown) (Sawicki & Thain 1962), como estrutura modelo para produção das moléculas sintéticas (Khambay & Jewess 2010).

O alvo dos inseticidas piretróides são os canais iônicos de sódio dependente da voltagem (Catterall 1984), formados por proteínas transmembranares presentes nas células eletricamente excitáveis (Dong 2007). A subunidade alfa destas proteínas apresenta quatro domínios similares (I-IV) em arranjo circular, com seis segmentos (S1-S6), onde o poro é formado (Catterall 1992). Abertura e fechamento do poro ocorrem em razão da mudança na conformação da proteína (Zlotkin 1999). Em resposta à diferença de potencial produzida na membrana após um estímulo, os canais de sódio são ativados, permitindo o fluxo de íons sódio para o interior das células (Narahashi 1987). De modo geral, o canal de sódio media o rápido aumento da permeabilidade deste íon durante a fase ascendente do potencial de ação nas membranas das células excitáveis (Catterall 1992). Milissegundos após a ativação destes canais, a inativação dos canais de sódio é observada em associação a ativação de canais de potássio, que permitem o fluxo de potássio para o meio extracelular (Narahashi 1987). Estes processos são responsáveis pela fase descendente do potencial de ação (Dong 2007). Apesar de poderem interagir com os canais iônicos de sódio, de potássio e de cloro mediado pelo GABA, é a interação dos piretróides no canal de sódio que produz provavelmente todo o efeito tóxico em insetos (Miller 1988). A ligação de piretróides no canal de sódio acarreta no prolongamento da abertura deste canal (reduzindo a taxa de inativação), aumentando o período de permeabilidade do sódio na membrana e atrasando a saída de potássio da célula (Soderlund & Bloomquist 1989). E, assim, descargas repetitivas, aumento do pós-potencial negativo e bloqueio da condutância (excitabilidade) fazem parte das respostas eletrofisiológicas observadas no nervo (Yamamoto 1970).

Os piretróides têm sido classificados em dois grupos (tipos I e II), baseando-se na sua resposta biológica, eletrofisiológica e ação no nervo (Khambay & Jewess 2010). Dentre os principais sintomas dos piretróides tipo I são: rápida demonstração de envenenamento mesmo em doses subletais, hiperatividade frequentemente produzindo efeito *knockdown*, e baixa mortalidade com alta taxa de recuperação. Enquanto que os piretróides tipo II estão relacionados à lenta demonstração de sinais de intoxicação, convulsão seguida de paralisia e alta mortalidade com menor recuperação. Apesar das exceções (fluvalinato e bifentrina), os sintomas demonstrados após a aplicação do inseticida têm sido associados à ausência (tipo I) ou presença (tipo II) de um grupo ciano na molécula, em conjunção ao álcool meiótico, que aumenta a atividade inseticida do piretróide (Khambay & Jewess 2010). Os piretróides tipo I atuam preferencialmente nos nervos periféricos, causando a síndrome do tremor, enquanto que os do tipo II (alfa-ciano na molécula) agem no sistema nervoso central, produzindo falta de coordenação motora e aumento na salivação (Soderlund & Bloomquist 1989).

O modo de ação dos piretróides não constituía uma única ou nova opção para controle de artrópodes-pragas e, sim uma forma de controle alternativa em substituição ao DDT e outros hidrocarbonetos clorados (Casida 1980). Em comparação ao DDT, os piretróides apresentam-se mais ativos e com menor acúmulo no ambiente (Elliott & Janes 1978). Dentre as principais características dos piretróides sintéticos, podemos citar: maior estabilidade em campo quando comparados a alguns organofosforados e carbamatos, ausência de fitotoxicidade nas doses utilizadas, rápido metabolismo e eliminação em mamíferos conferindo baixa toxicidade, limitada persistência no solo, e maior toxicidade, que permite menor quantidade de ingrediente ativo a ser aplicado por área, diminuindo os custos com inseticidas (Elliott 1976). Entretanto, piretróides não são indicados como substitutos de organofosforados e carbamatos, se atividade sistêmica é

almejada, visto que piretróides apresentam menor solubilidade em água (Casida 1980). Para maiores detalhes dos aspectos químicos e ação inseticida dos piretróides consultar Yamamoto (1970), Elliott (1976), Elliott & Janes (1978), Casida (1980), Soderlund & Bloomquist (1989) e Catterall (1992).

Mecanismos de resistência de artrópodes a piretróides

No caso de piretróides e DDT, a insensibilidade de sítio-alvo é promovida pela alteração dos canais de sódio dependente da voltagem (Sattelle & Yamamoto 1988). Estes canais são mais suscetíveis a modificações na voltagem da membrana do nervo do que à mudança de concentração de neurotransmissores (Ffrench-Constant *et al.* 2004). Para piretróides, a resistência conferida pela insensibilidade de sítio-alvo foi primeiramente classificada como resistência *knockdown* (*kdr*) em *Musca domestica* L. (Dip.: Muscidae) (Farnham 1977). Informações iniciais sobre a resistência *kdr* foram obtidas a partir de estudos de clonagem que culminaram na identificação do gene *para^{ts}* (produz efeito paralítico), conduzidos com *Drosophila melanogaster* Meigen (Dip.: Drosophilidae) (Loughney *et al.* 1989). Em seguida, a associação do gene *para^{ts}* ao fenótipo *kdr* foi realizada em *M. domestica* (Williamson *et al.* 1993). A substituição de um único aminoácido na sequência deste gene foi identificada, promovendo resistência cruzada tanto ao efeito paralítico quanto à ação letal de piretrinas, DDT e de todos os inseticidas piretróides (Soderlund & Bloomquist 1990). Posteriormente, uma segunda substituição de aminoácidos foi identificada, produzindo resistência na forma “super *kdr*” (Miyazaki *et al.* 1996), conferindo altos graus de resistência (Price 1991). Entretanto, a magnitude de resposta é dependente da estrutura do piretróide (Miller 1988).

Yamamoto (1970) sugeriu que a hidrólise da ligação éster é o maior mecanismo de destoxificação de piretróides. Entretanto, a participação de enzimas do complexo da citocromo P-450 tem sido relatada com frequência, com menor influência da glutathione-S-transferase (Khambay & Jewess 2010). De fato, as reações enzimáticas comumente observadas nos piretróides é a clivagem da ligação éster por esterases ou oxidases, e a hidroxilação do anel aromático ou do grupo metil por oxidases. Vale ressaltar que as reações mediadas por esterases são dependentes da estereo-química do ácido ciclopropanocarboxílico, sendo os isômeros *trans* melhores substratos para esterases quando comparados aos *cis* (Soderlund & Casida 1977), e moléculas com a presença do grupo ciano retardando o metabolismo de piretróides por esterases e, provavelmente, por enzimas oxidativas (Casida 1980).

De modo geral, a redução da penetração de inseticidas através da cutícula tem sido frequentemente citada como agente modificador/intensificador do metabolismo ou da resistência promovida pela insensibilidade de sítio-alvo, do que um mecanismo de resistência propriamente dito (Plapp 1976). De fato, os níveis de resistência conferidos pela alteração na penetração de inseticidas são reduzidos quando comparado a ele associado a outros mecanismos de resistência (Scott 1991). Para Georghiou (1972), a reduzida penetração do inseticida, em associação a genes destoxificativos, pode multiplicar o grau de resistência, principalmente em baixas doses do inseticida. Isto porque a menor taxa de penetração de inseticida por unidade de tempo poderia permitir que o sistema metabólico destoxificasse o produto na medida em que este entrasse no organismo e/ou reduzir a quantidade de produto que vem a interagir no sítio-alvo (Georghiou 1972).

A resistência cruzada a diferentes piretróides e ao DDT pode indicar a insensibilidade de sítio-alvo como mecanismo de resistência (resistência *kdr*) (Soderlund & Bloomquist 1990).

Também, a detecção da resistência *kdr* pode ser realizada através de técnicas de biologia molecular (kits que permitem a identificação de mutações alterando o sítio-alvo dos piretróides) (Khambay & Jewess 2010). Exemplos de mutações observadas são: a substituição de leucina para fenilalanina no domínio IIS6 (L1014F) e de metionina para treonina no domínio IIS4-S5 (M918T) (Miyazaki *et al.* 1996, Williamson *et al.* 1996). Este tipo de resistência pode resultar na perda da utilização da classe de piretróides, uma vez que este tipo de mecanismo confere resistência a praticamente todos os produtos, não sendo inibida por produtos sinergistas (Soderlund & Knipple 2003). Sendo assim, a prévia detecção e a caracterização da resistência *kdr* é de suma importância para o desenvolvimento de estratégias para o manejo da resistência (Soderlund & Knipple 2003).

A utilização de sinergistas associados aos inseticidas (inibindo a enzima responsável pelo metabolismo do produto e, conseqüentemente, aumentando a atividade inseticida) é considerada um primeiro indicativo para a atuação do metabolismo (Scott 1991). Dentre os sinergistas, o butóxido de piperonila (PBO), trifetil fosfato (TEPP) e maleato de dietila (DEM) são os mais conhecidos (Price 1991). Estes produtos são conhecidos por inibir monooxigenases de função mista (ex., citocromo P-450), hidrolases (esterases) e glutationa-S-transferase, respectivamente (Scott 1991). Apesar de o PBO ser amplamente conhecido por inibir monooxigenases de função mista, este produto tem sido classificado como sinergista não exclusivo, apresentando papel na inibição de esterases (Gunning *et al.* 1998, Young *et al.* 2005). O uso de sinergista permite a identificação do metabolismo na resistência, entretanto a participação de um sistema enzimático pode ser melhor compreendida a partir de reações enzima-substrato modelo (Khambay & Jewess 2010).

O envolvimento da penetração reduzida do inseticida tem sido observado utilizando produtos marcados (C^{14}) em diferentes intervalos de tempo após a aplicação do produto. Estes

estudos têm mostrado a participação da penetração reduzida como fator de resistência, favorecendo a destoxificação de inseticidas em populações resistentes quando comparadas a populações suscetíveis (Abd-Elghafar *et al.* 1994, Ahmad *et al.* 2006).

Herança da resistência a piretróides

A base genética da herança da resistência a piretróides tem sido investigada em diversos artrópodes. Frequentemente, a resistência a piretróides tem sido herdada como um fator autossomal, variando de incompletamente dominante a incompletamente recessivo (Collins 1998, Hardstone *et al.* 2007, Balasubramani *et al.* 2008, Cardozo *et al.* 2010, Sayyed *et al.* 2010). Entretanto, variações podem ocorrer em relação à ligação ao sexo (McDonald & Schmidt 1987, Guedes *et al.* 1994, Follet *et al.* 1995) e o número de genes influenciando a resistência (Scott & Georghiou 1986, Raymond *et al.* 1989, Bouvier *et al.* 2001, Hardstone *et al.* 2009). De modo geral, o mecanismo da resistência relacionado à destoxificação metabólica tem sido conferido por um traço dominante ou co-dominante (Hardstone *et al.* 2007, Sayyed *et al.* 2010), enquanto que a resistência *kdr*, em geral, é governada por caráter recessivo (Liu *et al.* 1981, Halliday & Georghiou 1985, Payne *et al.* 1988, Tan & McCaffery 1999).

Apesar de amplamente utilizado, o grau de dominância da resistência não indica uma propriedade intrínseca de um alelo (Sved & Mayo 1970), uma vez que a sua expressão é variável em relação à dose utilizada (Bourguet *et al.* 2000). Estudos têm demonstrado que ao serem utilizadas baixas doses de inseticidas piretróides, a resistência pode ser classificada como funcionalmente dominante, já ao serem utilizadas doses elevadas, a resistência pode ser classificada como funcionalmente recessiva (Roush *et al.* 1986, Balasubramani *et al.* 2008, Sayyed *et al.* 2010). Este padrão de resposta pode ser observado se a dose aplicada é suficiente

para permitir ou não a sobrevivência de heterozigotos, levando ao termo dominância efetiva conforme definido por Curtis *et al.* (1978).

A resistência tem sido considerada crítica quando um fator monogênico tem produzido mudança drástica na sobrevivência de artrópodes pragas em campo após a aplicação de um produto (Roush & McKenzie 1987). Apesar da evolução da resistência poligênica ser dita com menor efeito e pouco observada ao nível de campo (pela menor frequência de genótipo de resistência) (Mckenzie & Batterham 1994), a herança poligênica pode promover resistência múltipla a diferentes classes de produtos. Por exemplo, a seleção conjunta de alelos que conferem insensibilidade de sítio-alvo, reduzida penetração cuticular ou resistência metabólica (Hardstone & Scott 2010). Mesmo que organofosforados, carbamatos e piretróides não compartilhem similar sítio-alvo, estes produtos geralmente apresentam ligações ésteres, que são alvo de enzimas do complexo de monooxigenases de função mista e esterases. Tendo em vista a gama de produtos que é utilizada para controle de pragas, a seleção de alelos que conferem herança poligênica pode ser mais frequente do que se imagina. Vale ressaltar que a interação entre genes (aditividade, sinergismo ou antagonismo) é um fator por si só considerado complexo na herança da resistência (Hardstone *et al.* 2009).

Conclusões não podem ser realizadas somente considerando dados de bioensaios de curva mortalidade em laboratório (Aguilar-Tipacamu *et al.* 2008). Independente se a resistência é determinada por um fator autossomal ou ligada ao sexo, informações sobre a frequência inicial de alelos de resistência, o tamanho da população, a razão sexual em campo, custo adaptativo, a ocorrência de movimento entre ambientes (dispersão e migração) e de múltiplas cópulas devem ser obtidas (Roush & McKenzie 1987). Adicionalmente, estudos visando determinar a natureza do gene ou da interação dos genes envolvidos na resistência, a ocorrência de custo adaptativo para

manter genes individuais ou diferentes genes em interação na ausência de aplicação de inseticidas e o efeito da presença de um ou diversos mecanismos de resistência devem ser realizados (Hardstone & Scott 2010). Para Hardstone *et al.* (2009), quando diferentes mecanismos de resistência são detectados, faz-se necessário investigar o papel de cada mecanismo isolado na resistência e as interações entre os diferentes genótipos devem ser consideradas.

Coccinellidae: Preferência alimentar e história de vida

Coleópteros da família Coccinellidae são vulgarmente conhecidos como coccinelídeos ou joaninhas (Hodek & Honěk 1996). Membros desta família podem ser classificados como fungívoros, fitófagos ou entomófagos (Majerus 1994). Como grupo, as joaninhas entomófagas podem ser consideradas polífagas, apesar do significado que o estereótipo “predadores de pulgões” sugere (Weber & Lundgren 2009). Além de pulgões, as joaninhas podem utilizar como fonte de alimento cochonilhas, psilídeos e moscas-brancas (Hodek & Honěk 2009), ácaros (Biddinger *et al.* 2009), ovos e imaturos de coleópteros e lepidópteros (Evans 2009) e alimento não-presa (Lundgren 2009). Se considerarmos as regiões Tropicais e Subtropicais, cochonilhas apresentam-se como “alimento essencial” para 36% dos coccinelídeos, enquanto que 20% são primariamente afidófagos (Hodek & Honěk 2009). Giorgi *et al.* (2009) apresenta uma visão global da classificação taxonômica, filogenia e preferência alimentar em coccinelídeos, indicando as joaninhas como grupo de inimigos naturais, diversificado e amplamente distribuído nos agroecossistemas.

No Brasil, as principais espécies de joaninhas predadoras são *Cycloneda sanguinea* (L.), entre outras espécies de *Cycloneda* Crotch (Araujo-Siqueira & Almeida 2006), *Eriopis connexa* Germar, *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville, *Coleomegilla maculata* De Geer, *Olla v-*

nigrum (Mulsant), *Scymnus* sp. Kugelann, *Brachyacantha* sp. Chevrolat e, recentemente, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Gassen 1986, Gravena 2005, Torres *et al.* 2009).

As joaninhas são predadoras tanto na fase de larva quanto na fase adulta (Hodek 1973). Em geral, as fêmeas ovipositam em diversos substratos, mas preferencialmente, em locais colonizados por presas de suas larvas (Hodek 1967). A partir da eclosão, as larvas se dispersam pela planta à procura de presas, permanecendo restritas e submetidas às condições daquela planta devido a pouca capacidade de dispersão entre plantas e habitats (Ferran & Dixon 1993). A pupa é formada no próprio substrato aderida a este pela última exúvia da larva (Hodek 1973). A depender de sua preferência alimentar, os adultos podem dispersar a procura de um novo habitat, mesmo havendo disponibilidade de alimento no local (Hodek 1967). O forrageamento de joaninhas não é um processo completamente aleatório, sendo parcialmente direcionado por pistas visuais e olfativas (Seagraves 2009). Quando comparadas a outros inimigos naturais, as joaninhas apresentam maior tamanho corpóreo, são agressivas e bem defendidas contra predação (Weber & Lundgren 2009).

As joaninhas têm recebido maior atenção em razão da predação intraguilda exercida por algumas espécies (em especial, *H. axyridis*) que pode vir a gerar ruptura do controle biológico ou substituição de espécies nativas (Pell *et al.* 2008, Weber & Lundgren 2009). Características intrínsecas da guilda de predadores, tais como o tamanho corporal, padrões comportamentais, a produção de defesa química e física, amplitude da dieta e mobilidade influenciam quais espécies serão potenciais predadoras ou presas na interação intraguilda (Weber & Lundgren 2009). Apesar de serem amplamente aceitas como predadoras, as joaninhas podem se tornar presas intraguilda de formigas, crisopídeos e percevejos pentatomídeos (Majerus *et al.* 2007, Lucas 2005).

Papel de joaninhas no controle biológico

As joaninhas possuem grande contribuição para o manejo integrado de pragas pela predação sobre artrópodes pequenos e de corpo macio passível de ataque como pulgões, cochonilhas, ácaros, ovos e lagartas neonatas em diferentes agroecossistemas (Hagen 1962). De forma documentada, a utilização de joaninhas é pioneira no controle biológico clássico, devido ao sucesso da introdução da joaninha *Rodolia cardinalis* (Mulsant) em 1888, na Califórnia, EUA, visando ao controle de *Icerya purchasi* Maskell (Hemiptera: Margarodidae) (Caltagirone & Doutt 1989). No Brasil, as joaninhas *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant foi introduzida visando ao controle da cochonilha-branca-dos-citros (Gravena 2003); e a joaninha multicolorida da Ásia, *H. axyridis*, introduzida acidentalmente a partir de populações da Argentina (Almeida & Silva 2002). *H. axyridis* é uma espécie voraz que ocorre em diferentes habitats e possui ampla gama de presas, acarretando impacto tanto em pragas quanto em outras espécies benéficas (predação intraguilda) (BioControl, edição especial, volume 52, 2008, p. 1-287).

Apesar de joaninhas atuarem no controle biológico de cochonilhas e ácaros, os pulgões têm sido alvo de destaque. Membros das subfamílias Coccinellinae e Scymninae são os principais grupos de predadores de pulgões (Volkl *et al.* 2007), praga em algum momento da maioria das plantas de importância econômica (van Emden & Harrington 2007). Os pulgões usualmente reproduzem em grandes populações, provocando redução de crescimento das plantas e, conseqüente queda na produção (Quisenberry & Ni 2007). Em razão de sua alimentação, os pulgões geralmente produzem “honeydew” (produto de excreção liberado sobre as plantas), acarretando o aparecimento do fungo oportunista denominado “fumagina” (Reynolds 1999). Entretanto, o principal problema com os pulgões ocorre quando são vetores de fitoviroses, tornando-os praga severa (Nault 1997).

A real contribuição das joaninhas no manejo integrado na redução das populações das pragas é ainda controversa (Völkl *et al.* 2007). Apesar das joaninhas colonizarem os mais variados habitats, serem vorazes predadores, apresentarem alta capacidade de busca, e poderem utilizar ampla gama de presas e alimentos não presas (Hodek & Honěk 1996), existem fatores que dificultam a sua eficácia. A assincronia entre predador e presa (Kindlmann *et al.* 2007), e o desequilíbrio provocado pelo uso de inseticidas para o controle de pragas-alvo (hemípteros) e não-alvo de joaninhas (coleópteros e lagartas desfolhadores) estão entre os fatores que contribuem para a ocorrência de picos populacionais de pulgões (Evans 2009). Assim, uma das formas de corrigir a assincronia populacional entre as joaninhas e suas presas é permitir que os indivíduos presentes nas lavouras não sejam eliminados com o uso de inseticidas e produzam populações suficientes para controlar as pragas. Para tanto, ao utilizar um inseticida, este deve ser seletivo e causar o mínimo de impacto nos inimigos naturais (Ruberson *et al.* 1998). No entanto, são poucos os casos onde o inseticida organossintético é mais tóxico para a praga-alvo do que para o inimigo natural, assim, conservando-o no agroecossistema (Croft & Brown 1975).

A conservação de inimigos naturais pode ser obtida pela manipulação do ambiente e modificações das práticas de uso de inseticidas (Barbosa 1998). A manipulação do ambiente pode ser obtida pela pulverização de carboidratos e proteínas como fonte de alimento e para reduzir a dispersão e aumentar a capacidade reprodutiva do agente de controle; pela utilização de semioquímicos, ao atrair inimigos naturais para a área; e de plantas fonte alimento não presa, dentre outros (capítulos em Barbosa 1998). Já o uso de inseticidas pode favorecer aos inimigos naturais se os produtos são aplicados somente quando o nível populacional da praga atinge o nível de controle, através da utilização de produtos de baixo impacto a inimigos naturais ou da seletividade ecológica (Hull & Beers 1985, Poehling 1989, Ruberson *et al.* 1998).

Ao contrário do que é proposto, produtos sintéticos de amplo espectro de ação (organofosforados, carbamatos e piretróides) têm sido utilizados extensivamente na agricultura moderna para o controle de diversas pragas (Croft 1990), inclusive de praga alvo e praga não-alvo de joaninhas. Para obtenção da seletividade ecológica, os agrotóxicos para controle de pulgões são utilizados preventivamente através de tratamentos de sementes ou aplicação em sulcos de plantio com inseticidas sistêmicos. Já a seletividade fisiológica tem sido observada a partir de utilização de pirimicarbe no controle de pulgões. Por outro lado, as pulverizações com piretróides e organofosforados também podem ser realizadas para controle de pulgões (Dewar 2007) e, principalmente, para controle de coleópteros e lagartas desfolhadoras (Hirano 1989).

Adultos de joaninhas predadoras possuem grande mobilidade entre agroecossistemas e, portanto, tornando-se expostos à ação de inseticidas recomendados para as diferentes culturas. Quando relacionadas a outros grupos de inimigos naturais de pulgões, joaninhas predadoras são em geral mais tolerantes a inseticidas, considerando em ordem decrescente: joaninhas, crisopídeos, sirfídeos, hemípteros e parasitóides (Hodek 1973). A resposta de joaninhas predadoras a inseticidas tem sido restrita à toxicidade quando aplicadas doses ou subdoses de inseticida, ou a ocorrência de efeitos subletais (Tillman & Mulrooney 2000, Gusmão *et al.* 2000, Wang *et al.* 2003, Liu & Stansly 2004, Galvan *et al.* 2005, Cosme *et al.* 2007, Rocha *et al.* 2010). Porém, a detecção de resistência nestes agentes de controle faz-se necessária, uma vez que inimigos naturais são peças-chave no agroecossistema, sendo indicados como a primeira linha de defesa biótica para as plantas em programas de manejo de pragas (Lugojja *et al.* 2001).

Os registros iniciais de joaninhas predadoras resistentes a inseticida foram com *S. punctum*, *S. punctillum* e *C. maculata* (Croft 1990). Vale ressaltar que Hull & Starner (1983) citam uma provável seletividade de inseticidas piretróides a adultos de *S. punctum* e Pasqualini & Malavolta

(1985) não relatam *S. punctillum* resistente ao azinfos-metil na cultura da macieira. Sendo assim, a detecção de resistência em populações de joaninhas por quatro décadas foi restrita a estudos cujo inseto modelo foi *C. maculata* na cultura do algodoeiro (Croft 1990). Quando utilizada a parationa metílica, Head *et al.* (1977), obtiveram razão de resistência na ordem de 11,2 vezes para *C. maculata*. Enquanto que Graves *et al.* (1978), registraram razões de resistência para *C. maculata* na ordem de 14,6; 28,9; e 12 vezes aos inseticidas DDT, parationa metílica e monocrotofós, respectivamente. Recentemente, Kumral *et al.* (2011) detectaram a resistência em *Stethorus gilvifrons* (Muls.) ao inseticida bifentrin (10,9 vezes), abordando o papel do metabolismo na resistência desta espécie.

Assim, este trabalho teve o objetivo de investigar a ocorrência de resistência em espécies de joaninhas predadoras ao inseticida piretróide lambda-cialotrina, bem como caracterizar os casos e mecanismos envolvidos nessa resistência.

Literatura Citada

- Abd-Elghafar, S.F., G.E. Abo-Elghar & C.O. Knowles. 1994.** Fenvalerate penetration, metabolism, and excretion in pyrethroid-susceptible and resistant *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 872-878.
- Aguilar-Tipacamú, G., R.J. Miller, R. Hernández-Ortiz, R.I. Rodriguez-Vivas, C. Vásquez-Peláez, Z. García-Vázquez, F. Olvera-Valencia & R. Rosario-Cruz. 2008.** Inheritance of pyrethroid resistance and a sodium channel gene mutation in the cattle tick *Boophilus microplus*. *Parasitol. Res.* 103: 633-639.
- Ahmad, M., I. Denholm & R.H. Bromilow. 2006.** Delayed cuticular penetration and enhanced metabolism of deltamethrin in pyrethroid-resistant strains of *Helicoverpa armigera* from China and Pakistan. *Pest Manag. Sci.* 62: 805-810.
- Almeida, L.M. & V.B. Silva. 2002.** Primeiro registro de *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera, Coccinellidae): um coccinélídeo originário da região Paleártica. *Rev. Bras. Zool.* 19: 941-944.
- Araújo-Siqueira, M. & L.M. Almeida. 2006.** Estudos das espécies brasileiras de *Cycloneda* Crotch (Coleoptera, Coccinellidae). *Rev. Bras. Zool.* 23: 550-568.

- Balasubramani, V., A.H. Sayyed & N. Crickmore. 2008.** Genetic characterization of resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from India. *J. Econ. Entomol.* 101: 1911-1918.
- Barbosa, P. 1998.** Conservation biological control. New York, Academic Press, 397p.
- Bartlett, B.R. 1964.** Integration of chemical and biological control, p. 489-511. In P. DeBach (ed.), *Biological control of insects pests and weeds*. London, Chapman & Hall, 844p.
- Biddinger, D.J., D.C. Weber & L.A. Hull. 2009.** Coccinellidae as predators of mites: Stethorini in biological control. *Biol. Control* 51: 268-283.
- Blümel, S., G.A. Matthews, A. Grinstein & Y. Elad. 2000.** Pesticides in IPM: selectivity, side-effects, application and resistance problems, p. 150-167. In R. Albajes, M.L. Gullino, J.C. van Lenteren & Y. Elad. (eds.), *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 568p.
- Bourguet, D., A. Genissel & M. Raymond. 2000.** Insecticide resistance and dominance levels. *J. Econ. Entomol.* 93: 1588-1595.
- Bouvier, J.C., R. Buès, T. Boivin, L. Boudinhon, D. Beslay & B. Sauphanor. 2001.** Deltamethrin resistance in the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae): inheritance and number of genes involved. *Heredity* 87: 456-462.
- Brooks, G.T. 1976.** Penetration and distribution of insecticides, p. 3-58. In C.F. Wilkinson (ed.), *Insecticide biochemistry and physiology*. New York, Plenum Press, 768p.
- Calabrese, E.J. & L.A. Baldwin. 2001.** Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 285-291.
- Caltagirone, L.E. & R.L. Doutt. 1989.** The history of the vedalia beetle importation to California and its impact on the development of biological control. *Annu. Rev. Entomol.* 34: 1-16.
- Cardozo, R.M., F. Panzera, A.G. Gentile, M.A. Segura, R. Pérez, R.A. Díaz, M.A. Basombrío. 2010.** Inheritance of resistance to pyrethroids in *Triatoma infestans*, the main Chagas disease vector in South America. *Infect. Genet. Evol.* 10: 1174-1178.
- Casida, J.E. & G.B. Quistad. 1998.** Golden age of insecticide research: past, present, or future? *Annu. Rev. Entomol.* 43: 1-16.
- Casida, J.E. 1980.** Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environ. Health Perspec.* 34: 189-202.
- Catterall, W.A. 1984.** The molecular basis of neuronal excitability. *Science* 223: 653-661.

- Catterall, W.A. 1992.** Cellular and molecular biology of voltage-gated sodium channels. *Physiol. Rev.* 72: S15-S48.
- Collins, P.J. 1998.** Inheritance of resistance to pyrethroid insecticides in *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Stored Prod. Res.* 34: 395-401.
- Cordova, D., E.A. Benner, M.D. Sacher, J.J. Rauh, J.S. Sopa, G.P. Lahm, T.P. Selby, T.M. Stevenson, L. Flexner, S. Gutteridge, D.F. Rhoades, L. Wu, R.M. Smith & Y. Tao. 2006.** Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pestic. Biochem. Physiol.* 84: 196-214.
- Cosme, L.V., G.A. Carvalho & A.P. Moura. 2007.** Efeitos de inseticidas botânico e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 74: 251-258.
- Croft, B.A. & A.W.A. Brown. 1975.** Responses of arthropod natural enemies to insecticides. *Annu. Rev. Entomol.* 20: 285-335.
- Croft, B.A. & J.G. Morse. 1979.** Recent advances in natural enemy-pesticide research. *Entomophaga* 24: 3-11.
- Croft, B.A. 1990.** Arthropod biological control agents and pesticides. New York, John Wiley & Sons, 723p.
- Curtis, C.F., Cook, L.M. & R.J. Wood. 1978.** Selection for and against insecticide resistance and possible methods of inhibiting the evolution of resistance in mosquitoes. *Ecol. Entomol.* 3: 273-287.
- DeBach, P. 1968.** Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Cidade do México, Continental S.A., 927p.
- Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 81-106.
- Dewar, A.M. 2007.** Chemical control, p. 391-422. In H.F. van Emden & R. Harrington (eds.), *Aphids as crop pests*. Cambridge, CAB International, 717p.
- Dobzhansky, T. 1951.** *Genetics and the origin of species*. 3rd ed., New York, Columbia University Press, 364p.
- Dong, K. 2007.** Insect sodium channels and insecticide resistance. *Invert. Neurosci.* 7: 17-30.
- Dutcher, J.M. 2007.** Review of resurgence and replacement causing pest outbreaks in IPM, p. 27-43. In A. Ciancio & K.G. Mukerji (eds.), *General concepts in integrated pest and disease management*. Dordrecht, Springer, 360p.

- Elliott, M. & N.F. Janes. 1978.** Synthetic pyrethroids – a new class of insecticide. *Chem. Soc. Rev.* 7: 473-505.
- Elliott, M. 1976.** Properties and application of pyrethroids. *Environ. Health Perspectives* 14: 3-13.
- Evans, E.W. 2009.** Lady beetles as predators of insects other than Hemiptera. *Biol. Control* 51: 255-267.
- Farnham, A.W. 1977.** Genetics of resistance of houseflies (*Musca domestica* L.) to pyrethroids. I. Knock-down resistance. *Pestic. Sci.* 8: 631-636.
- Ferran, A. & F.G. Dixon. 1993.** Foraging behaviour of ladybird larvae (Coleoptera: Coccinellidae). *Eur. J. Entomol.* 90: 383-402.
- Follet, P.A., F. Gould & G.C. Kennedy. 1995.** High-realism model of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) adaptation to permethrin. *Environ. Entomol.* 24: 167-178.
- Ffrench-Constant, R.H., P.J. Daborn & G.L. Goff. 2004.** The genetics and genomics of insecticide resistance. *Trends Genet.* 20: 163-170.
- Galvan, T.L., R.L. Koch & W.D. Hutchison. 2005.** Effects of spinosad and indoxacarb on survival, development, and reproduction of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). *Biol. Control* 34: 108-114.
- Gant, D.B., A.E. Chalmers, M.A. Wolff, H.B. Hoffman & D.F. Bushey 1998.** Fipronil: action at the GABA receptor. *Rev. Toxicol.* 2: 147-156.
- Gassen, D.N. 1986.** Parasitos, patógenos e predadores e insetos associados à cultura do trigo. Passo Fundo, Embrapa Trigo, Circular Técnica, 186p.
- Georghiou, G.P. & C.E. Taylor. 1977a.** Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 319-323.
- Georghiou, G.P. & C.E. Taylor. 1977b.** Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 653-658.
- Georghiou, G.P. & Taylor. 1986.** Factors influencing the evolution of resistance, p. 157-169. In National Research Council (ed.), *Pesticide resistance: strategies and tactics for management.* Washington D.C., National Academy Press, 489p.
- Georghiou, G.P. 1972.** The evolution of resistance to pesticides. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 3: 133-68.

- Georghiou, G.P. 1986.** The magnitude of the resistance problem, p. 14-44. In National Research Council (ed.), Pesticide resistance: strategies and tactics for management. Washington, D.C., National Academy Press, 489p.
- Giorgi, J.A., N.J. Vandenberg, J.V. McHugh, J.A. Forrester, S.A. Ślipiński, K.B. Miller, L.R. Shapiro & M.F. Whiting. 2009.** The evolution of food preferences in Coccinellidae. *Biol. Control* 51: 215-231.
- Gravena, S. 2003.** Manejo ecológico da cochonilha-branca dos citros, com ênfase no controle biológico pela joaninha *Cryptolaemus montrouzieri*. *Laranja* 24: 71-82.
- Gravena, S. 2005.** Manual Prático de manejo ecológico de pragas dos citros. Jaboticabal, Gravena Ltda, 372p.
- Graves, J.B., R.B. Mohamad & D.F. Clower. 1978.** Beneficial insects also developing “resistance”. *LA. Agric.* 22: 10-11.
- Guedes, R.N.C., J.O.G. Lima, J.P. Santos & C.D. Cruz. 1994.** Inheritance of deltamethrin resistance in a Brazilian strain of maize weevil (*Sitophilus zeamais* Mots.). *Int. J. Pest Manag.* 40: 103-106.
- Guedes, R.N.C., L.C. Magalhães & L.V. Cosme. 2009.** Stimulatory sublethal response of a generalist predator to permethrin: hormesis, hormoligosis, or homeostatic regulation? *J. Econ. Entomol.* 102: 170-176.
- Gunning, R.V., G.D. Moores & A.L. Devonshire. 1998.** Inhibition of pyrethroid resistance related esterases by piperonyl butoxide in Australian *Helicoverpa armigera* and *Aphis gossypii*, p. 215-226. In G. Jones (ed.), Piperonyl butoxide: the insecticide synergist. London, Academic Press, 323p.
- Gusmão, M.R., M. Picanço, G.L.D. Leite & M.F. Moura. 2000.** Seletividade de inseticidas a predadores de pulgões. *Hortic. Bras.* 18: 130-133.
- Hagen, K.S. 1962.** Biology and ecology of predaceous Coccinellidae. *Annu. Rev. Entomol.* 7: 289-326.
- Halliday, W.R. & G.P. Georghiou. 1985.** Inheritance of resistance to permethrin and DDT in the southern house mosquito (Diptera: Culicidae). *J. Econ. Entomol.* 78: 762-767.
- Hardstone, M.C. & J.G. Scott. 2010.** A review of the interactions between multiple insecticide resistance loci. *Pestic. Biochem. Physiol.* 97: 123-128.
- Hardstone, M.C., C. Leichter, L.C. Harrington, S. Kasai, T. Tomita & J.G. Scott. 2007.** Cytochrome P450 monooxygenase-mediated permethrin resistance confers limited and larval specific cross-resistance in the southern house mosquito, *Culex pipiens quinquefasciatus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 89: 175-184.

- Hardstone, M.C., C.A. Leichter & J.G. Scott. 2009.** Multiplicative interaction between the two major mechanisms of permethrin resistance, *kdr* and cytochrome P450-monooxygenase detoxification, in mosquitoes. *J. Evol. Biol.* 22: 416-423.
- Head, R., W.W. Neel, C.R. Sartor & H. Chambers. 1977.** Methyl parathion and carbaryl resistance in *Chrysomela scripta* and *Coleomegilla maculata*. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.* 17: 163-164.
- Hirano, M. 1989.** Characteristics of pyrethroids for insect pest control in agriculture. *Pestic. Sci.* 27: 353-360.
- Hodek, I. & A. Honěk. 1996.** The ecology of Coccinellidae. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 480p.
- Hodek, I. & A. Honěk. 2009.** Scale insects, mealybugs, whiteflies and psyllids (Hemiptera, Sternorrhyncha) as prey of ladybirds. *Biol. Control* 51: 232-243.
- Hodek, I. 1967.** Bionomics and ecology of predaceous Coccinellidae. *Annu. Rev. Entomol.* 12: 79-104.
- Hodek, I. 1973.** Biology of Coccinellidae. Prague, Academy of Sciences, 260p.
- Hull, L.A. & E.H. Beers. 1985.** Ecological selectivity: Modifying chemical control practices to preserve natural enemies, p. 103-122. In M.A. Hoy & D.C. Herzog (eds.), *Biological control in agricultural IPM systems*. New York, Academic Press Inc., 589p.
- Hull, L.A. & V.R. Starner. 1983.** Impact of four synthetic pyrethroids on major natural enemies and pests of apple in Pennsylvania. *J. Econ. Entomol.* 76: 122-130.
- Inglesfield, C. 1989.** Pyrethroids and terrestrial non-target organisms. *Pestic. Sci.* 27: 387-428.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 45-66.
- Jeyanthi, H. & S. Kombairaju. 2005.** Pesticide use in vegetable crops: frequency, intensity and determinant factors. *Agric. Econ. Res. Rev.* 18: 209-221.
- Johnson, M.W. & B.E. Tabashnik. 1999.** Enhanced biological control through pesticide selectivity, p. 297-317. In T.S. Bellows & T.W. Fisher (eds.), *Handbook of biological control*. San Diego, Academic Press, 1046p.
- Khambay, B.P.S. & P.J. Jewess. 2010.** Pyrethroids, p. 1-34. In L.I. Gilbert & S.S. Gill (eds.), *Insect control*. London, Academic Press, 470p.

- Kindlmann, P., V. Jarošík, A.F.G. Dixon. 2007.** Population dynamics, p. 311-329. In H.F. van Emden & R. Harrington (eds.), *Aphids as crop pests*. Cambridge, CAB International, 717p.
- Kornis, G.I. 1995.** Avermectins and milbemycins, p. 215-255. In C.R.A. Godfrey (ed.), *Agrochemicals from natural products*. New York, Marcel Dekker, 424p.
- Kumral, N.A., N.S. Gencer, H. Susurluk & C. Yalcin. 2011.** A comparative evaluation of the susceptibility to insecticides and detoxifying enzyme activities in *Stethorus gilvifrons* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Panonychus ulmi* (Acarina: Tetranychidae). *Int. J. Acarol.* 37: 255-268.
- Lahm, G.P., T.P. Selby, J.H. Freudenberger, T.M. Stevenson, B.J. Myers, G. Seburyamo, B.K. Smith, L. Flexner, C.E. Clark & D. Cordova. 2005.** Insecticidal anthranilic diamides: a new class of potent ryanodine receptor activators. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15: 4898-4906.
- Liu, M.Y., Y.J. Tzeng & C.N. Sun. 1981.** Diamondback moth resistance to several synthetic pyrethroids. *J. Econ. Entomol.* 74: 393-396.
- Liu, T.X. & P.A. Stansly. 2004.** Lethal and sublethal effects of two insect growth regulators on adult *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae), a predator of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). *Biol. Control* 30: 298-305.
- Loughney, K., R. Kreber & B. Ganetzky. 1989.** Molecular analysis of the para locus, a sodium channel gene in *Drosophila*. *Cell* 58: 1143-1154.
- Lucas, E. 2005.** Intraguild predation among aphidophagous predators. *Eur. J. Entomol.* 102: 351-364.
- Lugojja, F., M.W. Ogenga-Latigo & N.E.J.M. Smit. 2001.** Impact of defoliation on the agronomic performance of Sweet potato in Uganda. *Afr. Crop Sci. J.* 9: 103-108.
- Lundgren, J.G. 2009.** Nutritional aspects of non-prey foods in the life histories of predaceous Coccinellidae. *Biol. Control* 51: 294-305.
- Majerus, M.E.N. 1994.** *Ladybirds*. London, Harper Collins, 367p.
- Majerus, M.E.N., Sloggett, J.J., Godeau, J.-F., Hemptinne, J.-L., 2007.** Interactions between ants and aphidophagous and coccidophagous ladybirds. *Popul. Ecol.* 49: 15-27.
- McCann S.F., G.D. Annis, R. Shapiro, D.W. Piotrowski, G.P. Lahm, J.K. Long, K.C. Lee, M.M. Hughes, B.J. Myers, S.M. Griswold, B.M. Reeves, R.W. March, P.L. Sharpe, P. Lowder, W.E. Barnette & K.D. Wing. 2001.** The discovery of indoxacarb: oxadiazines as a new class of pyrazoline-type insecticides. *Pest Manag. Sci.* 57: 153-164.
- McDonald, P.T. & C.D. Schmidt. 1987.** Genetics of permethrin resistance in the hornfly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 433-437.

- McKenzie, J.A. & P. Batterham. 1994.** The genetic, molecular and phenotypic consequences of selection for insecticide resistance. *Trends Ecol. Evol.* 9: 166-169.
- Melander, A.L. 1914.** Can insects become resistant to sprays? *J. Econ. Entomol.* 7: 167-173.
- Metcalf, R.L. 1955.** Physiological basis for insect resistance to insecticides. *Physiol. Rev.* 35: 197-232.
- Metcalf, R.L. 1980.** Changing role of insecticides in crop protection. *Annu. Rev. Entomol.* 25: 219-256.
- Metcalf, R.L. 1989.** Insect resistance to insecticides. *Pestic. Sci.* 26: 333-358.
- Miller, T.A. 1988.** Mechanisms of resistance to pyrethroid insecticides. *Parasitol. Today* 4: S8-12.
- Miyazaki, M., K. Ohyama, D.Y. Dunlap & F. Matsumura. 1996.** Cloning and sequencing of the para-type sodium channel gene from susceptible and kdr-resistant German cockroaches (*Blattella germanica*) and house fly (*Musca domestica*). *Mol. Gen. Genet.* 252: 61-68.
- Mullin, C.A. & B.A. Croft. 1985.** An update on development of selective pesticides favoring arthropod natural enemies. p. 123-150. In M.A. Hoy & D.C. Herzog (eds.), *Biological control in agricultural IPM systems*. Orlando, Academic Press, 589p.
- Narahashi, T. 1987.** Nerve membrane ion channels as the target site of environmental toxicants. *Environ. Health Perspect.* 71: 25-29.
- Nault, L.R. 1997.** Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 90: 521-541.
- Newsom, L.D. 1967.** Consequences of insecticide use on nontarget organisms. *Annu. Rev. Entomol.* 12: 257-256.
- Newsom, L.D., R.F. Smith, W.H. Whitcomb. 1976.** Selective pesticides and selective use of pesticides, p. 565-591. In C.B. Huffaker & P.S. Messenger (eds.), *Theory and practice of biological control*. New York, Academic Press, 788p.
- Pasqualini, E. & C. Malavolta. 1985.** Possibility of natural limitation of *Panonychus ulmi* (Koch) (Acarina: Tetranychidae) on apple in Emilia-Romagna. *Boll. Ist. Entomol. "Guido Grandi" Stud. Bologna* 39: 221-230.
- Pathan, A.K., A.H. Sayyed, M. Aslam, M. Razaq, G. Jilani & M.A. Saleem. 2008.** Evidence of field-evolved resistance to organophosphates and pyrethroids in *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol.* 101: 1676-1684.

- Pathan, A.K., A.H. Sayyed, M. Aslam, T.X. Liu, M. Razzaq & W.A. Gillani. 2010.** Resistance to pyrethroids and organophosphates increased fitness and predation potential of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). J. Econ. Entomol. 103: 823-834.
- Payne, G.T., R.G. Blenk & T.M. Brown. 1988.** Inheritance of permethrin resistance in the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 81: 65-73.
- Pell, J.K., J. Baverstock, H.E. Roy, R.L. Ware & M.E.N. Majerus. 2008.** Intraguild predation involving *Harmonia axyridis*: a review of current knowledge and future perspectives. BioControl 53: 147-168.
- Plapp, F.W. & D.L. Bull. 1978.** Toxicity and selectivity of some insecticides to *Chrysopa carnea*, a predator of the tobacco budworm. Environ. Entomol. 7: 431-434.
- Plapp, F.W. 1976.** Biochemical genetics of insecticide resistance. Annu. Rev. Entomol. 21: 179-197.
- Poehling, H.M. 1989.** Selective application strategies for insecticides in agricultural crops, p. 151-175. In P.C. Jepson (ed.), Pesticides and non-target invertebrates. Wimborne, Intercept, 240p.
- Poletti, M. & C. Omoto. 2003.** Resistência de inimigos naturais a pesticidas: Exploração de inimigos naturais a pesticidas em programas de manejo integrado de pragas. Biotecnol. Ciênc. Desenvol. 6: 16-26.
- Powell, W., G.J. Dean & R. Bardner. 1985.** Effects of pirimicarb, dimethoate and benomyl on natural enemies of cereal aphids in winter wheat. Ann. Appl. Biol. 106: 235-242.
- Price, N.R. 1991.** Insect resistance to insecticides: mechanisms and diagnosis. Comp. Biochem. Physiol. 100: 319-326.
- Quisenberry, S.S. & X. Ni. 2007.** Feeding injury, p. 331-352. In H.F. van Emden & R. Harrington (eds.), Aphids as crop pests. Cambridge, CAB International, 717p.
- Raymond, M., D.G. Heckel & J.G. Scott. 1989.** Interactions between pesticide genes: model and experiment. Genetics 123: 543.
- Reynolds, D.R. 1999.** *Capnodium citri*: the sooty mold fungi comprising the táxon concept. Mycopathologia 148: 141-147.
- Ripper, W.E., R.M. Greenslade & G.S. Hartley. 1951.** Selective insecticides and biological control. J. Econ. Entomol. 44: 448-459.
- Rocha, L.C.D., G.A. Carvalho, A.P. Moura, V.F. Moscardini, D.T. Rezende & O.M. Santos. 2010.** Seletividade fisiológica de inseticidas utilizados em cultura cafeeira sobre ovos e adultos de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant. Arq. Inst. Biol. 77: 119-127.

- Roush, R.T. & J.A. McKenzie. 1987.** Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 361-380.
- Roush, R.T., R.L. Combs, T.C. Randolph, J. Macdonald & J.A. Hawkins. 1986.** Inheritance and effective dominance of pyrethroid resistance in the hornfly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 79: 1178-1182.
- Ruberson, J.R., H. Nemoto & Y. Hirose. 1998.** Pesticides and conservation of natural enemies in pest management, p. 207-220. In P. Barbosa (ed.), *Conservation biological control*, New York, Academic Press, 397p.
- Salgado, V.L. & T.C. Sparks. 2005.** The spinosyns: chemistry, biochemistry, mode of action, and resistance, p. 137-173. In L.J. Gilbert, K. Iatrou & S.S. Gill (eds.), *Comprehensive molecular insect science*, Vol. 6. Oxford, UK, Elsevier, 488p.
- Sattelle, D.B. & D. Yamamoto. 1988.** Molecular targets of pyrethroid insecticides. *Adv. Insect Physiol.* 20: 147-213.
- Sawicki, R.M. & E.M. Thain. 1962.** Insecticidal activity of pyrethrum extract and its four insecticidal constituents against house flies. IV. Knock-down activities of the four constituents. *J. Sci. Food Agric.* 13: 292.
- Sawicki, R.M., M. Elliott, J.C. Gower, M. Snarey & E.M. Thain. 1962.** Insecticidal activity of pyrethrum extract and its four insecticidal constituents against house flies. I. Preparation and relative toxicity of the pure constituents; Statistical analysis of the action of mixtures of these components. *J. Sci. Food Agric.* 13: 172-185.
- Sayyed, A.H., A.K. Pathan & U. Faheem. 2010.** Cross-resistance, genetics and stability of resistance to deltamethrin in a population of *Chrysoperla carnea* from Multan, Pakistan. *Pestic. Biochem. Physiol.* 98: 325-332.
- Scott, J.G. & G.P. Georghiou. 1986.** Mechanisms responsible for high levels of permethrin resistance in the house-fly. *Pestic. Sci.* 17: 195-
- Scott, J.G. 1991.** Insecticide resistance in insects, p. 663-677. In D. Pimentel (ed.), *Handbook of pest management in agriculture*. Vol. II. 2 ed., Boca Raton, CRC Press, 757p.
- Seagraves, M.P. 2009.** Lady beetle oviposition behavior in response to the trophic environment. *Biol. Control* 51: 313-322.
- Soderlund, D.M. & J.E. Casida. 1977.** Effects of pyrethroid structure on rates of hydrolysis and oxidation by mouse-liver microsomal-enzymes. *Pestici. Biochem. Physiol.* 7: 391-401.
- Soderlund, D.M. & D.C. Knipple. 2003.** The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 33: 563-577.

- Soderlund, D.M. & J.R. Bloomquist. 1989.** Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annu. Rev. Entomol.* 34: 77-96.
- Soderlund, D.M. & J.R. Bloomquist. 1990.** Molecular mechanisms of insecticide resistance, p. 58-96. In R.T. Roush & B.E. Tabashnik (eds.), *Pesticide resistance in arthropods*. New York, Chapman & Hall, 303p.
- Stern, V.M., R. R.F. Smith, R. van den Bosch & K.S. Hagen. 1959.** The integrated control concept. *Hilgardia* 29: 81-101.
- Sved, J.A. & O. Mayo. 1970.** The evolution of dominance, p. 289-316. In K.-I. Kojima (ed.), *Mathematical topics in population genetics*. Berlin, Springer, 400p.
- Tabashnik, B.E. & B.A. Croft. 1982.** Managing pesticide resistance in crop-arthropod complexes: interactions between biological and operational factors. *Environ. Entomol.* 11: 1137-1144.
- Tabashnik, B.E. & M.W. Johnson. 1999.** Evolution of pesticide resistance in natural enemies, p. 673-689. In T.S. Bellows & T.W. Fisher (eds.), *Handbook of biological control*. San Diego, Academic Press, 1046p.
- Tan, J.G. & A.R. McCaffery. 1999.** Expression and inheritance of nerve insensitivity resistance in larvae of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. *Pestic. Sci.* 55: 617-625.
- Theiling, K.M. & B.A. Croft. 1988.** Pesticide side-effects on arthropod natural enemies: a database summary. *Agric. Ecosyst. Environ.* 21: 191-218.
- Tillman, P.G. & J. E. Mulrooney. 2000.** Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.* 93: 1638-1643.
- Tomizawa, M. & J.E. Casida. 2005.** Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 45: 247-268.
- Torres, J.B., C.S. Bastos & D. Pratissoli. 2009.** Controle biológico de pragas com uso de insetos predadores. *Inf. Agropecu.* 30: 17-32.
- Torres, J.B., E.M. Barros, R.R. Coelho & R.M.M. Pimentel. 2010.** Zoophytophagous pentatomids feeding on plants and implications for biological control. *Arthrop. Pl. Interac.* 4: 219-227.
- van den Bosch, R. P.S. Messenger & A.P. Guitierrez. 1982.** An introduction to biological control. New York, Plenum Press, 247p.

- van Emden, H.F. & R. Harrington. 2007.** Aphids as crop pests. Cambridge, CAB International, 717p.
- Vinson, S.B. & P.K. Law. 1971.** Cuticular composition and DDT resistance in the tobacco budworm. *J. Econ. Entomol.* 64: 1387-1390.
- Volkl, W., M. Mackauer, J.K. Pell & J. Brodeur. 2007.** Predators, parasitoids and pathogens, p. 187-233. In H.F. van Emden & R. Harrington (eds.), *Aphids as crop pests*. Cambridge, CAB International, 717p.
- Waage, J.K. 1989.** The population ecology of pest-pesticide-natural enemy interactions. p. 81-93. In P.C. Jepson (ed.), *Pesticide and non-target invertebrates*. Wimborne, Intercept, 240p.
- Wang, X., Z. Shen, W. Xu & J. Lu. 2003.** Sublethal effects of insecticides on fecundity of multicolored Asian ladybird *Harmonia axyridis*. *J. Appl. Ecol.* 14: 1345-1348.
- Watkinson, I.A. 1989.** Pyrethroids and the economics of pest management. *Pestic. Sci.* 27: 465-469.
- Weber, D.C. & J.G. Lundgren. 2009.** Assessing the trophic ecology of the Coccinellidae: their roles as predators and as prey. *Biol. Control* 51: 199-214.
- Whalon, M.E. & W.H. McGaughey. 1998.** *Bacillus thuringiensis*: use and resistance management, p. 106-137. In I. Ishaaya & D. Deheele (eds.), *Insecticides with novel modes of action, mechanism and application*. New York, Springer-Verlag, 304p.
- Whalon, M.E., D. Mota-Sanchez & R.M. Hollingworth. 2008.** Analysis of global pesticide resistance in arthropods, p. 5-31. In M.E. Whalon, D. Mota-Sanchez & R.M. Hollingworth (eds.), *Global pesticide resistance in arthropods*. Cambridge, CAB International, 208p.
- Whalon, M.E., D. Mota-Sanchez, R.M. Hollingworth & L. Duynslager. 2011.** Arthropod pesticide resistance database. Disponivel em <<http://www.pesticideresistance.org/search/1>>, acessado em 14/06/2011.
- WHO. 1957.** Expert committee on insecticides: seventh report. Geneva, Technical Report Series 125, 31p.
- WHO. 1960.** Insecticide resistance and vector control. Geneva, Technical Report Series 191, 98p.
- Williams, C.M. 1967.** Third generation pesticides. *Scient. Am.* 217: 13-17.
- Williamson, M.S., D. Martinez-Torres, C.A. Hick & A.L. Devonshire. 1996.** Identification of mutations in the housefly *para*-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (*kdr*) to pyrethroid insecticides. *Mol. Genet.* 252: 51-60.

- Williamson, M.S., I. Denholm, C.A. Bell & A.L. Devonshire. 1993.** Knockdown resistance (kdr) to DDT and pyrethroid insecticides maps to a sodium channel gene locus in the housefly (*Musca domestica*). *Mol. Genet.* 240: 17-22.
- Yamamoto, I. 1970.** Mode of action of pyrethroids, nicotinoids, and rotenoids. *Annu. Rev. Entomol.* 15: 257-272.
- Young, S.J., R.V. Gunning & G.D. Moores. 2005.** The effect of piperonyl butoxide on pyrethroid-resistance-associated esterases in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag. Sci.* 61: 397-401.
- Zanuncio, T.V., J.E. Serrão, J.C. Zanuncio, R.N.C. Guedes. 2003.** Permethrin-induced hormesis on the predator *Supputius cincticeps* (Stål, 1860) (Heteroptera: Pentatomidae). *Crop Prot.* 22: 941-947.
- Zlotkin, E. 1999.** The insect voltage-gated sodium channel as target of insecticides. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 429-455.

CAPÍTULO 2

SUSCETIBILIDADE AO LAMBDA-CIALOTRINA EM POPULAÇÕES DE JOANINHAS PREDADORAS¹

AGNA R.S. RODRIGUES², ALINE F. SPÍNDOLA², JORGE B. TORRES², HERBERT A.A. SIQUEIRA² E
FELIPE COLARES²

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua
Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos 52171-900 Recife, PE, Brasil.

¹Rodrigues, A.R.S., A.F. Spíndola, J.B. Torres, H.A.A. Siqueira & F. Colares. Suscetibilidade ao
lambda-cialotrina em populações de joaninhas predadoras. Submetido ao Biological Control.

RESUMO – Joaninhas e inseticidas piretróides são importantes no manejo integrado de pragas por estarem em contato simultâneo no dossel das plantas controlando diferentes grupos de pragas. O conhecimento da resposta de joaninhas ao lambda-cialotrina pode nortear a integração entre o controle biológico e o químico no manejo integrado de pragas. Este trabalho estudou a suscetibilidade de populações das joaninhas *Coleomegilla maculata* De Geer, *Cycloneda sanguinea* (L.), *Eriopis connexa* Germar, *Harmonia axyridis* (Pallas), *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville, *Olla v-nigrum* (Mulsant), *Curinus coeruleus* Mulsant e *Brumoides froudasi* (Mulsant) ao inseticida lambda-cialotrina, o qual é utilizado em várias culturas para o controle, principalmente, de pragas não-alvo das joaninhas, tais como lagartas desfolhadoras e o bicudo do algodoeiro. Curvas de dose-mortalidade foram calculadas para adultos através de ensaios tópicos. Variação significativa foi observada na suscetibilidade ao lambda-cialotrina, tanto entre as espécies estudadas quanto entre populações da mesma espécie. Quatro populações de *E. connexa* apresentaram razões de resistência de 11- a 38-vezes, sendo consideradas resistentes ao inseticida. Seis e 16 populações apresentaram respectivamente DL₅₀ e DL₉₀ superiores à maior dose recomendada do produto pelo fabricante para uso na cultura do algodoeiro. Quando comparadas ao *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), 26 populações de sete espécies estudadas foram 2- a 215-vezes mais tolerantes com base na toxicidade relativa utilizando a DL₅₀. Estes resultados demonstram que joaninhas predadoras apresentam resistência em campo ao lambda-cialotrina e podem ser exploradas para a integração com uso de inseticidas no manejo de pragas.

PALAVRAS-CHAVE: Coccinellidae, piretróide, resistência a inseticidas, algodoeiro

SUSCEPTIBILITY TO λ -CYHALOTHRIN ACROSS POPULATIONS OF PREDATORY LADY BEETLES SPECIES

ABSTRACT - Lady beetles and pyrethroids are important to integrated pest management because both act on plant dossil targeting differnt group of pests. Thus, this study investigated the susceptibility of lady beetles populations to lambda-cyhalothrin which is widely used in cotton and other crops to control lepidopteran and coleopteran pests not targeted by lady beetles. The study comprised species common in cotton fields [*Coleomegilla maculata* De Geer, *Cycloneda sanguinea* (L.), *Eriopis connexa* Germar, *Harmonia axyridis* (Pallas), *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, *Olla v-nigrum* (Mulsant), and *Brumoides froudasi* (Mulsant) and one lady beetle species [*Curinus coeruleus* Mulsant] from a non-cotton ecosystem. Dose-mortality curves were estimated after topical treatment of adult lady beetles with lambda-cyhalothrin. Significant variations in lady beetle susceptibility were observed between species and between populations of a given species. Four populations of *E. connexa* exhibited resistance ratios from 11- to 38-fold and, thus were considered to be resistant to lambda-cyhalothrin. Six and 16 populations of lady beetles exhibited greater values of LD₅₀ and LD₉₀, respectively, compared to the largest field rate of lambda-cyhalothrin recommended to spray cotton fields. Based on LD₅₀ values, 26 populations of seven lady beetles species exhibited ratios of relative toxicity varying from 2- to 215-fold compared to the toxicity of lambda-cyhalothrin for boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). These findings demonstrate that lady beetles can be selected for resistance to lambda-cyhalothrin in the field and, should be considered for integration into pest management programs that use the insecticide lambda-cyhalothrin.

KEY WORDS: Coccinellidae, pyrethroid, insecticide resistance, cotton crop

Introdução

A verdadeira integração de inimigos naturais e inseticidas no manejo integrado de pragas somente será obtida mediante o uso simultâneo de ambos. No entanto, inimigos naturais e inseticidas sintéticos na maioria dos casos são incompatíveis (Hoy 1990, Tabashnik & Johnson 1999), com raras exceções onde o inseticida é mais tóxico para a praga-alvo do que para o inimigo natural, assim, conservando-o no agroecossistema.

As joaninhas pertencem a um grupo de inimigos naturais, diversificado e amplamente distribuído nos agroecossistemas (Giorgi *et al.* 2009). Como grupo, as joaninhas podem ser consideradas extremamente polífagas (Weber & Lundgren 2009), com destaque para as espécies benéficas que são predadoras vorazes de pulgões, cochonilhas e ácaros (Giorgi *et al.* 2009). Sabe-se que as joaninhas constituem o principal grupo de predadores de pulgões (Volkl *et al.* 2007), praga da maioria das plantas de importância econômica (revisado por van Emden & Harrington 2007). Assim, a conservação e aumento de coccinelídeos nos agroecossistemas, como ferramenta do manejo integrado de pragas, pode ajudar a suprimir surtos populacionais de pulgões (Obrycki *et al.* 2009), visto que a presença de joaninhas no agroecossistema pode reduzir o crescimento populacional de pulgões no início da safra e a densidade dos mesmos durante a fase crítica do desenvolvimento da cultura (Powell & Pell 2007). Entretanto, faz-se necessária a utilização de táticas de manejo que permitam a sobrevivência de joaninhas (Lundgren 2009).

Apesar do volume de informação sobre evolução, fisiologia, comportamento e ecologia trófica de coccinelídeos (Hodek & Honěk 1996, Weber & Lundgren 2009, Giorgi *et al.* 2009), a interação deste grupo de inimigos naturais e inseticidas ainda é pouco estudada. Um dos empecilhos para a expansão do uso de joaninhas predadoras no controle biológico é resultante da necessidade de aplicações de inseticidas no controle das pragas-alvo das joaninhas (hemípteros) e,

principalmente, de outras pragas-chave da cultura, que em geral não são utilizadas como presas preferenciais, tais como lepidópteros e coleópteros desfolhadores (Evans 2009). Nestes casos, inseticidas de amplo espectro de ação são frequentemente utilizados, sendo mais tóxicos aos inimigos naturais (Pathan *et al.* 2008). O inseticida piretróide lambda-cialotrina é um exemplo de produto amplamente utilizado, recomendado para diferentes pragas em diversas culturas (BRASIL 2012), o qual pode entrar em contato com joaninhas predadoras no dossel das plantas tratadas. No Brasil, as espécies de joaninhas que predominam como predadoras de pulgões são *Cycloneda sanguinea* (L.) (entre outras espécies de *Cycloneda* spp.) (Araujo-Siqueira & Almeida 2006), *Eriopis connexa* Germar, *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, *Coleomegilla maculata* De Geer, *Olla v-nigrum* (Mulsant) e, recentemente, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Gassen 1986, Gravena 2005, Torres *et al.* 2009).

Estudos retratando sobre a interação inseticida e inimigo natural tem sido realizado, principalmente com enfoque no efeito de uma ou poucas doses de inseticidas, com intuito de verificar a seletividade do produto a uma espécie ou grupo de inimigos naturais. Porém, faz-se necessária a averiguação da ocorrência de casos de resistência e toxicidade relativa para inimigos naturais. Principalmente, porque esses agentes de controle são peças-chave no agroecossistema, sendo indicados como primeira linha de defesa biótica em programas de manejo de pragas (Lugojja *et al.* 2001). Tal fato que estimulou Pathan *et al.* (2008), a estudar e detectar diferentes populações de *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) resistentes a organofosforados e piretróides, inclusive ao lambda-cialotrina, com graus de resistência variando de 21- a 97-vezes para este produto. Neste estudo, foi testada a hipótese de que populações de joaninhas predadoras, a exemplo de artrópodes-pragas, podem ser selecionadas para resistência aos inseticidas em campo. Para tanto, determinou-se a variação quanto ao grau de suscetibilidade

ao lambda-cialotrina para diferentes espécies e populações de joaninhas predadoras coletadas em diferentes regiões brasileiras.

Material e Métodos

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico e Ecologia de Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Coleta de Joaninhas Predadoras. Joaninhas predadoras das Subfamílias Chilocorinae e Coccinellinae foram coletadas em diferentes localidades do Brasil (Tabela 1). Coletas manuais foram realizadas entre Março de 2009 a Agosto de 2011. Posturas, larvas, pupas ou adultos foram conduzidos para o laboratório de Controle Biológico e Ecologia de Insetos da UFRPE. Adultos de *Brumoides foudrasi* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) foram obtidos da criação mantida neste laboratório de uma população coletada em algodoeiro no município de Surubim-PE. Já os adultos de *Curinus coeruleus* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) foram coletados em plantas do gênero *Clitoria fairchildiana* Howard (Leguminosae: Papilionoideae) no campus da UFRPE. As demais espécies foram coletadas em plantios comerciais de brássicas, algodoeiro, citros e milho, conforme listado na Tabela 1. Dentre as espécies de joaninhas predadoras de pulgões coletadas destacam-se (n=população): *E. connexa* (n=7), *H. axyridis* (n=5), *H. convergens* (n=6), *C. maculata* (n=2), *C. sanguinea* (n=3) e *O. v-nigrum* (n=1). As espécies por serem comuns e de importância foram facilmente reconhecidas, e quando o reconhecimento era duvidoso foi solicitada a identificação por especialista em Coccinellidae (prof. José Adriano Giorgi, Universidade Federal do Pará, PA, Brasil).

Criação de Joaninhas Predadoras. Todos os estágios de desenvolvimento das joaninhas coletados em campo foram mantidos em populações isoladas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12h de fotofase. Ninfas

e adultos de *Ferrisia virgata* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae) foram utilizados como presas para os adultos de *B. foudrasi*. Já os adultos de *C. coeruleus* foram alimentados com psilídeos infestando plantas de *C. fairchildiana*. Para os adultos das demais espécies de joaninhas, foram oferecidas folhas infestadas com pulgões e uma dieta alternativa composta por levedura de cerveja e mel, com intuito de estimular a produção de ovos. Os adultos foram mantidos em recipientes plásticos de 1L, com tampa apresentando perfuração revestida por tecido *voil* para promover a circulação de ar. No interior dos recipientes, pedaços de papel-toalha foram adicionados a fim de aumentar a superfície de locomoção e servir como substrato para posturas. Estas foram coletadas e mantidas em recipientes plásticos de 500 mL, até a eclosão das larvas. Quando as larvas atingiram o segundo instar, estas foram criadas em recipientes plásticos de 80 mL na densidade de três larvas por recipiente. Pedaços de papel-toalha foram adicionados nos recipientes para reduzir o risco de canibalismo entre as larvas. Ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) foram fornecidos como alimento, em quantidades de acordo com a idade da larva. Os ovos de *A. kuehniella* foram obtidos de criação de laboratório, conforme metodologia adaptada de Torres *et al.* (1995). A alimentação dos adultos foi similar a das larvas, incluindo uma mistura de mel e levedura de cerveja na proporção 1:1, que foi disposta em pedaços de papel-toalha e oferecida aos insetos.

Curvas de Dose-Mortalidade. O inseticida lambda-cialotrina foi usado a partir do produto formulado Karate Zeon 50 CS (lambda-cialotrina 5% m/v – 50 g/L, Syngenta S.A., São Paulo) obtido em mercado especializado. Para cada espécie/população de joaninhas, foram realizados testes preliminares a partir da diluição do produto formulado em água destilada, tendo por base a dose 0,2 mg i.a. de lambda-cialotrina/mL e suas diluições seriais em fator de 10, a fim de determinar o intervalo de doses resultando em mortalidades entre 0 e 100%. Esta dose foi obtida a

partir da recomendação de campo (400 mL do produto comercial/ha em 100 L de calda; 0,2 mg de i.a. lambda-cialotrina/mL), empregada para o controle de *Heliothis virescens* (Fabr.) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodoeiro (BRASIL 2012).

O bioensaio foi realizado duas vezes para cada população das espécies de joaninhas testadas. Nos bioensaios, foi utilizado em média, um total de 180 joaninhas adultas com 8 a 10 dias de idade. A aplicação do produto foi realizada com a deposição de 0,5µL da respectiva dose na parte ventral do abdome dos insetos empregando seringa HamiltonTM (25µL). No grupo controle, foi aplicada somente água destilada. Após a aplicação das doses, os adultos foram mantidos em placas de Petri (12 x 1,5 cm). A umidade foi fornecida através de um chumaço de algodão umedecido com solução de mel a 10% no interior de recipientes de 10 mL. Ovos de *A. kuehniella* foram utilizados como presas. Em seguida, as placas de Petri foram mantidas em câmaras climáticas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h. O efeito *knockdown* foi avaliado após 2h, e a mortalidade após 24h da aplicação do inseticida, sendo considerados indivíduos em *knockdown* ou mortos aqueles adultos que foram postos com a parte ventral voltada para cima e que não conseguiram retornar a posição normal nos respectivos intervalos de avaliação.

Simultaneamente, a curva dose-mortalidade para uma população do bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) foi calculada, tratando adultos entre quatro a cinco dias de idade, alimentados com folhas cotiledonares de algodoeiro durante este período. Os adultos foram oriundos de botões florais e maçãs coletadas em lavoura de algodoeiro localizada no município de Surubim, PE ($07^\circ 53' 48,9''$ S e $35^\circ 49' 19,2''$ W) ao final da safra. Os materiais coletados de campo foram acondicionados em gaiolas de emergência em laboratório. Foram testadas oito doses variando de 0,0025 a 0,140 mg de i.a. de lambda-cialotrina/mL, diluídas em água destilada e aplicadas de forma similar ao tratamento das joaninhas. Um total de

190 insetos foi tratado em duas repetições com 10 a 14 insetos por repetição, e 20 insetos não tratados no controle.

Análises. O número de indivíduos que sofreram *knockdown*, mortos e vivos nos bioensaios foi registrado para a determinação da dose knockdown (DK_{50}) e dose letal (DL_{50}) de cada população ou espécie estudada, através da análise de Probit (Finney 1971), utilizando o programa Polo PC (LeOra Software 1987). Testes de paralelismo e igualdade entre as curvas de dose-mortalidade estimadas foram interpretados pelo teste de qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade. O índice de recuperação dos sintomas (IR_{50}) foi obtido pela relação entre a DL_{50} e a DK_{50} de cada espécie ou população de joaninhas predadoras. Para o cálculo das razões de resistência (RR_{50}), das diferentes populações de *C. maculata*, *E. connexa*, *H. axyridis* e *H. convergens*, foi considerada população padrão de suscetibilidade àquela que apresentou menor DK ou DL_{50} em cada espécie estudada. A tolerância relativa (TR_{50}) do produto entre as joaninhas foi estimada tendo como espécie padrão de suscetibilidade *C. coeruleus*. Também, a TR foi calculada para as espécies/populações de joaninhas em função da DL estimada para o bicudo do algodoeiro. Os IR_{50} , RR_{50} e TR_{50} , bem como os respectivos intervalos de confiança ($IC_{95\%}$) foram calculadas pelo método descrito por Robertson & Priesler (1992), sendo que as estimativas foram significativas, quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0. Populações de joaninhas testadas foram consideradas resistentes, se a razão de resistência foi significativa e maior que 10 vezes (Torres-Vila *et al.* 2002). Também, as DL_{50} s e DL_{90} s de cada espécie ou população de joaninhas foram comparadas à recomendação de campo (400 mL do produto comercial/ha em 100 L de calda; 0,2 mg de i.a. lambda-cialotrina/mL), empregada para o controle de *H. virescens* na cultura do algodoeiro.

Resultados

Um total de 5.999 adultos foi utilizado para estimar a DL₅₀ para 28 populações de oito espécies de joaninhas predadoras, que foram coletadas em diferentes locais e sistemas de cultivo.

Os dados de *knockdown* (DK) e de mortalidade (DL) obtidos nos bioensaios assumiram o modelo de Probit ($P > 0,05$), exceto para os dados de *knockdown* de *C. sanguinea*, *C. maculata*, *H. axyridis* coletada em Brasília-DF, e *H. convergens* coletadas em Rondonópolis-MT e Londrina-PR, visto que as menores doses utilizadas nos bioensaios para cada espécie ou população causaram 100% de *knockdown* após 2h da aplicação do lambda-cialotrina ou não se ajustaram ao modelo proposto (Tabela 2 e 3).

As espécies *C. coeruleus*, *B. froudasi* e *O. v-nigrum* apresentaram DK_{50s} correspondentes a 0,0002; 0,007; e 0,010 mg/mL, respectivamente, enquanto que suas DL_{50s} foram 0,0007; 0,009; 0,054 mg/mL, respectivamente (Tabela 2). Os IR_{50s} para *C. coeruleus*, *B. froudasi* e *O. v-nigrum* corresponderam a 3,37; 1,31 e 5,30 vezes, respectivamente (Tabela 2).

Foram estudadas três populações de *C. maculata* e quatro de *C. sanguinea*. As DL_{50s} para *C. maculata* variaram de 0,014 a 0,067 mg/mL. Assim, a RR₅₀ variou de 2,10 a 4,63-vezes, respectivamente (Tabela 3). As DL_{50s} estimadas para *C. sanguinea* variou de 0,048 a 0,143 mg/mL. A população de Chã Grande foi a referência de suscetibilidade, produzindo RR_{50s} variando de 1,86- a 2,97-vezes. Para as diferentes populações de *C. maculata* e de *C. sanguinea*, os índices de recuperação de sintomas não foram calculados, visto que não foi possível estimar a DK₅₀.

As DK_{50s} para as diferentes populações de *H. axyridis* variaram de 0,005 a 0,023 mg/mL, enquanto que as DL_{50s} variaram de 0,015 a 0,044 mg/mL. Os IR₅₀ apresentaram valores variando de 1,5 a 2,8 vezes. A população padrão de suscetibilidade foi a de Viçosa-MG, com DK₅₀ e DL₅₀

de 0,005 e 0,015 mg/mL (Tabela 3). Assim, em função da DK_{50} , as RR_{50} s variaram de 1,62 a 4,35 vezes, já em relação a DL_{50} s, RR_{50} s variaram de 1,3 a 3,1 vezes (Tabela 3).

Os valores de DK_{50} para as diferentes populações de *E. connexa* variaram de 0,02 a 0,82 mg/mL, enquanto que as DL_{50} s variaram de 0,04 a 1,46 mg/mL. Baseando-se nas DK_{50} s e DL_{50} s de cada população, os valores de IR_{50} variaram de 1,64 a 6,21 vezes. A população de Frei Miguelinho foi considerada referência de suscetibilidade por apresentar menores DK_{50} e DL_{50} , isto é, 0,02 e 0,04 mg/mL, respectivamente (Tabela 3). Se analisarmos as DK_{50} s, as RR_{50} s variaram de 1,3 a 34,8 vezes, enquanto que para as DL_{50} s, variaram de 2,0 a 37,7 vezes (Tabela 3).

Para as diferentes populações de *H. convergens*, as DK_{50} s estimadas variaram de 0,007 a 0,06 mg/mL. Já as DL_{50} s variaram de 0,02 a 0,25 mg/mL. Assim, os IR_{50} s para *H. convergens* variaram de 3,4 a 4,1 vezes. Considerando as estimativas de DK_{50} e DL_{50} , a população de Jaboticabal foi aquela que apresentou maior suscetibilidade, com 0,007 e 0,02 mg/mL, respectivamente (Tabela 3). Desta forma, as RR_{50} s em relação a DK_{50} variaram de 1,0 a 8,7 vezes, enquanto que em função da DL_{50} foram de 1,1 a 10,6 vezes (Tabela 3).

O lambda-cialotrina produziu maior toxicidade a *C. Coeruleus*, sendo referência de suscetibilidade para cálculos da tolerância relativa (TR_{50}) entre as espécies de joaninhas estudadas. Com relação às DK_{50} s estimadas, a tolerância relativa variou de 26,59 a 4062,3 vezes, enquanto que em função da DL_{50} s variou de 14,3 a 2136,0 vezes. Em comparação às demais espécies, cinco das sete populações de *E. connexa* apresentaram as maiores tolerâncias relativas (Tabelas 2 e 3).

Quando as DL_{50} s estimadas para cada espécie/população de joaninhas foi comparada à maior concentração recomendada do lambda-cialotrina pelo fabricante para o controle de pragas

no algodoeiro, é observado que a DL_{50} estimada para *B. foudrasi* foi aproximadamente 11,1 vezes menor que a concentração recomendada do lambda-cialotrina. Contudo, cinco populações de *E. connexa* e uma população de *H. convergens*, comuns no agroecossistema algodoeiro, apresentaram DL_{50} s superiores à concentração recomendada, variando de 1,2- a 7,3- vezes (Fig. 2A). As demais espécies e populações de joaninhas estudadas apresentaram DL_{50} s menores que a concentração recomendada, com destaque para as populações de *H. axyridis*, com valores variando de 0,15- a 0,44- vezes (Fig. 2A). Se observarmos as DL_{90} s estimadas para cada espécie/população de joaninhas, somente duas populações de *C. sanguinea* e as populações de *C. maculata*, *H. axyridis* e *B. foudrasi* apresentaram DL_{90} s inferiores à concentração recomendada de campo (Fig. 2B).

Com relação à praga, *A. grandis*, as DL_{50} e DL_{90} foram correspondentes a 0,006 e 0,030 mg/mL, respectivamente. Também, em função destas estimativas foi observado que 26 e 25 populações de sete espécies, respectivamente, são mais tolerantes ao lambda-cialotrina que a praga (Fig. 2).

Discussão

O uso de inseticidas de forma a preservar os inimigos naturais é uma das principais metas daqueles preconizadores do controle biológico como método fundamental para o manejo integrado de pragas. Os impactos negativos do uso dos inseticidas sobre os inimigos naturais podem ser minimizados de várias formas (Ruberson *et al.* 1998, Johnson & Tabashnik 1999), mas os inseticidas tem sido abusivamente empregados nos agroecossistemas por várias razões, incluindo a premissa de controle total a partir da utilização de um inseticida de largo espectro de ação. Portanto, grande impacto destes produtos sobre as populações de inimigos naturais nos

agroecossistemas é esperado, em razão de que estes agentes de controle têm sido caracterizados naturalmente mais suscetíveis que as pragas (Croft & Brown 1975).

Conforme ocorre para artrópodes-pragas, a variação na suscetibilidade de inimigos naturais a inseticidas está relacionada a fatores operacionais, ecofisiológicos e genéticos de espécies/populações em estudo (Georghiou & Taylor 1977a, 1977b). Desta forma, a maior suscetibilidade apresentada por algumas das espécies/populações de joaninhas estudadas pode ser resultante da menor exposição aos inseticidas em campo. Por exemplo, *C. coeruleus* é uma espécie predadora de psilídeos e foi coletada em plantas de *C. fairchildiana*, utilizada para arborização urbana (Lorenzi 1992) e; portanto, não sendo expostas ao inseticida lambda-cialotrina. Do mesmo modo, a suscetibilidade verificada em espécies de joaninhas que foram coletadas em culturas, para as quais o lambda-cialotrina é recomendado, parece ser dependente do local de coleta em razão do sistema de condução da cultura. Isto porque nas localidades de Remígio, Surubim, Frei Miguelinho e Chã Grande, as culturas do algodoeiro e brássicas são conduzidas conforme moldes de agricultura familiar ou cultivo orgânico, onde não se tem histórico de uso de inseticidas.

De modo surpreendente, algumas populações de joaninhas toleraram doses mais elevadas do que aquelas recomendadas em rótulo para controle da praga. As populações de *E. connexa*, coletadas nas culturas do algodoeiro e brássicas em Viçosa, Jaboticabal, Bezerros e Rondonópolis, apresentaram grande variação na suscetibilidade ao lambda-cialotrina, com algumas apresentando resistência. Provavelmente, este resultado é referente ao histórico de uso de inseticidas, uma vez que nestas áreas de coleta as culturas são conduzidas de forma convencional. Independente da região do Brasil, o controle químico é o principal método adotado para o manejo de pragas nestas culturas (Villas-Boas *et al.* 2004, Richetti *et al.* 2004). Até quatro aplicações de inseticidas por

semana em repolho, incluindo misturas de inseticidas ou em rotação de dois ou três produtos diferentes são realizadas, sem observação de critérios técnicos realizadas (Castelo Branco *et al.* 2001), e entre 12 a 16 aplicações durante uma safra de algodão no Cerrado (Richetti *et al.* 2004). Assim, o uso intensivo e indiscriminado de inseticidas têm resultado na evolução de populações de pragas de brássicas e do algodoeiro para resistência a inseticidas (Silva *et al.* 2011, Oliveira *et al.* 2011, Santos *et al.* 2011), mas também de inimigos naturais (este estudo, populações de *E. connexa* Ec-Vi e Ec-Jb). Apesar do registro de resistência em inimigos naturais não ser relatado com frequência, o presente estudo relata pela primeira vez no Brasil o fenômeno de resistência a inseticidas em populações de joaninhas predadoras.

A variabilidade na suscetibilidade das populações de *H. convergens* ao lambda-cialotrina não foi semelhante à observada para as populações de *E. connexa*. No entanto, a população de *H. convergens* proveniente de Ribeirão Preto apresentou nível moderado de resistência (>10-vezes). No estado da Georgia, EUA, a ocorrência de *H. convergens* em plantios de algodoeiro não-*Bt* após aplicação do inseticida lambda-cialotrina para o controle de lagartas das maçãs, foi um indicativo da seletividade do lambda-cialotrina em favor a esta espécie (Torres & Ruberson 2005). Posteriormente, sendo a resistência confirmada pelos resultados de variações no grau de suscetibilidade de populações de *H. convergens* coletadas em plantios de algodoeiro nos estados da Georgia e Kansas, EUA (Ruberson *et al.* 2007).

As populações de *H. axyridis* estudadas apresentaram-se suscetíveis ao lambda-cialotrina. Esta espécie foi recentemente introduzida no Brasil, com primeiro registro em 2002 no Paraná (Almeida & Silva 2002). Desde então, tem sido registrada em diferentes estados brasileiros (Torres *et al.* 2009), com menor período de exposição a inseticidas. De fato, a alta suscetibilidade de *H. axyridis* ao lambda-cialotrina também foi citada por Torres & Ruberson (2005) e Ruberson

et al. (2007), quando comparada a diferentes espécies de joaninhas predadoras, apesar do maior tempo de estabelecimento na área do estudo. Isto sugere que algumas espécies podem apresentar fatores genéticos que, conjuntamente a fatores ecológicos e operacionais, podem levá-las a evoluir mais rapidamente para resistência do que outras.

As DL₅₀s estimadas para as diferentes espécies de joaninhas foram comparadas à concentração recomendada do lambda-cialotrina na cultura do algodoeiro, independente de terem ou não sido coletadas nessa cultura, uma vez que todas espécies podem apresentar ocorrência natural no algodoeiro. Entretanto, somente as espécies *O. v-nigrum*, as populações de *E. connexa* Ec-Su e Ec-FM coletadas em algodoeiro, a população de *H. convergens* Hc-Ld coletada em milho, e as populações de *H. axyridis* Ha-Ld e Ha-DF coletadas em milho e algodoeiro, respectivamente, apresentaram DL₅₀ inferior à recomendação do produto para uso. De modo geral, as concentrações recomendadas de qualquer inseticida são capazes de produzir efeito letal na população da praga-alvo na ordem de aproximadamente 95% independentemente da densidade populacional (Knipling 1979). Desta forma, a DL₉₀ do lambda-cialotrina para as espécies e populações de joaninhas estudadas mostra uma dose superior em 59% das espécies/populações estudadas baseado na maior concentração recomendada pelo fabricante do lambda-cialotrina, bem como 92% das espécies/populações referente à DL₉₀ estimada para o bicudo do algodoeiro, o qual requer uso intensivo de inseticidas para controle.

As joaninhas apresentaram recuperação dos sintomas após 24h da aplicação do lambda-cialotrina, independente da interpretação de resistência ou não. Fato interessante é que as espécies de joaninhas que apresentam alta suscetibilidade ao lambda-cialotrina, também demonstraram alta recuperação de sintomas, incluindo *O. v-nigrum* com IR₅₀ na ordem de cinco vezes e, possivelmente, *C. sanguinea* e *C. maculata* que não permitiram estimar valores de *knockdown*.

Também, apesar de terem sido denominadas populações padrões de suscetibilidade, as populações de *E. connexa* coletada em Frei Miguelinho e *H. convergens* em Viçosa apresentaram índice de recuperação semelhante às populações resistentes, sendo a única diferença observada em função da dose do produto aplicado. Conforme outros inseticidas piretróides, o lambda-cialotrina é um composto éster, formado por um ácido e álcool meiótico (Elliott & Janes 1978), que pode ser substrato tanto de esterases quanto de monooxigenases de função mista (Yamamoto *et al.* 1971). Sabe-se que estes sistemas enzimáticos participam da produção de compostos utilizados na manutenção de processos vitais (Scott 1991), tais como o hormônio juvenil (Hammock 1975) e o ecdisônio (Kappler *et al.* 1988), e também atuam na destoxificação de xenobióticos. Assim, este resultado sugere a possível participação do metabolismo de joaninhas, para produção de toxinas e de substâncias que atuam na defesa de estágios vulneráveis contra a predação (Agarwala & Dixon 1992), que pode indiretamente atuar na destoxificação de inseticidas, como por exemplo, o lambda-cialotrina. Este fenômeno teria ainda uma grande importância na sobrevivência e manutenção das populações em campo, visto que ao recuperar dos sintomas somente após 24 horas, as joaninhas poderiam reduzir suas exposições aos resíduos ainda altos na cultura, ou mesmo evitariam alimentar-se de insetos intoxicados.

O nicho explorado por cada espécie aliado ao padrão de dispersão durante ou após a aplicação de inseticidas no agroecossistema pode direcionar a evolução da resistência nas joaninhas predadoras. Em geral, larvas e adultos de *E. connexa* são observados forrageando na parte inferior de plantas ou no solo, com adultos apresentando baixa propensão ao vôo. Se considerarmos que as doses de inseticidas consideradas baixas para controle de pragas podem ser relativamente altas para inimigos naturais (Tabashnik & Croft 1982), a exposição de *E. connexa* na parte inferior de plantas ou no solo, onde o resíduo de inseticida é menor pode contribuir para

evolução da resistência, por se constituir em estratégia de baixa dose. Desta forma, justifica-se a ocorrência de quatro populações de *E. connexa* resistentes ao lambda-cialotrina. Apesar de adultos e larvas de *C. maculata*, *O. v-nigrum*, *H. convergens* e *H. axyridis* estarem mais expostos a inseticidas no dossel das plantas, a propensão de adultos ao se deslocarem para áreas sem aplicação de inseticidas, pode reduzir a pressão de seleção para resistência nestas espécies.

Em geral, os estudos de suscetibilidade de joaninhas predadoras a inseticidas são restritos à verificação de mortalidade de ovos, larvas ou adultos quando submetidas a uma ou poucas doses, considerando apenas dose ou subdose do inseticida (Tillman & Mulrooney 2000, Gusmão *et al.* 2000, Cosme *et al.* 2007). E, assim, informações reais sobre a suscetibilidade das populações ou sobre fatores que expliquem as variações da suscetibilidade não são usualmente obtidas. O presente estudo dá um enfoque mais preciso do que pode estar acontecendo em campo com as populações de predadores, bem como pode gerar informações que eventualmente venham aumentar o estabelecimento de espécies em campo promovendo o controle biológico de pragas. Existe um alto grau de variabilidade na suscetibilidade ao lambda-cialotrina entre as espécies e populações de joaninhas estudadas. Principalmente, para *E. connexa* que apresentou populações com os maiores graus de resistência a este inseticida, e assim, poderiam ser selecionadas em laboratório ou telados em períodos de entressafra para posterior liberação. Esta possibilidade norteará a integração simultânea do uso do controle biológico e controle químico no manejo integrado de pragas.

Agradecimentos

À Rosylaine Aparecida Pereira (EECFI-ESALQ) pela coleta da população de *H. axyridis* de Itatinga, SP. À Terezinha M. Santos-Cividanes (APTA) pelo envio da população de *H. convergens*

de Ribeirão Preto, SP; ao José W. Melo (UFRPE) pela coleta das populações de diferentes espécies de joaninhas em Viçosa, MG; a Lúcia Madalena Vivian (FMT), Adeney de Freitas Bueno (Embrapa Soja), Cristina Schetino Bastos (UNB), Alessandra M. Vacari (UNESP) pela logística oferecida a J.B.T. durante as coletas em campo. À FACEPE pela concessão de bolsa a A.R.S.R. e ao CNPq pelo apoio financeiro (Processo 473211/2009-2).

Literatura Citada

- Agarwala, B.K. & A.F.G. Dixon. 1992.** Laboratory study of cannibalism and interspecific predation in ladybirds. *Ecol. Entomol.* 17: 303-309.
- Almeida, L.M. & V.B. Silva. 2002.** First record of *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera, Coccinellidae): a lady beetle native to the Palaearctic region. *Rev. Bras. Zool.* 19: 941-944.
- Araújo-Siqueira, M. & L.M. Almeida. 2006.** Estudos das espécies brasileiras de *Cycloneda Crotch* (Coleoptera, Coccinellidae). *Rev. Bras. Zool.* 23: 550-568.
- BRASIL. 2012.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. AGROFIT: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 01/03/2012.
- Castelo Branco, M., F.H. França, M.A. Medeiros & J.G. Leal. 2001.** Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. *Hortic. Bras.* 19: 60-63.
- Cosme, L.V., G.A. Carvalho & A.P. Moura. 2007.** Efeitos de inseticidas botânico e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 74: 251-258.
- Croft, B.A. & A.W.A. Brown. 1975.** Responses of Arthropod Natural Enemies to Insecticides. *Annu. Rev. Entomol.* 20: 285-335.
- Elliott, M. & N.F. Janes. 1978.** Synthetic pyrethroids – a new class of insecticide. *Chem. Soc. Rev.* 7: 473-505.
- Evans, E.W. 2009.** Lady beetles as predators of insects other than Hemiptera. *Biol. Control* 51: 255-267.

- Finney, D.J. 1971.** Probit Analysis. London, Cambridge University Press, 333p.
- Gassen, D.N. 1986.** Parasitos, patógenos e predadores e insetos associados à cultura do trigo. Passo Fundo, Embrapa Trigo, Circular Técnica, 186p.
- Georghiou, G.P. & C.E. Taylor. 1977a.** Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 319-323.
- Georghiou, G.P. & C.E. Taylor. 1977b.** Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 653-658.
- Giorgi, J.A., N.J. Vandenberg, J.V. McHugh, J.A. Forrester, S.A. Ślipiński, K.B. Miller, L.R. Shapiro & M.F. Whiting. 2009.** The evolution of food preferences in Coccinellidae. *Biol. Control* 51: 215-231.
- Gravena, S. 2005.** Manual Prático de manejo ecológico de pragas dos citros. Jaboticabal, Gravena Ltda, 372 p.
- Gusmão, M.R., M. Picanço, G.L.D. Leite & M.F. Moura. 2000.** Seletividade de inseticidas a predadores de pulgões. *Hortic. Bras.* 18: 130-133.
- Hammock, B.D. 1975.** NADPH-dependent epoxidation of methyl farnesoate to juvenile hormone in the cockroach *Blaberus giganteus* L. *Life Sci.* 17: 323-28.
- Hodek, I. & A. Honěk. 1996.** Ecology of Coccinellidae. Dordrecht, Kluwer Academic, 464p.
- Hoy, M.A. 1990.** Pesticide resistance in arthropod natural enemies: variability and selection, p. 203-236. In R.T. Roush & B.E. Tabashnik (eds.), *Pesticide resistance in arthropods*. New York, Chapman & Hall, 303p.
- Johnson, M.W. & B.E. Tabashnik. 1999.** Enhanced biological control through pesticide selectivity, p. 297-317. In T.S. Bellows & T.W. Fisher (eds.), *Handbook of biological control*. San Diego, Academic Press, 1046p.
- Kappler, C., M. Kabbouh, C. Hetru, R. Durst & J.A. Hoffmann. 1988.** Characterization of three hydroxylases involved in the final steps of biosynthesis of the steroid hormone ecdysone in *Locusta migratoria* (Insecta, Orthoptera). *J. Steroid Biochem.* 31: 891-98.
- Knipling, E.F. 1979.** The basic principles of insect population suppression and management. p. 577-623. In USDA (ed.), *Agriculture Handbook n. 512*. Washington, D.C., USDA, 659p.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit-Logit analysis. Leora Software, Berkely, CA.
- Lorenzi, H. 1992.** Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. v.1, Nova Odessa, Plantarum, 352p.

- Lugojja, F., M.W. Ogenga-Latigo & N.E.J.M. Smit. 2001.** Impact of defoliation on the agronomic performance of sweetpotato in Uganda. *Afr. Crop Sci. J.* 9: 103-108.
- Lundgren, J.G. 2009.** Nutritional aspects of non-prey foods in the life histories of predaceous Coccinellidae. *Biol. Control* 51: 294-305.
- Obrycki, J.J., J.D. Harwood, T.J. Kring & R.J. O'Neil. 2009.** Aphidophagy by Coccinellidae: Application of biological control in agroecosystems. *Biol. Control* 51: 244-254.
- Oliveira, A.C., H.Á.A. Siqueira, J.E. Silva, J.V. Oliveira & M. Michereff Filho. 2011.** Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. *Sci. Agric.* 68: 154-159.
- Pathan, A.K., A.H. Sayyed, M. Aslam, M. Razaq, G. Jilani & M.A. Saleem. 2008.** Evidence of field-evolved resistance to organophosphates and pyrethroids in *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol.* 101: 1676-1684.
- Powell, W. & J.K. Pell. 2007.** Biological control. p. 469-513. In H.F. van Emden & R. Harrington (eds.), *Aphids as crop pests*. Cambridge, Massachusetts, CAB International, 717p.
- Richetti, A., G.A. Melo Filho, F.M. Lamas, L.A. Staut & A.C. Fabrício. 2004.** Estimativa do custo de produção de algodão, safra 2004/05, para Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. Dourados, Embrapa Pecuária Oeste, 4p. (Comunicado técnico 91).
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** *Pesticide Bioassays with Arthropods*. 1st ed. CRC, Press, Boca Raton, FL, 127p.
- Ruberson, J.R., H. Nemoto & Y. Hirose. 1998.** Pesticides and conservation of natural enemies in pest management, p. 207-220. In P. Barbosa (ed.), *Conservation biological control*, New York, Academic Press, 397p.
- Ruberson, J.R., P. Roberts & J.P. Michaud. 2007.** Pyrethroid resistance in Georgia populations of the predator *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae). *Proc. Beltwide Cotton Conf.* 1: 361-365.
- Santos, V.C., H.Á.A. Siqueira, J.E. Silva & M.J.D.C. Farias. 2011.** Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the State of Pernambuco (Brazil). *Neotrop. Entomol.* 40: 264-270.
- Silva, T.B.M., H.A.A. Siqueira, A.C. Oliveira, J.B. Torres, J.V. Oliveira, P. A.V. Montarroyos, M.J.D.C. Farias. 2011.** Insecticide resistance in Brazilian populations of the cotton leaf worm, *Alabama argillacea*. *Crop Prot.* 30, 1156-1161.
- Scott, J.G. 1991.** Insecticide resistance in insects. p. 663-677. In Pimentel, D. (ed), *Handbook of pest management in agriculture*, vol.II, Boca Raton, CRC Press, 757p.

- Tabashnik, B.E. & B.A. Croft. 1982.** Managing pesticide resistance in crop-arthropod complexes: interactions between biological and operational control. *Environ. Entomol.* 11: 1137-1144.
- Tabashnik, B.E. & M.W. Johnson. 1999.** Evolution of pesticide resistance in natural enemies, p. 673-689. In T.S. Bellows & T.W. Fisher (eds.), *Handbook of biological control*, San Diego, Academic Press, 1046p.
- Tillman, P.G. & J.E. Mulrooney. 2000.** Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon melitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.* 93: 1638-1643.
- Torres, J.B. & J.R. Ruberson. 2005.** Canopy- and ground-dwelling predatory arthropods in Bt and non-Bt cotton fields: patterns and mechanisms. *Environ. Entomol.* 34: 1242-1256.
- Torres, J.B., C.S. Bastos & D. Pratisoli. 2009.** Controle biológico de pragas com uso de insetos predadores. *Inf. Agropecu.* 30: 17-32.
- Torres, J.B., F.S. Freitas & D. Pratisoli. 1995.** Avaliação de diferentes porcentagens da mistura de farinha de milho com farinha de trigo integral e levedura-de-cerveja na criação de *Anagata kuheniella* (Zeller, 1879). *Revista Ciência e Prática* 19: 365-368.
- Torres-Vila, L.M., M.C. Rodriguez-Molina, A. Lacasa-Plasencia & P. Bielza-Lino. 2002.** Insecticide resistance of *Helicoverpa armigera* to endosulfan, carbamates and organophosphates: the Spanish case. *Crop Prot.* 21: 1003-1013.
- van Emden, H.F. & R. Harrington. 2007.** Aphids as crop pests. Cambridge, Massachusetts, CAB International, 717p.
- Villas Boas, G.L., M. Castelo Branco, M.A. Medeiros, R.G. Monnerat & F.H. França. 2004.** Inseticidas para o controle da traça-das-crucíferas e impactos sobre a população natural de parasitóides. *Hortic. Bras.* 22: 696-699.
- Volkl, W., M. Mackauer, J.K. Pell & J. Brodeur. 2007.** Predators, parasitoids and pathogens, p. 187-233. In H.F. van Emden & R. Harrington (eds.), *Aphids as crop pests*. Cambridge, Massachusetts, CAB International, 717p.
- Weber, D.C. & J.G. Lundgren. 2009.** Assessing the trophic ecology of the Coccinellidae: their roles as predators and as prey. *Biol. Control* 51: 199-214.
- Yamamoto, I., M. Elliott & J.E. Casida. 1971.** The Metabolic Fate of Pyrethrin I, Pyrethrin II, and Allethrin. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 44: 347-348.

Tabela 1. Descrição das localidades e agroecossistemas onde foram coletadas as populações estudadas de joaninhas predadoras.

Species	Locales (County-State)	Acronym	Geographic coordinates	Crops/exposure
<i>Curinus coeruleus</i>	Recife-PE	Cc-Re	07° 53' 48,9" S	Sombreiro ^a
			35° 49' 19,2" W	
<i>Olla v-nigrum</i>	Remígio-PB	Ov-Rm	08° 01' 46,5" S	Algodão ^a
			34° 57' 28,7" W	
<i>Brumoides foudrasi</i>	Surubim-PE	B-Su	07° 53' 48,9" S	Algodão ^a
			35° 49' 19,2" W	
<i>Cycloneda sanguinea</i>	Rio Real-BA	Cs-RR	11° 28' 43,2" S	Citros ^a
	Chã Grande-PE	Cs-CG	37° 59' 40,1" W	Repolho e couve ^a
			08° 15' 14,4" S	
	Viçosa-MG	Cs-Vi	35° 30' 0,3" W	Repolho ^c
			20° 46' 06" S	
Surubim-PE	Cs-Su	42° 52' 10,1" W	Algodão ^a	
		07° 53' 48,9" S		
Chã Grande-PE	Cm-CG	35° 49' 19,2" W	Couve ^a	
<i>Coleomegilla maculata</i>	Seropédica-RJ	Cm-Se	08° 15' 14,4" S	Milho ^a
			43° 41' 07" W	
	Surubim-PE	Cm-Su	07° 53' 48,9" S	Algodão ^a
<i>Hippodamia convergens</i>	Ribeirão Preto-SP	Hc-RP	35° 49' 19,2" W	Citros ^c
	Jaboticabal-SP	Hc-Jb	21° 12' 26" S	Nabo ^b
			47° 51' 48" W	
	Londrina-PR	Hc-Ld	21° 14' 0,9" S	Milho ^c
			48° 19' 0,9" W	
	Rondonópolis-MT	Hc-Rd	23° 11' 43,3" S	Algodão ^c
			51° 10' 72,2" W	
	Viçosa-MG	Hc-Vi	16° 49' 7,3" S	Repolho ^c
54° 50' 6,78" W				
Brasília-DF	Hc-Br	20° 46' 06" S	Algodão ^b	
		42° 52' 10,1" W		
Jaboticabal-SP	Ha-Jb	15° 45' 51" S	Nabo ^b	
<i>Harmonia axyridis</i>	Londrina-PR	Ha-Ld	47° 52' 7" W	Milho ^c
			21° 14' 0,9" S	
	Itatinga-SP	Ha-It	48° 19' 0,9" W	Eucalipto ^b
			23° 11' 43,3" S	
	Viçosa-MG	Ha-Vi	51° 10' 72,2" W	Milho ^b
23° 11' 53,5" S				
Brasília-DF	Ha-Br	48° 36' 1" W	Algodão ^b	
		20° 46' 06" S		
Jaboticabal-SP	Ec-Jb	42° 52' 10,1" W	Nabo ^b	
<i>Eriopsis connexa</i>	Rondonópolis-MT	Ec-Rd	15° 45' 51" S	Algodão ^c
			47° 52' 7" W	
	Viçosa-MG	Ec-Vi	21° 14' 0,9" S	Repolho ^c
			48° 19' 0,9" W	
Surubim-PE	Ec-Su	16° 49' 7,3" S	Algodão ^a	
		54° 50' 6,78" W		
Chã Grande-PE	Ec-CG	20° 46' 06" S	Couve ^a	
Frei Miguelinho-PE	Ec-FM	42° 52' 10,1" W	Algodão ^b	
		07° 53' 48,9" S		
		35° 49' 19,2" W		
Bezerros-PE	Ec-Bz	08° 15' 14,4" S	Repolho ^c	
		35° 30' 0,3" W		
07° 55' 90,1" S		35° 51' 45,6" W		
08° 13' 70,7" S		35° 43' 66,6" W		

^aImprovável exposição a agrotóxicos (sistema de platío orgânico ou agroecológico); ^bProvável exposição (bordadura de plantios convencionais ou pequenas áreas com diversos sistemas de plantio); e ^cExposição frequente (sistema convencional).

Tabela 2. Suscetibilidade de três espécies de joaninhas predadoras ao inseticida piretróide lambda-cialotrina. Nota = n, Número de adultos; GL, graus de liberdade; e EP, erro padrão.

Espécies	n	GL	<i>knockdown</i>			Mortalidade			
			Inclinação ± EP	DK ₅₀ (IC 95%) ¹	TR ₅₀ (IC95%) ²	Inclinação ± EP	DL ₅₀ (IC 95%) ¹	TR ₅₀ (IC95%) ²	IR ₅₀ (IC95%) ³
<i>Olla v-nigrum</i>	265	6	1,64 ± 0,28	0,010 (0,004-0,017)	50,53 (21,90-116,59)*	1,58 ± 0,24	0,054 (0,037-0,072)	79,58 (50,53-125,33)*	5,30 (2,59-10,87)*
<i>Brumoides froudasi</i>	128	4	2,50 ± 0,48	0,007 (0,005-0,009)	36,96 (20,46-66,77)*	1,86 ± 0,39	0,009 (0,007-0,013)	14,32 (9,19-22,32)*	1,31 (0,88-1,94)
<i>Curinus coeruleus</i>	166	6	1,23 ± 0,26	0,0002 (0,0001-0,0004)	-	1,66 ± 0,28	0,0007 (0,0004-0,0013)	-	3,37 (1,80-6,29)*

¹DK e DL - dose (mg de i.a. lambda-cialotrina/mL) que produz efeito *knockdown* e mortalidade, respectivamente; ²TR - tolerância relativa e intervalo de confiança a 95%, sendo as DK e DL de *C. coeruleus* referência de suscetibilidade; ³IR - índice de recuperação de sintomas e intervalo de confiança a 95%; *TR₅₀ e IR₅₀ foram calculados através do método de Robertson & Preisler (1992), sendo significativos quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

Tabela 3. Suscetibilidade de populações de joaninhas (Coccinellidae) ao lambda-cialotrina. Nota = n, Número de adultos; GL, graus de liberdade; e EP, erro padrão.

Espécies/ Populações	n	GL	<i>knockdown</i>				Mortalidade				
			Inclinação ± EP	KD ₅₀ (IC 95%) ¹	RR ₅₀ (IC95%) ²	TR ₅₀ (IC95%) ³	Inclinação ± EP	DL ₅₀ (IC 95%) ¹	RR ₅₀ (IC95%) ²	TR ₅₀ (IC95%) ³	IR ₅₀ (IC95%) ⁴
<i>Coleomegilla maculata</i>											
Chã Grande	251	4	NE	NE	NE	NE	5,18 ± 0,90	0,067 (0,06-0,07)	4,63 (3,5-6,1)*	97,97 (70,34-136,43)*	NE
Seropédica	222	3	NE	NE	NE	NE	3,01 ± 0,58	0,028 (0,024-0,036)	2,10 (1,5-2,9)*	44,54 (30,7-64,6)*	NE
Surubim	149	4	NE	NE	NE	NE	2,89 ± 0,54	0,014 (0,01-0,02)	-	21,16 (13,98-32,03)*	NE
<i>Cycloneda sanguinea</i>											
Viçosa	165	4	NE	NE	NE	NE	4,02 ± 0,85	0,143 (0,067-0,185)	2,97 (2,3-3,8)*	210,46 (144,1-307,5)*	NE
Rio Real	229	4	NE	NE	NE	NE	3,10 ± 0,49	0,093 (0,049-0,124)	1,92 (1,5-2,4)*	135,86 (93,8-196,8)*	NE
Surubim	150	4	NE	NE	NE	NE	3,85 ± 0,67	0,089 (0,067-0,118)	1,86 (1,5-2,3)*	131,57 (92,3-187,5)*	NE
Chã Grande	153	4	NE	NE	NE	NE	5,23 ± 0,92	0,048 (0,040-0,055)	-	70,90 (49,7-101,1)*	NE
<i>Harmonia axyridis</i>											
Brasília	153	4	NE	NE	NE	NE	3,16 ± 0,61	0,044 (0,035-0,053)	3,09 (1,67-5,72)*	65,40 (45,08-94,90)*	NE
Londrina	215	4	3,85 ± 0,52	0,023 (0,019-0,027)	4,35 (2,7-6,9)*	115,70 (65,8-203,5)*	3,27 ± 0,45	0,035 (0,029-0,041)	2,32 (1,64-3,30)*	51,34 (35,84-73,54)*	1,49 (1,18-1,90)
Jaboticabal	320	5	3,04 ± 0,47	0,009 (0,007-0,010)	1,62 (1,0-2,6)	43,03 (24,3-76,2)*	2,39 ± 0,24	0,021 (0,016-0,026)	1,37 (0,96-1,95)	30,29 (21,04-43,61)*	2,37 (1,82-3,09)*
Itatinga	174	5	4,89 ± 0,96	0,010 (0,008-0,012)	1,92 (1,2-3,1)	50,93 (28,9-89,6)*	3,09 ± 0,52	0,019 (0,014-0,025)	1,28 (0,88-1,85)	28,31 (18,77-42,70)*	1,87 (1,43-2,45)*
Viçosa	214	4	1,70 ± 0,32	0,005 (0,003-0,008)	-	26,6 (13,3-53,1)*	1,48 ± 0,24	0,015 (0,011-0,020)	-	22,10 (14,16-34,50)*	2,80 (1,64-4,77)*

Tabela 3. Continuação.

Espécies/ Populações	n	Knockdown					Mortalidade				
		Inclinação ± EP	KD ₅₀ (IC 95%) ¹	RR ₅₀ (IC95%) ²	TR ₅₀ (IC95%) ³	Inclinação ± EP	DL ₅₀ (IC 95%) ¹	RR ₅₀ (IC95%) ²	TR ₅₀ (IC95%) ³	IR ₅₀ (IC95%) ⁴	
<i>Hippodamia convergens</i>											
Ribeirão Preto	223	3	2,37 ± 0,58	0,06 (0,02-0,10)	8,71 (3,8-20,1)*	295,51 (123,5-706,8)*	3,38 ± 0,48	0,25 (0,135-0,33)	10,62 (7,06-15,91)*	361,30 (253,30-515,36)*	4,12 (2,04-8,33)*
Rondonópolis	185	6	NE	NE	NE	NE	1,64 ± 0,46	0,17 (0,12-0,24)	7,22 (4,50-11,58)*	245,63 (160,31-376,35)*	NE
Brasília	190	5	2,15 ± 0,38	0,035 (0,010-0,056)	5,15 (2,8-9,3)*	174,65 (91,9-332,0)*	2,41 ± 0,38	0,134 (0,110-0,170)	5,80 (3,76-8,95)*	197,37 (134,51-289,61)*	3,81 (2,52-5,74)*
Londrina	228	6	NE	NE	NE	NE	1,54 ± 0,33	0,05 (0,02-0,06)	1,99 (1,12-3,55)*	67,81 (39,53-116,33)*	NE
Viçosa	178	4	1,94 ± 0,40	0,007 (0,004-0,01)	1,07 (0,57-2,00)	36,36 (18,6-71,0)*	1,13 ± 0,16	0,03 (0,015-0,04)	1,11 (0,58-2,09)	37,73 (20,60-69,13)*	3,38 (1,83-6,22)*
Jaboticabal	325	3	1,09 ± 0,15	0,007 (0,004-0,01)	-	33,92 (16,5-69,6)*	0,99 ± 0,12	0,02 (0,007-0,06)	-	34,03 (20,71-55,91)*	3,50 (1,82-6,70)*
<i>Eriopsis connexa</i>											
Viçosa	337	4	2,91 ± 0,40	0,74 (0,37-1,01)	31,41 (22,2-44,6)*	3665,59 (2051,8-6548,8)*	2,35 ± 0,36	1,46 (1,21-1,69)	37,69 (24,8-57,3)*	2135,97 (1491,7-3058,5)*	1,96 (1,5-2,6)*
Jaboticabal	225	5	3,21 ± 0,50	0,82 (0,33-1,14)	34,81 (24,3-49,8)*	4062,33 (2262,6-7293,6)*	2,17 ± 0,40	1,42 (1,10-1,70)	36,74 (23,7-56,8)*	2081,51 (1422,9-3044,8)*	1,73 (1,3-2,4)*
Rondonópolis	216	5	1,10 ± 0,41	0,16 (0,002-0,32)	6,56 (1,82-23,6)*	765,55 (196,4-2984,8)*	2,18 ± 0,48	0,96 (0,79-1,22)	24,91 (16,1-38,4)*	1411,23 (967,9-2057,6)*	6,21 (1,8-22,0)*
Bezerros	224	5	2,32 ± 0,35	0,17 (0,09-0,24)	7,25 (4,9-10,6)*	845,98 (464,7-1540,2)*	3,11 ± 0,39	0,40 (0,34-0,47)	10,45 (7,6-14,4)*	591,87 (414,8-844,5)*	2,36 (1,7-3,2)*
Chã Grande	186	5	5,11 ± 1,22	0,18 (0,06-0,23)	7,51 (5,2-10,9)*	876,34 (482,5-1591,8)*	4,37 ± 0,87	0,32 (0,29-0,36)	8,36 (5,6-12,5)*	473,85 (337,8-664,8)*	1,82 (1,4-2,4)*
Surubim	238	5	1,83 ± 0,21	0,03 (0,02-0,04)	1,31 (0,8-2,1)	152,42 (77,6-299,4)*	1,63 ± 0,20	0,08 (0,04-0,12)	1,98 (1,2-3,4)*	112,10 (69,4-181,2)*	2,47 (1,4-4,3)*
Frei Miguelinho	260	5	2,28 ± 0,30	0,02 (0,01-0,04)	-	116,70 (63,9-212,8)*	1,27 ± 0,17	0,04 (0,02-0,07)	-	56,66 (34,3-93,5)*	1,64 (1,0-2,6)*

¹DK e DL - dose (mg de i.a. lambda-cialotrina/mL) que produz efeito *knockdown* e mortalidade, respectivamente; ²RR - razão de resistência e intervalos de confiança a 95%; ³TR - tolerância relativa e intervalos de confiança a 95%; ⁴IR - índice de recuperação de sintomas e intervalos de confiança a 95%; *RR₅₀, TR₅₀ e IR₅₀ foram calculados através do método de Robertson & Preisler (1992), sendo significativos quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0; NE - valores não estimados.

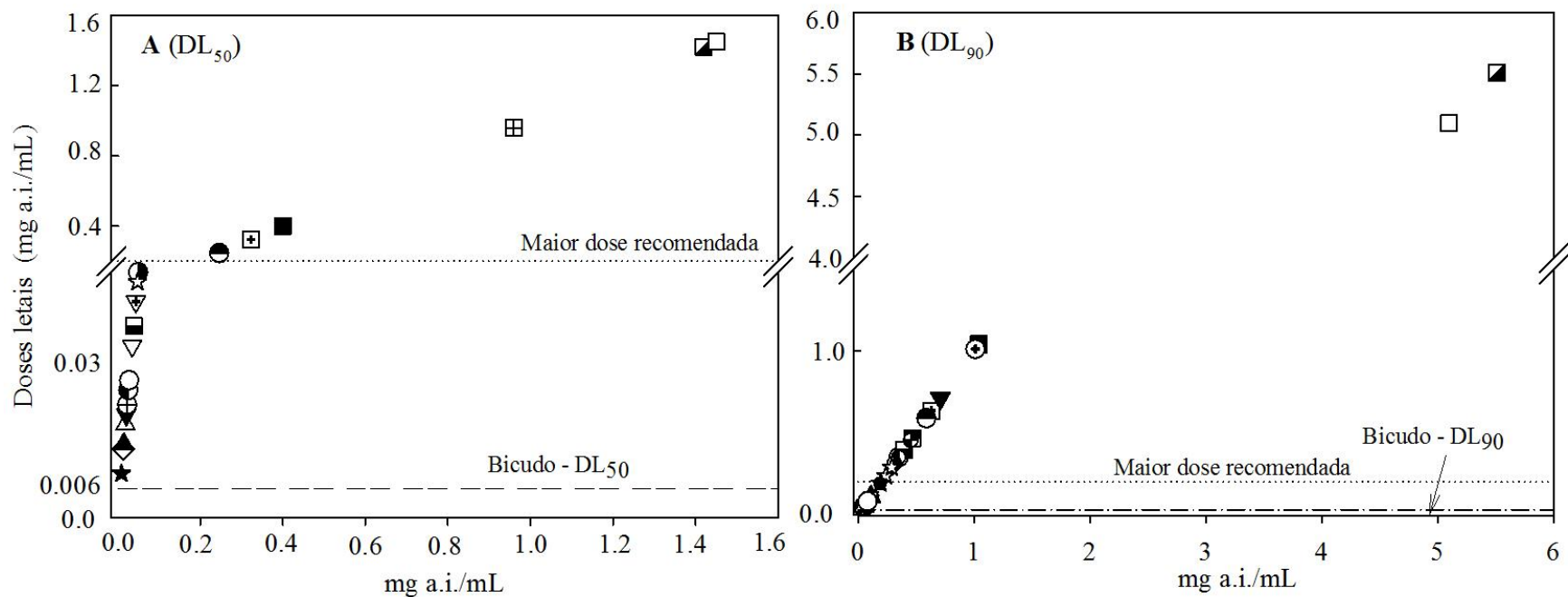


Figura 1. Representação das DL₅₀ (A) e DL₉₀ (B) em mg/mL para 26 populações de sete espécies de joaninhas predadoras coletadas em várias localidades do Brasil em relação a maior dosagem do lambda-cialotrina recomendada (0,1 mg/mL) e as DL₅₀ e DL₉₀ calculada para o bicudo do algodoeiro *Anthonomus grandis*. Simbologia indica as DLs para populações de *Eriopis connexa* (□), *Harmonia axyridis* (△), *Hippodamia convergens* (○), *Coleomegilla maculata* (◇), *Olla v-nigrum* (●), *Brumoides froudasi* (★), e *Cycloneda sanguinea* (◆).

CAPÍTULO 3

HERANÇA DA RESISTÊNCIA AO LAMBDA-CIALOTRINA EM *Eriopis connexa* (GERMAR) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)¹

AGNA R.S. RODRIGUES², JORGE B. TORRES², HERBERT A.A SIQUEIRA² E DANIEL P.A. LACERDA²

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua
Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos 52171-900 Recife, PE, Brasil.

¹Rodrigues, A.R.S. J.B. Torres, H.A.A Siqueira & D.P.A. Lacerda. Herança da resistência ao lambda-cialotrina em *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae). Submetido ao Biological Control.

RESUMO – A joaninha *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) ocorre naturalmente em diversos agroecossistemas no Brasil, como predadores de pulgões e outras espécies de corpo macio. Esta ampla ocorrência pode estar expondo os indivíduos às pulverizações para o controle de pragas resultando em níveis variáveis de tolerância ao inseticida lambda-cialotrina. Este trabalho foi conduzido visando confirmar a ocorrência de resistência nesta espécie ao lambda-cialotrina, bem como caracterizar a herança da resistência após dez gerações de progressiva seleção baseando-se na DL_{50} determinada na geração F1. Curvas de dose-mortalidade foram obtidas para as populações parentais e as progênies oriundas dos cruzamentos recíprocos e retrocruzamento. A herdabilidade realizada por *E. connexa* ao lambda-cialotrina requer acima de 50 gerações para aumento em 10 vezes a DL_{50} . Com base nos resultados, a resistência de *E. connexa* ao lambda-cialotrina pode ser caracterizada como autossômica e incompletamente dominante. Já em relação ao modelo de herança, os resultados indicam que a resistência pode ter influência de um gene principal com participação possivelmente de genes secundários. Adicionalmente, ao considerar a resistência em *E. connexa* em função das doses utilizadas, a resistência varia de funcionalmente dominante a funcionalmente recessiva. Estas observações indicam que *E. connexa* pode ser selecionada em campo e provavelmente ter a resistência aumentada em condições de laboratório e a caracterização realizada neste estudo é um passo importante, criando oportunidade para uso integrado do controle biológico e químico no manejo de pragas.

PALAVRAS-CHAVE: Coccinellidae, controle biológico, piretróide, genética, herdabilidade

INHERITANCE OF RESISTANCE TO LAMBDA-CYHALOTHRIN IN *Eriopis connexa*

(GERMAR) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

ABSTRACT – Lambda-cyhalothrin is widely used to control pests in various Brazilian crop ecosystems, in which the lady beetle *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) occurs naturally. Therefore, lady beetle populations are exposed to lambda-cyhalothrin sprays that may foster tolerance to this insecticide. This study was conducted to confirm the occurrence of resistance in *E. connexa* to lambda-cyhalothrin and to characterize the inheritance of resistance after progressive selection with insecticide dosages based on the LD₅₀ determined for the F1 generation. Dose-mortality curves were determined for parental populations, F1 hybrids and backcrossed progenies. The heritability of the resistance to lambda-cyhalothrin in *E. connexa* indicates over 50 generations to increase the LD₅₀ 10-fold. The resistance ratios of field collected and selected population were 38.3 and 58.4 folds, respectively. The resistance of *E. connexa* to lambda-cyhalothrin was characterized as autosomally inherited and incompletely dominant, and influenced by a major gene with possible influence of secondary genes. Additionally, the resistance in *E. connexa* varies from functionally dominant to functionally recessive depending on the dose used. These findings indicate that insecticide resistance in *E. connexa* can be selected in the field and subsequently enhanced under laboratory conditions. Its characterization presented here is an important step toward linking biological and chemical control within pest management.

KEY WORDS: Coccinellidae, biological control, pyrethroid, genetics, heritability

Introdução

A resistência de artrópodes a inseticidas e acaricidas tem sido um dos grandes entraves no controle químico de pragas. Aproximadamente 600 espécies de insetos e ácaros foram registrados como resistentes a um ou mais princípios ativos (Whalon *et al.* 2011), mas poucos casos estão relacionados a inimigos naturais (menos que 10% do total das espécies), sendo em sua maioria ácaros predadores (Croft 1990, Whalon *et al.* 2011). O baixo número de relatos de resistência em inimigos naturais está provavelmente associado à falta de documentação, a pré-adaptação diferencial e a limitação de alimento (Croft & Morse 1979). Segundo Tabashink & Johnson (1999), a presença de inimigos naturais resistentes em campo não têm despertado tanto interesse quanto a ocorrência de resistência em artrópodes pragas e, portanto, o número de casos de inimigos naturais resistentes pode ser subestimado. A hipótese da pré-adaptação diferencial retrata o fato de que fitófagos possuem mecanismos bioquímicos que podem promover uma melhor adaptação a inseticidas e acaricidas sintéticos quando comparados aos inimigos naturais (Croft & Morse 1979). Isto porque fitófagos apresentariam maior capacidade de destoxificar tais produtos, uma vez que eles são frequentemente desafiados pelas defesas metabólicas das plantas (Plapp & Bull 1978). A limitação de alimento refere-se à escassez de presas e/ou hospedeiros para os inimigos naturais que sobrevivem após as pulverizações de produtos não seletivos, tendo como principais conseqüências, a dispersão destes para outras áreas em busca de alimento e falhas em sua reprodução (Georghiou 1972).

Apesar destas diferenças bioecológicas, inimigos naturais podem desenvolver resistência a inseticidas e acaricidas, através de seleções realizadas pelas aplicações de produtos para controle de artrópodes-pragas (Theiling & Croft 1988). Ácaros da família Phytoseiidae têm sido relatados e estudados como modelos de inimigos naturais resistentes a acaricidas (Hoy 1990, Poletti &

Omoto 2003). Adicionalmente, a ocorrência de resistência de diferentes populações de *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) a organofosforados e piretróides foi relatada no Paquistão (Pathan *et al.* 2008), tendo a base genética, a resistência cruzada, os mecanismos de resistência, o custo adaptativo e potencial predatório investigados (Sayed *et al.* 2010, Pathan *et al.* 2010).

O conhecimento da resposta de joaninhas predadoras a inseticidas tem sido limitado à toxicidade ou presença de efeitos subletais (Tillman & Mulrooney 2000, Cosme *et al.* 2007). No entanto, existe uma variabilidade de resposta de diferentes espécies de joaninhas predadoras a inseticidas (Tillman & Mulrooney 2000, Gusmão *et al.* 2000, Michaud 2002, Torres & Ruberson 2005, Ruberson *et al.* 2007, Cosme *et al.* 2007, Leite *et al.* 2010, Cap. 2). Registros de populações de joaninhas predadoras resistentes a inseticidas estão restritos a estudos na década de 70, com *Coleomegilla maculata* (De Geer) (Coleoptera: Coccinellidae) na cultura do algodoeiro aos inseticidas DDT, parationa metílica e monocrotofós (Head *et al.* 1977, Graves *et al.* 1978). Além disso, Croft (1990) menciona *Stethorus punctum* (LeConte) e *Stethorus punctillum* (Weise) (Coleoptera: Coccinellidae) como exemplos de espécies de joaninhas resistentes quando aplicado azinfos-metil na cultura de macieira. Entretanto, nos estudos citados por este autor encontram-se apenas relatos da possibilidade de ocorrência de seletividade em campo de inseticidas piretróides em favor de *S. punctum* (Hull & Starner 1983) e a não redução da população de *S. punctillum* após a pulverização de pomares de macieira com os inseticidas fosalone, pirimicarbe e diflubenzuron (Pasqualini & Malavolta 1985). Somente recentemente, uma população de *Stethorus gilvifrons* (Muls.) coletada em pomar de macieira foi caracterizada com valor 10,9 vezes para a razão de resistência ao bifentrin baseado na CL₅₀ (Kumral *et al.* 2011). Estes resultados ilustram a falta de

informação em tal grupo de inimigos naturais apesar de possível seleção para resistência a inseticidas em condições de campo e laboratório.

Desenvolvidos inicialmente na década de 70, os inseticidas piretróides possuem ampla recomendação e apresentam eficácia para o controle de uma grande variedade de artrópodes pragas (Elliott & Janes 1978). O impacto destes inseticidas em vários grupos de inimigos naturais, tais como ácaros, crisopídeos e himenópteros parasitóides, foi resumido por Croft (1990). O piretróide lambda-cialotrina tem sido amplamente utilizado para controle de lagartas desfolhadoras, porém sendo considerado pouco seletivo a inimigos naturais, ocasionando geralmente efeitos letais (Ruberson & Tillman 1999, Cosme *et al.* 2007, Leite *et al.* 2010). O lambda-cialotrina é registrado no Brasil para uso em culturas, nas quais a presença da joaninha predadora *Eriopsis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) é observada. *E. connexa* é uma espécie neotropical presente em diversas culturas anuais e fruteiras (Gyenge *et al.* 1998), sendo importante predadora de pulgões, moscas-brancas e cochonilhas. Recentemente, populações de *E. connexa* coletadas em campo têm exibido variabilidade quanto à tolerância ao lambda-cialotrina que varia em até 7,3 vezes a dose recomendada (Rodrigues dados não publicados).

Após a detecção de populações de inimigos naturais resistentes, estudos visando o conhecimento da evolução e da base genética da resistência ao inseticida em foco é fundamental, uma vez que estes podem auxiliar no desenvolvimento de programas que minimizem o uso de inseticidas (Landis *et al.* 2000) ou que permitam a utilização de produtos não seletivos quando os mesmos são necessários. Inicialmente, experimentos foram conduzidos visando confirmar a ocorrência de resistência em *E. connexa*, e assim, verificar o efeito de seleções subsequentes na resistência observada, utilizando para isto a estimativa da DL₅₀. Tendo por base estes resultados,

foram realizados experimentos com intuito de investigar o modo de herança da resistência em *E. connexa*.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico e Ecologia de Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), sob $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12h fotofase. Ovos de *Anagasta* (= *Ephestia*) *kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) foram oferecidos como presa para larvas e adultos de *E. connexa*. A metodologia de criação de *A. kuehniella* foi adaptado de Torres *et al.* (1995). Para adultos de *E. connexa* também foi oferecido uma mistura de mel e levedura de cerveja (1:1) como fonte complementar de alimentação.

Lambda-cialotrina. Nos bioensaios de seleção para resistência foi utilizado o produto formulado Karate Zeon 50 CS (lambda-cialotrina 5% m/v- 50 g/L, Syngenta S.A., São Paulo-SP), enquanto que nos bioensaios de herança da resistência foi utilizado o lambda-cialotrina em grau técnico (99,5%, Chem Service, West Chester, PA), entretanto em ambos estudos os resultados são expressos em ingrediente ativo (mg/mL).

Obtenção das Populações de *E. connexa* Suscetível e Resistente. Duas populações de *E. connexa* foram coletadas sendo uma em cultivo de algodoeiro no município de Frei Miguelinho, PE, à $07^\circ 55' \text{ S}$ e $35^\circ 51' \text{ W}$, em Julho de 2009 e, outra, em cultivo de brássicas no município de Viçosa, MG, à $20^\circ 45' \text{ S}$ e $42^\circ 51' \text{ W}$, em dezembro de 2008. As DL_{50s} foram estimadas para ambas as populações a partir de aplicações tópicas de $0,5\mu\text{L}$ de diferentes doses do produto formulado Karate Zeon 50 CS na parte ventral do abdome dos adultos utilizando uma seringa de HamiltonTM ($25 \mu\text{L}$). As DL_{50s} (em mg de i.a. de lambda-cialotrina/mL) foram determinadas nas gerações F2 e F1 das populações de Frei Miguelinho e Viçosa, respectivamente. As DL_{50s} foram

de 0,038 e 1,45 mg/mL para Frei Miguelinho e Viçosa, respectivamente. Tendo por base estes resultados, a população de Frei Miguelinho é aproximadamente 38 vezes mais suscetível do que a população de Viçosa. Além disso, a DL_{50} da população de Viçosa foi 7,3 vezes maior que recomendação para o controle de pragas na cultura do algodoeiro no Brasil (400 mL do produto comercial/ha em 100 L de calda; 0,2 mg de i.a. lambda-cialotrina/mL) (BRASIL 2012). Assim, a população de Frei Miguelinho foi denominada suscetível (Ec-FM) e a população de Viçosa resistente (Ec-Vi). Para determinar a herança da resistência foram utilizados adultos das populações Ec-FM e Ec-Vi nas gerações F4 e F10, respectivamente.

Criação das Populações de *E. connexa* Suscetível e Resistente. As populações de *E. connexa* foram mantidas em colônias isoladas. Adultos de cada população foram acondicionados em recipientes plásticos de 1L com tampa de tela feita com tecido *voil* para permitir a circulação de ar. No interior dos recipientes, pedaços de papel toalha foram adicionados, servindo como substrato para posturas. Estas foram transferidas para recipientes plásticos de 500 mL. Após a eclosão, três larvas foram transferidas e criadas em recipientes plásticos de 80 mL. No interior dos recipientes plásticos, pedaços de papel toalha foram adicionados, a fim de reduzir o risco de canibalismo entre as larvas. O alimento, ovos de *A. kuehniella*, foi oferecido em abundância de acordo com a idade da larva.

Seleção de *E. connexa* Utilizando Lambda-cialotrina. Os estudos relacionados à seleção de populações para resistência foram conduzidos com a população de *E. connexa* resistente (Ec-Vi). O estudo de seleção foi iniciado com a DL_{50} estimada na geração F₁ ($DL_{50} = 1,45$ mg/mL), utilizando o produto formulado Karate Zeon 50 CS. Quatro subseqüentes gerações de *E. connexa* foram submetidas à seleção (F₂-F₅) e na geração F₆ uma nova DL_{50} foi estimada. Em seguida, subseqüentes gerações foram selecionadas (F₇-F₁₁) e na geração F₁₂ uma nova DL_{50} foi obtida,

correspondendo a 2,22 mg/mL. Baseando-se nas DL_{50} s estimadas e inclinações da reta para as gerações F1 e F12, e mortalidade média observada, foram calculados a herdabilidade (h^2) e o número de gerações (G) necessário para aumento em 10 vezes a DL_{50} inicial, conforme descrito por Falconer (1989).

Curva de Dose-Mortalidade. As doses (mg i.a./mL) utilizadas nos bioensaios foram previamente determinadas e preparadas por diluir o produto formulado Karate Zeon 50 CS em água destilada e o lambda-cialotrina em grau técnico em acetona. No mínimo 5 doses com 10 a 20 insetos por repetição foram testadas, produzindo 0 a 100% de mortalidade. O bioensaio foi realizado duas vezes para cada população de *E. connexa*. Nestes bioensaios, a testemunha foi tratada somente com água destilada ou acetona.

A aplicação das doses foi realizada com a deposição de 0,5µl da respectiva dose na parte ventral do abdome dos insetos, utilizando seringa de 25µL (HamiltonTM). Os insetos após serem tratados foram acondicionados em placas de Petri (12 x 1,5cm), forradas com papel de filtro. No interior da placa, foram oferecidos ovos de *A. kuehniella* como presa e um chumaço de algodão contendo mel a 10% no interior de recipientes de 10 mL como umidade e complemento alimentar. Em seguida, as placas de Petri contendo os insetos foram mantidas em câmaras climáticas tipo B.O.D., com temperatura regulada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h. Nos bioensaios, a mortalidade foi avaliada após 24h do tratamento, sendo indivíduos mortos aqueles que não foram capazes de voltar a posição normal quando colocado de ventre para cima.

Efeito Maternal e Ligação ao Sexo da Resistência em *E. connexa*. Neste estudo, foram utilizados adultos de *E. connexa* provenientes da população suscetível “S” (Ec-FM) e da população resistente selecionada ao lambda-cialotrina “R” (Ec-Vi). Para averiguar se a resistência ao lambda-cialotrina é autossômica ou ligada ao sexo foram realizados cruzamentos recíprocos

entre machos (n=30) e fêmeas (n=30) virgens das duas populações, a fim de obter insetos de dois tipos de heterozigotos (progênie F₁), os SR (♂ suscetível x ♀ resistente) e RS (♂ resistente x ♀ suscetível). Para a realização dos cruzamentos recíprocos, as fêmeas e os machos virgens dos parentais foram mantidos em caixas de acrílico transparente para permitir livre escolha de parceiro. Cada população de heterozigotos (SR e RS) foi mantida separadamente objetivando obter adultos para os bioensaios a fim de estimar curvas de dose-mortalidade.

Para determinar se a resistência é monogênica ou poligênica, machos (n=30) e fêmeas (n=30) virgens de *E. connexa* oriundos da progênie F₁ foram retrocruzados com machos (n=30) e fêmeas (n=30) virgens da população parental suscetível (Ec-FM), uma vez que esta população apresentou o fenótipo mais distinto quando comparada a progênie F₁. Segundo Tabashnik (1991), esta escolha tem a capacidade de aumentar o poder do teste do retrocruzamento em distinguir os modelos de herança. Assim, adultos da progênie F₁ e da população suscetível (Ec-FM) foram acasalados em caixas de acrílico transparente, conforme descrito para os cruzamentos recíprocos. A população obtida a partir do retrocruzamento foi mantida separadamente para ser utilizada nos bioensaios para obtenção da curva de dose-mortalidade, bem como testar o modelo monogênico de herança da resistência, considerando oito doses de lambda-cialotrina.

Dominância em Função da Dose de Lambda-cialotrina. Neste experimento, foram utilizados adultos com 8 a 10 dias de idade das populações suscetível (n=25), resistente (n=26) e F₁ agrupado (n=51-55) por dose de lambda-cialotrina testada. Quatro doses previamente estabelecidas, correspondentes a 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 mg/mL em grau técnico foram aplicadas em diferentes grupos de joaninhas de cada população, e o grupo testemunha foi tratado somente com acetona. A aplicação das doses foi realizada com a deposição de 0,5µl da respectiva dose na parte ventral do abdome dos insetos, utilizando seringa de HamiltonTM 25µL. Após a aplicação do

lambda-cialotrina, os insetos foram mantidos conforme descrito nos bioensaios de curva de dose-mortalidade. A mortalidade de adultos de *E. connexa* para as quatro doses foi avaliada após 24h do tratamento.

Análises. O número de indivíduos mortos e vivos nos bioensaios de seleção e herança da resistência foi registrado para a determinação da DL_{50} de cada população ou progênie estudada, através da análise de Probit (Finney 1971), utilizando o programa POLO-PC (LeOra Software 1987). Testes de paralelismo e igualdade entre as curvas de dose-mortalidade estimadas foram interpretados pelo teste de qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade. A razão de resistência (RR_{50}) e o respectivo intervalo de confiança ($IC_{95\%}$) entre as populações/progênies foram calculados pelo método descrito por Robertson & Preisler (1992), sendo que populações ou progênies apresentam razões de resistência significativa ao lambda-cialotrina, quando o intervalo de confiança não inclui o valor 1.

As hipóteses de resistência autossômica ou ligada ao sexo em *E. connexa* foram analisadas a partir das curvas de dose-mortalidade obtidas para adultos da progênie F_1 , oriundos de cruzamentos recíprocos entre adultos da população suscetível (Ec-FM) e da população resistente (Ec-Vi). A partir da DL_{50} estimada para a progênie F_1 (SR, RS e F_1 agrupado) e para as populações parentais suscetível (Ec-FM) e resistente (Ec-Vi), o grau de dominância da resistência foi determinado seguindo o método de Stone (1968): $D = [(2 \theta_3 - \theta_2 - \theta_1) / (\theta_2 - \theta_1)]$. Onde, D = grau médio de dominância; $\theta_1 = \log_{10} (DL_{50})$ da população suscetível; $\theta_2 = \log_{10} (DL_{50})$ da população resistente; e $\theta_3 = \log_{10} (DL_{50})$ da população heterozigota (progênie F_1). Assim, se $D = 1$, indica dominância completa; $0 < D < 1$, indica dominância incompleta; $-1 < D < 0$, indica recessividade incompleta; e $D = -1$ indica recessividade completa. O erro padrão do grau de

dominância foi calculado utilizando a fórmula descrita por Lehmann (1966), e interpretado segundo Preisler *et al.* (1990).

A herança monogênica ou poligênica em *E. connexa* foi inicialmente estimada pela comparação entre as inclinações das retas e variâncias da população suscetível, e das progêneses F₁ agrupado e retrocruzada. Já o teste direto para herança monogênica foi baseado no ajuste entre a mortalidade observada da progênie oriunda do retrocruzamento a uma determinada dose de lambda-cialotrina e a mortalidade esperada nesta mesma dose, calculada como descrito por Tabashnik (1991): $Y_x = 0,5 (W_{F1} + W_{SS})$, onde W_{F1} e W_{SS} correspondem às mortalidades observadas (W) da progênie F₁ agrupado e da população suscetível (Ec-FM) na dose x, respectivamente. O valor do qui-quadrado foi calculado, a partir das mortalidades observadas no retrocruzamento e das mortalidades esperadas segundo a fórmula descrita por Sokal & Rohlf (1981): $\chi^2 = (F_1 - pn) / pqn$, onde F₁ corresponde ao número de mortos da progênie retrocruzada na dose x; p corresponde à mortalidade esperada; n corresponde ao número total de indivíduos da progênie retrocruzada; e q = 1 - p. Desta forma, a hipótese de herança monogênica é rejeitada (P < 0,05), se o valor de qui-quadrado calculado para cada dose é maior que o tabelado considerando um grau de liberdade.

O número mínimo de genes (n_E) influenciando a resistência foi obtido através do método de Lande (1981), utilizando a fórmula: $n_E = (\theta_2 - \theta_1)^2 / 8\sigma_s^2$, onde θ_1 e θ_2 correspondem ao log₁₀ (DL₅₀) da população suscetível e resistente, respectivamente. E, σ_s^2 pode ser estimado através da fórmula: $\sigma_s^2 = 2 \sigma_{rc}^2 - 2 \sigma_{F1}^2 - 0,5 \sigma_1^2 + 0,5 \sigma_2^2$, onde σ_{rc}^2 , σ_{F1}^2 , σ_1^2 e σ_2^2 correspondem às variâncias da progênie retrocruzada, da F₁ agrupado, da população suscetível e resistente, respectivamente.

A dominância em função da dose (h) foi calculada a partir da fórmula descrita por Hartl (1992): $h = (w_{12} - w_{22}) / (w_{11} - w_{22})$, onde w_{11} , w_{12} e w_{22} correspondem ao desempenho calculado para indivíduos homozigotos dominantes, heterozigotos e homozigotos recessivos, respectivamente. Para os indivíduos homozigotos dominantes, o fitness foi definido como 1. Já o fitness para heterozigotos e homozigotos recessivos foi obtido pela relação entre a sobrevivência observada dos adultos da progênie F_1 agrupado ou da população suscetível (Ec-FM) e a sobrevivência observada dos adultos da população resistente (Ec-Vi). Os valores de h variam entre 0 (recessividade completa) e 1 (dominância completa). Se h corresponde a 0,5 (codominante ou aditivo) ou está entre $0 < h < 0,5$ (recessividade incompleta) e $0,5 < h < 1$ (dominância incompleta).

Resultados

Seleção de *E. connexa* Utilizando Lambda-cialotrina. Os dados de mortalidade obtidos nos bioensaios de seleção para a população de *E. connexa*, provenientes das gerações F_1 e F_{12} , assumiram o modelo de Probit (χ^2 não significativo, $P > 0,05$). Houve um acréscimo significativo na DL_{50} entre as gerações F_1 e F_{12} [RR_{50} : 1,53 (1,26-1,84)]. Também, as inclinações das retas foram significativamente diferentes entre as gerações F_1 e F_{12} [teste de paralelismo ($\chi^2_1 = 6,099$; $P < 0,05$; $GL = 1$)] (Tabela 1). A herdabilidade (h^2) entre as gerações (F_1 - F_{12}) correspondeu a 0,03 sendo estimado aumento na ordem de 10 vezes da DL_{50} após 54,5 gerações (Tabela 1).

Efeito Maternal e Ligação ao Sexo da Resistência em *E. connexa*. Os bioensaios de herança de resistência mostraram que as inclinações das retas variaram de 2,08 a 3,71, indicando que as populações/progênes de *E. connexa* foram homogêneas em relação a mortalidade ocasionada pelo lambda-cialotrina (Tabela 2). Como as inclinações das retas não foram paralelas (teste de

paralelismo, $P < 0,05$), as DL_{50s} e DL_{90s} das populações/progênes de *E. connexa* foram estimadas. A DL_{50} estimada com o produto em grau técnico referente à população Ec-FM foi de 0,009 mg/mL, enquanto que para a população Ec-Vi foi de 0,213 mg/mL. Com base na DL_{50} calculada, a população selecionada (Ec-Vi) foi 21,9 vezes mais resistente quando comparada à população suscetível (Ec-FM) (Tabela 2).

As populações resultantes dos cruzamentos recíprocos, ♂Ec-FM x ♀Ec-Vi e ♀Ec-FM x ♂Ec-Vi, apresentaram DL_{50s} de 0,117 e 0,166 mg/mL, respectivamente (Tabela 2). Também, foi observado que estas progênes não apresentaram DL_{50s} significativamente diferentes entre si incluindo o valor 1 [$RR_{50(1C95\%)} : (0,60-1,67)$]. Desta forma, os dados de mortalidade foram analisados em conjunto, formando o F_1 agrupado, resultando em uma DL_{50} de 0,139 mg/mL (Tabela 2). Para as progênes resultantes dos cruzamentos recíprocos ♂S x ♀R, ♂R x ♀S e F_1 agrupado, as razões de resistência foram de 12,0; 17,0 e 14,3 vezes, respectivamente (Tabela 2), numericamente inferiores àquela da população parental R que foi de 21,9 vezes.

Os graus de dominância (D) da resistência em *E. connexa*, calculado a partir das DL_{50s} foram de 0,61; 0,84; e 0,72 para as progênes F_1 provenientes de ♂S x ♀R, ♂R x ♀S e F_1 agrupado, respectivamente. Considerando os erros padrões estimados calculados pela fórmula de Lehmann (1966) para cada D, a resistência em *E. connexa* foi considerada incompletamente dominante (Tabela 2).

A inclinação da reta estimada para a progênie retrocruzada não foi significativamente diferente entre a população suscetível e a progênie F_1 , indicando que não houve aumento da variação genética na progênie retrocruzada. O teste direto indicou que os desvios obtidos entre as mortalidades esperadas e observadas não foram significativos para sete das oito doses testadas (Fig. 1). Para a dose 0,0075 mg/mL, a mortalidade observada (4,3%) foi significativamente menor

que a mortalidade esperada (22,9%). Entretanto, a diferença média entre as mortalidades esperadas e observadas para as oito doses utilizadas foi correspondente a 7,7% ($\chi^2 = 10,77$; $P = 0,092$) (Tabela 3). Desta forma, empregando o método de Lande (1981), o número mínimo de genes influenciando a resistência de *E. connexa* ao lambda-cialotrina pode ser de aproximadamente 3.

Dominância em Função da dose de Lambda-cialotrina. A dominância efetiva calculada (h) mostrou ser dependente da dose utilizada (Tabela 4). Na menor dose, correspondente a 0,01 mg/mL, a resistência foi considerada funcionalmente dominante ($h = 1$). Entretanto, na maior dose utilizada deste inseticida, correspondente a 0,5 mg/mL, a resistência apresentou-se como funcionalmente recessiva ($h = 0,07$).

Discussão

Estudos acerca da detecção, mecanismos envolvidos e herança da resistência a inseticidas em inimigos naturais são escassos e inexistentes com joaninhas predadoras. A falta de informação não nos permite traçar um padrão para o grupo, ou mesmo para a espécie estudada. Desta forma, os resultados apresentados servem como referência para futuros estudos de resistência de joaninhas a inseticidas piretróides.

O número de gerações estimado para aumento em 10 vezes da resistência detectada em *E. connexa*, baseando-se na DL_{50} calculadas nas gerações F_1 e F_{12} foi relativamente alto. Entretanto, observou-se um aumento significativo da DL_{50} (34,6%) e da inclinação da reta com as seleções. Aumentos significativos da inclinação da reta indicam redução da variação genética da população (Tabashnik 1991). Esta redução na variabilidade genética reflete no ganho para resistência e pode estar associada ao lento aumento na resistência através das gerações selecionadas. Também, isto

pode estar relacionado ao menor número de adultos selecionados a cada geração (entre 100 a 200 adultos), quando comparado a estudos com artrópodes-pragas (He *et al.* 2009, Li & Liu 2010). No entanto, devemos considerar que a criação de joaninhas em laboratório requer uso de presas naturais e considerável espaço físico, quando comparada a outras espécies que podem ser criadas em dietas artificiais ou alimento natural e mantidas em grandes grupos por recipiente de criação, sem reduzir o desempenho da espécie. Vale ressaltar que o número de adultos de *E. connexa* testados corresponde ao que foi utilizado por Sayyed *et al.* (2010) ao estudar a herdabilidade da resistência de *C. carnea* a diferentes piretróides, inclusive ao lambda-cialotrina. De modo geral, as seleções podem ter contribuído para reduzir a variabilidade da população com uma resposta menos acentuada à seleção.

Considerando a razão de resistência em espécies-praga que podem variar em fator de centenas de vezes (Croft & Morse 1979, Croft & Theiling 1990), a razão de resistência determinada para a população de joaninha neste estudo, bem como a seleção para a resistência após 10 gerações de seleção é relativamente baixa. No entanto, vale salientar que a razão obtida de 21,9 vezes com o lambda-cialotrina puro sugere que *E. connexa* sobreviverá às aplicações do inseticida quando este for utilizado para o controle de outros insetos-praga empregando o produto comercial nas respectivas dosagens recomendadas. As DL_{50} s (mg/mL) estimadas para as populações de *E. connexa* coletadas de campo e selecionada (1,45 e 2,22 mg/mL) são 7,3 e 11,1 vezes superior à recomendação do lambda-cialotrina para pulverizar campos de algodoeiro (400 mL do produto comercial/ha em 100 L de calda; 0,2 mg de ia. Lambda-cialotrina/mL). Além disso, as doses recomendadas do inseticida devem controlar a praga-alvo em cerca de 90%, independente da densidade populacional (Knipling 1979). Desta forma, a tolerância diferencial entre a praga e o inimigo natural não precisa ser de grande valor numérico, mas sim o suficiente

para garantir a sobrevivência do inimigo natural. Estudos em gaiolas em campo comprovam esta hipótese, pois cerca de 80% dos adultos de *E. connexa* provenientes da população resistente selecionada, confinados por 24h em plantas pulverizadas com lambda-cialotrina na dose recomendada ou até 5x esta dose apresentaram sobrevivência similar àquelas confinadas em plantas não pulverizadas, enquanto que uma das pragas mais importantes do algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae), e a população suscetível de *E. connexa* exibiram somente 20 e 0% de sobrevivência, respectivamente (A.F. Spíndola, dados não publicados). Indivíduos de *E. connexa* caracterizados como resistentes neste estudo foram coletados em plantios convencionais de couve onde um amplo número de espécies podem ser expostos à pulverização de inseticidas, tal como a aplicação de lambda-cialotrina para o controle da traça-das-crucíferas. Estes registros de uso de inseticidas para controle de pragas são utilizados para explicar a seleção para resistência em campo (Keiding 1986). Além disso, os resultados obtidos neste estudo abrem novas opções para a utilização do lambda-cialotrina e a jaoninha *E. connexa* em programas de manejo integrado de pragas. Também, estes resultados sugerem seleção para resistência em campo ao lambda-cialotrina e que a seleção em condições de laboratório pode aumentar os níveis de resistência, fato desejável para a manutenção das espécies benéficas nos campos de produção.

As DL_{50s} estimadas para as progênes F_1 não foram significativamente diferentes entre si e entre a população resistente Ec-Vi, demonstrando que a resistência em *E. connexa* ao inseticida lambda-cialotrina é autossomicamente herdada e incompletamente dominante. Este padrão de herança tem sido observado para outras espécies de insetos de diferentes grupos quando tratados com inseticidas piretróides, tais como, *Culex pipiens quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae) (Hardstone *et al.* 2007), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (Balasubramani *et al.*

2008), *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) (Bielza *et al.* 2008), *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) (Cardozo *et al.* 2010) e *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) (Sayyed *et al.* 2010).

Apesar da resistência em *E. connexa* ser caracterizada como incompletamente dominante, a dominância não representa uma propriedade intrínseca de um alelo (Sved & Mayo 1970), visto que a sua expressão pode ser variável em função da dose utilizada (Bourguet *et al.* 2000). Outros estudos têm mostrado que a resistência pode variar de funcionalmente dominante a recessiva, quando utilizadas diferentes doses de inseticidas, apresentando padrão semelhante ao observado no presente estudo (Liu & Tabashnik 1997, Sayyed *et al.* 2000, Zhao *et al.* 2000, Alves *et al.* 2006, Sayyed *et al.* 2008, Shad *et al.* 2010).

Os resultados do teste direto indicam que a hipótese do modelo monogênico de herança pode ser aceita em 87,5% das doses testadas. Segundo Tabashnik (1991), altas e baixas doses, bem como doses próximas a DL_{50} da população retrocruzada não podem ser consideradas indicativas do número de genes, uma vez que estas possuem pouco efeito em discriminar entre os modelos de herança monogênicos e poligênicos, mesmo quando utilizando um considerável número de amostras. Outros parâmetros também foram considerados com intuito de inferir acerca dos modelos monogênicos e poligênicos de herança. Foram estimados no mínimo três genes contribuindo para a resistência em *E. connexa* e não foi observada redução significativa da estimativa da inclinação da reta para a população do retrocruzamento em comparação à população suscetível e a progênie F_1 . Estes resultados não sugerem aumento da variação genética e herança monogênica.

A população de *E. connexa* resistente foi selecionada previamente durante 10 gerações em laboratório. Sabe-se que seleções em laboratório produzem, em geral, resistência poligênica

(Oppenorth 1984). Isto porque os alelos que conferem resistência podem estar em baixa frequência na população de campo ou sua seleção pode ser influenciado pelo número de indivíduos utilizados a cada geração, fato que favorece a seleção de genes secundários. Segundo Roush & McKenzie (1987), seleções em laboratórios são realizadas com o intuito de permitir indivíduos sobreviventes a cada geração. Assim, tais seleções podem permitir o acúmulo de muitos genes com pequeno efeito, resultando em resistência poligênica. Seleções que geram modelos monogênicos de herança são mais prováveis para populações que têm sido previamente expostas a um específico grupo de inseticida ou que apresente resistência cruzada, e assim, sendo selecionadas em campo (Roush & Plapp 1982). Os resultados obtidos indicam que pode existir um gene principal conferindo resistência em *E. connexa*, entretanto pode ter ocorrido acúmulo de genes secundários após as seleções realizadas em laboratório, como descrito por Roush & McKenzie (1987).

A documentação de casos de resistência em inimigos naturais é ainda incipiente, principalmente, considerando os coccinelídeos. Anteriormente à identificação desta população, o registro de resistência em joaninhas predadoras ocorreu nas décadas de 70, com *C. maculata*. Nesta situação, as razões de resistência foram de 11,2 vezes quando utilizado a parationa metílica (Head *et al.* 1977) e, 14,6; 28,9; e 12 vezes com os inseticidas DDT, parationa metílica e monocrotofós, respectivamente (Graves *et al.* 1978). Recentemente, Kumral *et al.* (2011) relataram *S. gilvifrons* resistente ao bifentrin ($RR_{50} = 10,9$). Contudo, a caracterização da resistência não foi realizada como apresentada neste estudo. A partir da verificação de resistência em *E. connexa* e da caracterização da herança, estudos visando identificar o mecanismo de resistência, a ocorrência de resistência cruzada, a presença de custo adaptativo, a avaliação do potencial reprodutivo, ou mesmo a resposta comportamental em áreas tratadas podem ser

realizados para melhor entendimento do processo e, assim, poder explorar o potencial desta população nos programas de manejo integrado de pragas.

Com base nos resultados de 10 seleções progressivas, a herdabilidade da resistência ao lambda-cialotrina em *E. connexa* é baixa apesar dos níveis significativos de resistência detectados em campo. A resistência em *E. connexa* é autossomal e incompletamente dominante quando utilizado o inseticida lambda-cialotrina. O modo de herança mostra ser associada a um gene principal com influencia de genes secundários. Além disso, a resistência varia de funcionalmente recessiva a dominante a depender da dose utilizada. Segundo Sayyed *et al.* (2010), *C. carnea* foi o primeiro inimigo natural que apresentou resistência do tipo incompletamente dominante quando utilizada a deltametrina. Para estes autores, a presença de genótipos heterozigotos pode reduzir o custo adaptativo da resistência e, assim, contribuir para a manutenção da resistência na população. Vale ressaltar que *E. connexa* e *C. carnea* são importantes agentes de controle biológico de pulgões. Desta forma, populações resistentes podem ser utilizadas como uma ferramenta adicional no manejo integrado de pragas, principalmente quando inseticidas pouco seletivos são necessários para o controle de pragas não-alvo destes grupos de inimigos naturais.

Agradecimentos

À FACEPE (IBPG-0168-5.01/08), CNPq (Edital Universal Proc. 473211/2009-2) e à CAPES (BEX 7095-10-4) pelo financiamento a pesquisa mediante recursos e bolsas de estudos e pesquisa aos autores.

Literatura Citada

- Alves, A.P., T.A. Spencer, B.E. Tabashnik & B.D. Siegfried. 2006.** Inheritance of resistance to the Cry1Ab *Bacillus thuringiensis* toxin in *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). J. Econ. Entomol. 99: 494-501.
- Balasubramani, V., A.H. Sayyed & N. Crickmore. 2008.** Genetic characterization of resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from India. J. Econ. Entomol. 101: 1911-1918.
- Bielza, P., V. Quinto, E. Fernández, C. Grávalos, J. Abellán & D. Cifuentes. 2008.** Inheritance of resistance to acrinathrin in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). Pest Manag. Sci. 64: 584-588.
- Bourguet, D., A. Genissel & M. Raymond. 2000.** Insecticide resistance and dominance levels. J. Econ. Entomol. 93: 1588-1595.
- BRASIL. 2012.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. AGROFIT: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 01/03/2012.
- Cardozo, R.M., F. Panzera, A.G. Gentile, M.A. Segura, R. Pérez, R.A. Díaz, M.A. Basombrío. 2010.** Inheritance of resistance to pyrethroids in *Triatoma infestans*, the main Chagas disease vector in South America. Infect. Genet. Evol. 10: 1174-1178.
- Cosme, L.V., G.A. Carvalho & A.P. Moura. 2007.** Efeitos de inseticidas botânico e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em laboratório. Arq. Inst. Biol. 74: 251-258.
- Croft, B.A. & J.G. Morse. 1979.** Recent advances in natural enemy-pesticide research. Entomophaga 24: 3-11.
- Croft, B.A. & K.M. Theiling. 1990.** Pesticide effects on natural enemies: a database summary, p. 17-46. In B.A. Croft (ed.), Arthropod biological control agents and pesticides. New York, John Wiley & Sons, 723p.
- Croft, B.A. 1990.** Pesticide resistance: documentation, p. 357-381. In B.A. Croft (ed.), Arthropod biological control agents and pesticides. New York, John Wiley & Sons, 723p.
- Elliott, M. & N.F. Janes. 1978.** Synthetic pyrethroids – a new class of insecticide. Chem. Soc. Rev. 7: 473-505.
- Falconer, D.S. 1989.** Introduction to quantitative genetics, 3ed., London, Longman, 438p.
- Finney, D.J. 1971.** Probit analysis. London, Cambridge University Press, 333p.

- Georghiou, G.P. 1972.** The evolution of resistance to pesticides. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 3: 133-168.
- Graves, J.B., R.B. Mohamad & D.F. Clower. 1978.** Beneficial insects also developing “resistance”. *LA. Agric.* 22: 10-11.
- Gusmão, M.R., M. Picanço, G.L.D. Leite & M.F. Moura. 2000.** Seletividade de inseticidas a predadores de pulgões. *Hortic. Bras.* 18: 130-133.
- Gyenge, J.E., J.D. Edelman & C.E. Salto. 1998.** Efectos de la temperatura y la dieta en la biología de *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae). *An. Soc. Entomol. Bras.* 27: 345-356.
- Hardstone, M.C, C. Leichter, L.C. Harrington, S. Kasai, T. Tomita & J.G. Scott. 2007.** Cytochrome P450 monooxygenase-mediated permethrin resistance confers limited and larval specific cross-resistance in the southern house mosquito, *Culex pipiens quinquefasciatus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 89:175-184.
- He, L., X. Gao, J. Wang, Z. Zhao & N. Liu. 2009.** Genetic analysis of abamectin resistance in *Tetranychus cinnabarinus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 95: 147-151.
- Head, R., W.W. Neel, C.R. Sartor & H. Chambers. 1977.** Methyl parathion and carbaryl resistance in *Chrysomela scripta* and *Coleomegilla maculata*. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.* 17: 163-164.
- Hoy, M.A. 1990.** Pesticide resistance in arthropod natural enemies: variability and selection, p. 203-236. In R.T. Roush & B.E. Tabashnik (eds.), *Pesticide resistance in arthropods*. New York, Chapman & Hall, 303p.
- Hull, L.A. & V.R. Starner. 1983.** Impact of four synthetic pyrethroids on major natural enemies and pests of apple in Pennsylvania. *J. Econ. Entomol.* 76: 122-130.
- Keiding, J. 1986.** Prediction or resistance risk assessment, p. 279-297. In National Research Council. *Pesticide resistance: strategies and tactics for management*. Washington, D.C., National Academy Press, 472p.
- Knipling, E.F. 1979.** The basic principles of insect population suppression and management. p. 577-623. In USDA (ed.), *Agriculture Handbook n. 512*. Washington, D.C., USDA, 659p.
- Kumral, N.A., N.S. Gencer, H. Susurluk & C. Yalcin. 2011.** A comparative evaluation of the susceptibility to insecticides and detoxifying enzyme activities in *Stethorus gilvifrons* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Panonychus ulmi* (Acarina: Tetranychidae). *Int. J. Acarol.* 37: 255-268.

- Lande, R. 1981.** The minimum number of genes contributing to quantitative variation between and within populations. *Genetics* 99: 541-553.
- Landis, D.A., S.D. Wratten & G.M. Gurr. 2000.** Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annu. Rev. Entomol.* 45: 175-201.
- Lehmann, E. L. 1966.** Testing statistical hypotheses. New York, Wiley, 369p.
- Leite, M.L.S., G.A. Carvalho, J.B. Maia, L. Makiyama & M. Vilela. 2010.** Ação residual de inseticidas para larvas e adultos do predador *Cycloneda sanguinea* Linnaeus, 1763 (Coleoptera: coccinellidae). *Arq. Inst. Biol.* 77: 275-282.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit-Logit analysis. Berkely, Leora Software.
- Li, T. & N. Liu. 2010.** Inheritance of permethrin resistance in *Culex quinquefasciatus*. *J. Econ. Entomol.* 47: 1127-1134.
- Liu, Y-B & B.E. Tabashnik. 1997.** Inheritance of Resistance to the *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry1C in the diamondback moth. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2218-2223.
- Michaud, J.P. 2002.** Relative toxicity of six insecticides to *Cycloneda sanguinea* and *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *J. Entomol. Sci.* 37: 83-93.
- Oppenoorth, F.J. 1984.** Biochemistry of insecticide resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.* 22: 187-193.
- Pasqualini, E. & C. Malavolta. 1985.** Possibility of natural limitation of *Panonychus ulmi* (Koch) (Acarina: Tetranychidae) on apple in Emilia-Romagna. *Boll. Ist. Entomol. "Guido Grandi" Stud. Bologna* 39: 221-230.
- Pathan, A.K., A.H. Sayyed, M. Aslam, M. Razaq, G. Jilani & M.A. Saleem. 2008.** Evidence of field-evolved resistance to organophosphates and pyrethroids in *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), *J. Econ. Entomol.* 101: 1676-1684.
- Pathan, A.K., A.H. Sayyed, M. Aslam, T.-X. Liu, M. Razzaq & W.A. Gillani. 2010.** Resistance to pyrethroids and organophosphates increased fitness and predation potential of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol.* 103: 823-834.
- Plapp, F.W. & D. L. Bull. 1978.** Toxicity and selectivity of some insecticides to *Chrysopa carnea*, a predator of the tobacco budworm. *Environ. Entomol.* 7: 431-434.
- Poletti, M. & C. Omoto. 2003.** Resistência de inimigos naturais a inseticidas. *Rev. Biotecnol. Cienc. Desenvol.* 16-26.

- Preisler, H.K., M.A. Hoy & J.L. Robertson. 1990.** Statistical analysis of modes of inheritance for pesticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 83: 1649-1655.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. 1ed. Boca Raton, CRC Press, 127p.
- Roush, R.T. & F.W. Plapp. 1982.** Biochemical genetics of resistance to aryl carbamate insecticides in the predaceous mite, *Metaseiulus occidentalis*. *J. Econ. Entomol.* 75: 304-307.
- Roush, R.T. & J.A. McKenzie. 1987.** Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 361-380.
- Ruberson, J.R. & P.G. Tillman. 1999.** Effect of selected insecticides on natural enemies in cotton: a laboratory study. *Proc. Beltwide Cotton Conf.* 2: 1210-1213.
- Ruberson, J.R., P. Roberts & J.P. Michaud. 2007.** Pyrethroid resistance in Georgia populations of the predator *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae). *Proc. Beltwide Cotton Conf.* 1: 361-365.
- Sayyed, A.H., A.K. Pathan & U. Faheem. 2010.** Cross-resistance, genetics and stability of resistance to deltamethrin in a population of *Chrysoperla carnea* from Multan, Pakistan. *Pestic. Biochem. Physiol.* 98: 325-332.
- Sayyed, A.H., R. Haward, S. Herrero, J. Ferré & D.J. Wright. 2000.** Genetic and biochemical approach for characterization of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in a field population of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1509-1516.
- Sayyed, A.H., S. Saeed, M. Noor-Ul-Ane & N. Crickmore. 2008.** Genetic, biochemical, and physiological characterization of spinosad resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 101: 1658-66.
- Shad, S.A., A.H Sayyed & M. A. Saleem. 2010.** Cross-resistance, mode of inheritance and stability of resistance to emamectin in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag. Sci.* 2010; 66: 839-846.
- Sokal, R. & F. Rohlf. 1981.** Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. San Francisco, W.H. Freeman, 859p.
- Stone, B.F. 1968.** A formula for determining the degree of dominance in cases of monofactorial inheritance of resistance to chemicals. *Bull. W.H.O.* 38: 325-326.
- Sved, J.A. & O. Mayo. 1970.** The evolution of dominance, p. 289-316. In K.-I. Kojima (ed.), *Mathematical topics in population genetics*. Berlin, Springer, 400p.

- Tabashink, B.E. & M.W. Johnson. 1999.** Evolution of pesticide resistance in natural enemies, p. 673-698. In T.S. Bellows & T.W. Fisher (eds.), Handbook of biological control. New York, Academic Press, 1046p.
- Tabashnik, B.E. 1991.** Determining the mode of inheritance of pesticide resistance with backcross experiments. J. Econ. Entomol. 81: 703-712.
- Theiling, K.M. & B.A. Croft. 1988.** Pesticide side-effects on arthropod natural enemies: A database summary. Agric. Ecosyst. Environ. 21: 191-218.
- Tillman, P.G. & J. E. Mulrooney. 2000.** Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. J. Econ. Entomol. 93: 1638-1643.
- Torres, J.B., F.S. Freitas & D. Pratissoli. 1995.** Avaliação de diferentes porcentagens da mistura de farinha de milho com farinha de trigo integral e levedura-de-cerveja na criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879). Rev Ciência e Prática 19: 365-368.
- Torres, J. B. & J. R. Ruberson. 2005.** Lady beetle species shift in Bt and non-Bt cotton fields. Proc. Beltwide Cotton Conf. 1: 1630-1638.
- Whalon, M.E., D. Mota-Sanchez, R.M. Hollingworth & L. Duynslager. 2011.** Arthropod pesticide resistance database. Disponível em <<http://www.pesticideresistance.org/search/1>>, acessado em 14/06/2011.
- Zhao, J.-Z., H.L. Collins, J.D. Tang, J. Cao, E.D. Earle, R.T. Roush, S. Herrero, B. Escriche, J. Ferré & A.M. Shelton. 2000.** Development and characterization of diamondback moth resistance to transgenic broccoli expressing high levels of Cry1C. Appl. Environ. Microbiol. 66: 3784-3789.

Tabela 1. Parâmetros e estimativa da herdabilidade realizada (h^2) do lambda-cialotrina em *Eriopsis connexa* e número de gerações (G) para aumentar a resistência em 10 vezes com base na DL_{50} inicial.

Parâmetros		Gerações F1-F12
Estimativa da resposta	Log_{10} (DL_{50} inicial)	0,1629
	Log_{10} (DL_{50} final)	0,3463
	Resposta a seleção (R)	0,018
Estimativa da seleção diferencial	Sobrevivência após seleção (S)	57,8%
	Intensidade de seleção(I) ³	2,91
	Inclinação inicial \pm EP	2,35 \pm 0,35
	Inclinação final \pm EP	5,98 \pm 1,45
	Desvio padrão do fenótipo (σ)	0,24
	Seleção diferencial (S)	0,70
	h^2	0,03
	G	54,51

³Segundo Falconer (1989).

Tabela 2. Toxicidade do lambda-cialotrina para populações suscetível, resistente, dos cruzamentos recíprocos F₁ (♂ S x ♀ R) e (♂ R x ♀ S) e do retrocruzamento (F₁ agrupado x S) de *Eriopsis connexa*. Nota = n, número de adultos testados; GL, grau de liberdade; EP, erro padrão; e χ^2 , teste de qui-quadrado.

População/ Progênie ¹	n	GL	Inclinação ±EP	DL ₅₀ (IC _{95%}) ²	RR ₅₀ (IC _{95%}) ³	DD _{50±EP} ⁶	DL ₉₀ (IC _{95%}) ²	RR ₉₀ (IC _{95%}) ³	DD _{90±EP} ⁴	χ^2
Ec-FM (S)	209	5	2,08 ± 0,28	0,009 (0,008-0,013)	-	-	0,040 (0,027-0,075)	-	-	2,16
Ec-Vi (R)	194	5	3,71 ± 0,45	0,213 (0,177-0,258)	21,87 (15,94-30,01)	-	0,473 (0,376-0,653)	11,74 (6,75-20,45)	-	3,57
♂S x ♀R	160	3	2,94 ± 0,47	0,117 (0,091-0,145)	12,01 (8,54-16,87)	0,61 ± 0,09	0,319 (0,243-0,505)	7,95 (4,39-14,40)	1,11 ± 0,17	0,42
♂R ♀S	156	3	2,50 ± 0,36	0,166 (0,129-0,209)	17,03 (12,01-24,14)	0,84 ± 0,09	0,542 (0,399-0,881)	13,47 (7,29-24,90)	0,68 ± 0,19	0,53
F ₁ agrupado	316	3	2,59 ± 0,27	0,139 (0,116-0,163)	14,26 (10,50-19,38)	0,72 ± 0,08	0,434 (0,349-0,589)	10,80 (6,23-18,70)	0,93 ± 0,15	0,30
F ₁ agrupado x S	201	6	2,10 ± 0,25	0,038 (0,028-0,053)	3,95 (2,50-6,24)	-	0,156 (0,105-0,276)	3,90 (1,84-8,28)	-	4,22

¹Progênes resultantes dos cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos; ²DL - dose (mg de i.a. lambda-cialotrina/mL) que produz mortalidade; ³Razão de resistência, calculada através do método de Robertson & Preisler (1992) e intervalo de confiança a 95% das estimativas da DL₅₀ e DL₉₀; ⁴Grau de dominância.

Tabela 3. Teste direto para herança monogênica da resistência ao lambda-cialotrina em *Eriopsis connexa*, comparando as mortalidades esperadas e observadas do retrocruzamento (F₁ agrupado x Ec-FM).

Doses (mg/mL)	Mortalidade Observada (%)	Mortalidade Esperada (%) ¹	χ^2
0,0010	0,0	0,0	-
0,0050	4,5	10,0	0,73 ^{ns}
0,0075	4,3	22,9	4,44*
0,0100	18,2	26,0	0,69 ^{ns}
0,0500	47,8	53,7	0,32 ^{ns}
0,1000	78,3	68,2	1,08 ^{ns}
0,2500	100,0	88,2	3,08 ^{ns}
0,5000	100,0	98,2	0,43 ^{ns}
Total	-	-	10,77 ^{ns}

¹Mortalidade esperada na dose x = 0,5 (% mortalidade de F₁ agrupado em x + % mortalidade de Ec-FM em x).

^{ns}Não significativo e *significativo a 5% de probabilidade com base no teste de qui-quadrado.

Tabela 4. Dominância efetiva para populações susceptível (Ec-FM) e resistente (Ec-Vi) e progênie F1 agrupado em *Eriopis connexa* sobreviventes quando submetidas ao tratamento com diferentes doses do lambda-cialotrina.

Dose (mg/mL)	População/ Progênie ¹	n	Mortalidade (%)	Desempenho ²	h^3
0,01	Ec-FM	25	52,0	0,48	1
	Ec-Vi	26	0	1	
	F ₁ agrupado ¹	51	0	1	
0,05	Ec-FM	25	92,0	0,08	0,83
	Ec-Vi	26	0	1	
	F ₁ agrupado	52	15,4	0,85	
0,10	Ec-FM	25	100	0	0,64
	Ec-Vi	26	15,4	1	
	F ₁ agrupado	55	36,4	0,64	
0,50	Ec-FM	25	100	0	0,07
	Ec-Vi	26	96,1	1	
	F ₁ agrupado	53	92,4	0,07	

¹Ec-FM e Ec-VI são as populações suscetível e resistente, respectivamente; e F₁ agrupado corresponde à soma dos indivíduos híbridos provenientes dos cruzamentos recíprocos entre as populações parentais.

²Desempenho corresponde a taxa de sobreviventes entre as populações suscetível (Ec-FM) e F₁ agrupado, e a população resistente (Ec-VI).

³Os valores de h variam entre 0 (recessividade completa) e 1 (dominância completa). Se os valor de h corresponde a 0,5 (co-dominante ou aditivo) ou está entre $0 < h < 0,5$ (recessividade incompleta) e $0,5 < h < 1$ (dominância incompleta).

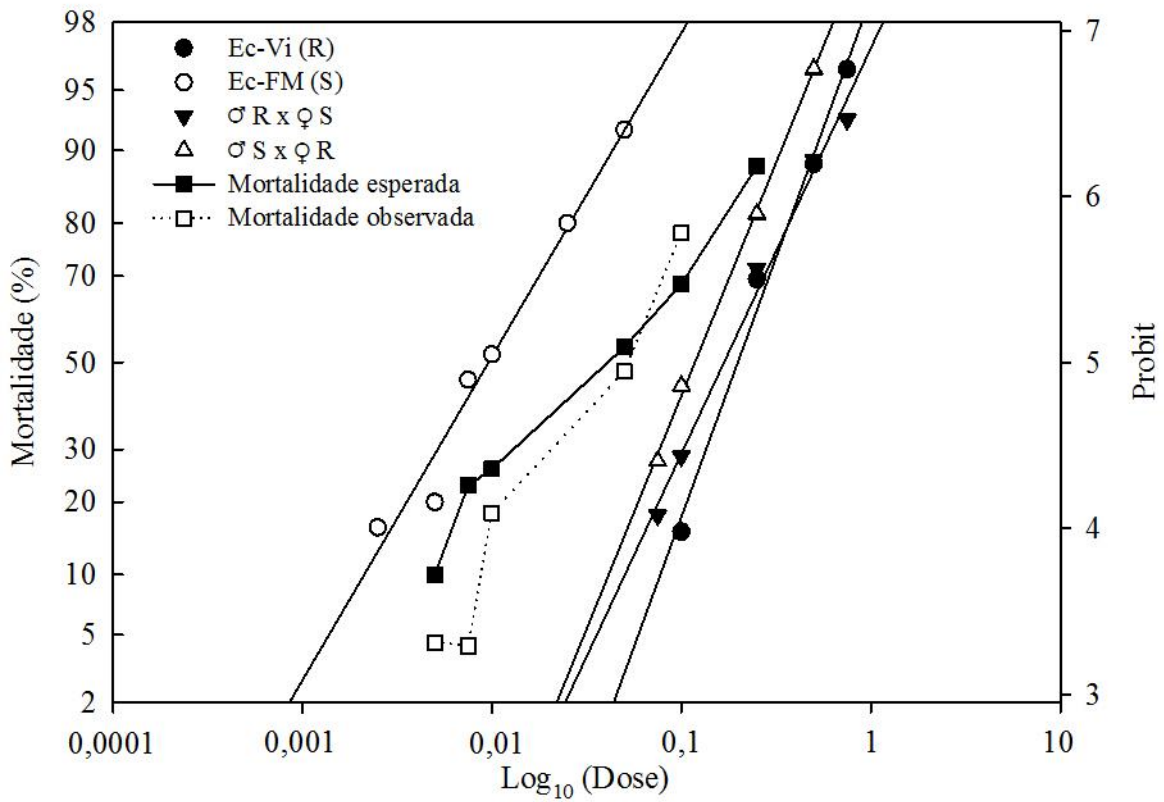


Figura 1. Curvas de dose-mortalidade para as populações de *Eriopsis connexa* resistente (Ec-Vi), suscetível (Ec-FM) e progênie de F₁ ($\sigma R \times \phi S$ e $\sigma S \times \phi R$), bem como as mortalidades esperadas e observadas no retrocruzamento (F₁ agrupado x S) quando submetidas ao lambda-cialotrina.

CAPÍTULO 4

RESISTÊNCIA DE *Eriopsis connexa* (GERMAR) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) AO LAMBDA-CIALOTRINA É MEDIADA POR ESTERASES¹

AGNA R.S. RODRIGUES², HERBERT A.A. SIQUEIRA², DANIEL P.A. LACERDA² E JORGE B. TORRES²

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua
Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos 52171-900 Recife, PE, Brasil.

¹Rodrigues, A.R.S., H.A.A. Siqueira, D.P.A. Lacerda & J.B. Torres. Resistência de *Eriopsis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) ao lambda-cialotrina é mediada por esterases. A ser submetido.

RESUMO – A joaninha *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) tem sido considerada como resistente ao lambda-cialotrina em níveis consideráveis para um inimigo natural. No entanto, os mecanismos que governam esta resistência ainda não foram elucidados. Assim, a resistência de *E. connexa* foi estudada quanto ao metabolismo do lambda-cialotrina através de curvas dose-resposta com os sinergistas butóxido de piperonila (PBO), dietil maleato (DEM) e o trifenil fosfato (TPP) associado ao inseticida e pela medição da atividade enzimática *in vitro*. As DL_{50s} calculadas para a população suscetível e resistente foram 0,009 e 0,213 mg de i.a. de lambda-cialotrina/mL em grau técnico, demonstrando uma razão de resistência de 21,87 vezes. As razões de sinergismo calculadas para a população suscetível foram 33,8; 0,24 e 0,35 vezes para o PBO, DEM e TPP, respectivamente, enquanto que para a população resistente, foram 1.462,85; 0,79 e 0,85 vezes. As razões de resistência sinergizada calculada quando utilizado PBO, DEM e TPP foram 0,50; 6,75 e 8,77 vezes, respectivamente. Também, foi observada alta atividade de esterases na população resistente comparada com a suscetível, tanto para medições em solução quanto em gel de eletroforese. Embora muitos estudos com PBO demonstrem forte inibição de enzimas monooxigenases de função mistas (MFOs) associando-as com a resistência a inseticidas, os resultados sugerem, no entanto, que o metabolismo através de hidrolases pode ser o principal mecanismo que confere resistência em *E. connexa* ao lambda-cialotrina e que o butóxido de piperonila também atua inibindo esterases de insetos.

PALAVRAS-CHAVE: Joaninha predadora, piretróide, mecanismo de resistência, sinergista

ESTERASE-MEDIATED RESISTANCE OF *Eriopis connexa* (GERMAR) (COLEOPTERA:
COCCINELLIDAE) TO LAMBDA-CYHALOTHRIN

ABSTRACT – The lady beetle *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) exhibited resistance to lambda-cyhalothrin in significant levels for a natural enemy. However, the mechanisms that govern this resistance have not been elucidated yet. Thus, the resistance of *E. connexa* was studied in relation to the metabolism of lambda-cyhalothrin using dose-response curves with the synergist piperonyl butoxide (PBO), diethyl maleate (DEM) and triphenyl phosphate (TPP) associated with the insecticide and by measuring enzymatic activity in vitro. The DL50s estimated for susceptible and resistant populations of the beetle were 0.009 and 0.213 mg ai of lambda-cyhalothrin/mL in technical grade, demonstrating a resistance ratio of 21.87-fold. Synergism ratios calculated for the susceptible population were 33.8, 0.24 and 0.35 times for the PBO, DEM and TPP, respectively. Sinergism ratios for the resistant population were 1,462.85, 0.79 and 0, 85 times. The resistance ratios calculated synergized when used PBO, DEM and TPP were 0.50, 6.75 and 8.77 times respectively. High activity of esterases was observed in the resistant population compared with the susceptible population as measured through activity assay and native gel of electrophoresis. Although many studies with PBO demonstrate strong inhibition of mixed function oxidases enzymes (MFOs) associated with insecticide resistance, the results here suggest that metabolism by hydrolases may be the main mechanism that confers resistance in *E. connexa* to lambda-cyhalothrin and that piperonyl butoxide may also act by inhibiting esterases of insects.

KEY WORDS: Predatory lady beetle, pyrethroid, resistance mechanism, synergist

Introdução

A resistência de artrópodes a xenobióticos, aleloquímicos produzidos por plantas ou produtos sintéticos, tem sido predominantemente explicada pela insensibilidade do sítio-alvo e alteração qualitativa ou quantitativa do metabolismo (Li *et al.* 2007). Sabe-se que a insensibilidade do sítio-alvo pode produzir resistência cruzada a grupos químicos que apresentam modo de ação relacionado (Bregues *et al.* 2003). Entretanto, o metabolismo pode atuar na destoxificação de diferentes classes de inseticidas e/ou acaricidas (Khot *et al.* 2008). Isto porque a participação de sistemas enzimáticos, tais como as monooxigenases de função mista (MFO) (ex., Citocromo P450), esterases e glutathione-S-transferase (GST) podem utilizar como substratos produtos sintéticos de diferentes grupos químicos (Plapp Jr & Wang 1983).

Uma das formas de se avaliar a participação do metabolismo como mecanismo de resistência é a associação de produtos sinergistas ao inseticida utilizado (Scott 1991). Assim, o uso de sinergistas é citado como ferramenta importante no manejo da resistência (Raffa & Priester 1985), uma vez que estes produtos apresentam potencial de aumentar a toxicidade de inseticidas, apesar de sinergistas serem usualmente não tóxicos (Matsumura 1985). Dentre os sinergistas comumente utilizados, o butóxido de piperonila (PBO), o dimetil maleato (DEM) e o trifenil fosfato (TPP) são relacionados à inibição dos sistemas enzimáticos compostos por monooxigenases de função mista, glutathione-S-transferase e esterases, respectivamente (Scott 1991). Apesar disso, sinergistas não podem ser indicados como inibidores exclusivos de um sistema enzimático. Isto porque já foi demonstrado que o PBO desempenha papel fundamental na inibição de enzimas que não fazem parte do sistema MFO (ex., esterases) (Gunning *et al.* 1998, Young *et al.* 2005).

O menor número de casos de ocorrência de resistência em inimigos naturais tem sido explicado pela maior capacidade de artrópodes-pragas em destoxificar compostos secundários produzidos pelas plantas e, conseqüentemente, inseticidas e/ou acaricidas quando comparados aos inimigos naturais (Croft & Morse 1979). Isto porque a co-evolução de plantas e artrópodes herbívoros pode resultar na produção diferenciada de enzimas que atuam no metabolismo dos compostos de defesa das plantas (Plapp Jr & Bull 1978). Entretanto, tem sido observado que sistemas enzimáticos que atuam na destoxificação de xenobióticos também participam da produção de compostos necessários a manutenção de processos vitais (Scott 1991), tais como o hormônio juvenil (Hammock 1975) e ecdisônio (Kappler *et al.* 1988). E, assim, inimigos naturais podem também desenvolver resistência utilizando para isso o seu sistema metabólico.

O amplo espectro de ação de inseticidas piretróides (Elliott & Janes 1978) e a sua frequente utilização em diferentes agroecossistemas para controle de desfolhadores, pragas não-alvo de joaninhas, tem produzido efeitos deletérios sobre este grupo de inimigos naturais (Ruberson & Tillman 1999, Galvan *et al.* 2005, Cosme *et al.* 2007, Rocha *et al.* 2010), principalmente toxicidade aguda (Ruberson *et al.* 1998). Como exemplo de inseticida piretróide pouco seletivo a inimigos naturais, o lambda-cialotrina (Tillman & Mulrooney 2000) tem sido amplamente utilizado em grandes culturas para controle de pragas (BRASIL 2012). Este inseticida é registrado no Brasil e em diversos países para uso em culturas, nas quais a presença de joaninhas é importante para o controle de pragas não-alvo deste inseticida. Um exemplo é a joaninha *Eriopsis connexa* Germar (Coleoptera: Coccinellidae). *E. connexa* é uma espécie neotropical, considerada importante predadora de pragas em diversas culturas agrícolas (Gyenge *et al.* 1998). Recentemente, populações de campo desta espécie têm apresentado variações quanto à suscetibilidade ao inseticida lambda-cialotrina, e razões de resistência superiores a 20 vezes têm

sido observadas. No entanto, as bases que expliquem esta resistência não estão esclarecidas. Uma hipótese é que enzimas destoxicativas possam metabolizar o lambda-cialotrina e assim os indivíduos de *E. connexa* que apresentam tal alteração sobrevivam a doses superiores do inseticida. Desta forma, a alteração da atividade metabólica foi avaliada através do uso de inibidores enzimáticos (sinergistas) e ensaios bioquímicos *in vitro* em indivíduos da população resistente e suscetível de *E. connexa*.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico e Ecologia de Insetos e Laboratório de Interações Insetos-Tóxicos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), sob $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12h de fotofase. Para alimentar larvas e adultos de *E. connexa* foram utilizados ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) produzidos no laboratório seguindo a metodologia de Torres *et al.* (1995).

Materiais. O inseticida lambda-cialotrina (99,5%, Chem Service, West Chester, PA, EUA) e os sinergistas dimetil maleato (DEM - 99%, Sigma, Milwaukee, WI, EUA), trifetil fosfato (TPP - 93%, Sigma, Milwaukee, WI, EUA) e o butóxido de piperonila (PBO - 90%, Sigma, Milwaukee, WI, EUA) em grau técnico foram adquiridos em mercado especializado e dissolvidos e/ou diluídos em acetona. Os reagentes e solventes utilizados nos ensaios enzimáticos e gel de eletroforese nativo foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, EUA), com exceção para o kit de análise de proteínas o qual foi adquirido da Pierce Chemical Co. (Rockford, IL, EUA).

Obtenção das Populações de *E. connexa* Suscetível e Resistente. As populações de *E. connexa* foram coletadas em cultivo de algodoeiro no município de Frei Miguelinho, PE, à $07^\circ 55' 90,1''$ S e $35^\circ 51' 45,6''$ W, em julho de 2009 e em cultivo de brássicas no município de Viçosa, MG, à 20°

45° S e 42° 51' W, em dezembro de 2008. A partir de aplicações tópicas, estas populações tiveram as DL_{50s} estimadas nas gerações F₂ e F₁, respectivamente. Para tanto, o produto utilizado foi o formulado Karate Zeon 50 CS. A população suscetível foi, então, denominada Ec-FM, com DL₅₀ correspondente a 0,038 mg i.a./mL de lambda-cialotrina, e a população resistente, designada Ec-Vi, que apresentou DL₅₀ de 1,45 mg i.a./mL de lambda-cialotrina. A DL₅₀ de 1,45 mg i.a./mL corresponde 7,3 vezes a recomendação de campo do lambda-cialotrina para o controle de *Heliothis virescens* (F.) (Lep.: Noctuidae) na cultura do algodoeiro (400 mL do produto comercial/ha em 100 L de calda; 0,2 mg de i.a. lambda-cialotrina/mL) (BRASIL 2012). Nos experimentos visando avaliar o efeito de sinergistas na resistência de *E. connexa*, foram utilizados adultos oriundos da geração F₄ da população suscetível e F₁₀ da população resistente (mantida sob pressão de seleção no laboratório).

Criação das Populações de *E. connexa* Suscetível e Resistente. Cada população de *E. connexa* foi criada separadamente em laboratório com 200 a 300 indivíduos adultos por geração. Para a obtenção de posturas, adultos de cada população foram acondicionados em recipientes plásticos de 1L com tampa de tela feita com tecido *voil* para permitir a circulação de ar. Como substrato para posturas foram adicionados no interior dos recipientes pedaços de papel toalha. As posturas obtidas foram transferidas para recipientes plásticos de 500 mL. As larvas recém-eclodidas foram mantidas nestes recipientes até o segundo dia de idade, momento em que começavam a caminhar no interior dos recipientes. Três larvas foram transferidas e criadas em recipientes plásticos de 80 mL. No interior dos recipientes plásticos, pedaços de papel toalha foram adicionados, com o intuito de reduzir o risco de canibalismo entre as larvas. Desde a eclosão, ovos de *A. kuehniella* foram fornecidos como alimento em quantidades *ad libitum* de acordo com a idade das larvas.

Ensaio de Sinergismo do Lambda-cialotrina. Para a realização dos bioensaios, o inseticida lambda-cialotrina e os sinergistas em grau técnico foram dissolvidos e/ou diluídos em acetona. Inicialmente, foi conduzido um bioensaio visando determinar a dose a ser aplicada dos sinergistas que não ocasionasse mortalidade de adultos para ambas as populações. Assim, após os testes foi determinado que as doses a serem utilizadas fossem correspondentes a 0,05, 0,05 e 0,1 mg/mL de PBO, DEM e TPP, respectivamente. Em seguida, para cada população de *E. connexa*, foram conduzidos testes preliminares utilizando o sinergista na dose determinada adicionando o inseticida lambda-cialotrina em fator de 10, a partir da maior concentração recomendada para o controle de *H. virescens* na cultura do algodoeiro (0,2 mg i.a. lambda-cialotrina/mL ou 20 g i.a./ha), para determinar o intervalo de doses ocasionando 0 a 100% de mortalidade. Desta forma, foram determinadas no mínimo cinco doses de lambda-cialotrina. Nestes bioensaios, a testemunha foi tratada somente com o sinergista diluído em acetona.

O bioensaio foi realizado duas vezes para cada população de *E. connexa*. Em cada bioensaio, foram utilizados no mínimo 10 insetos adultos com 8 a 10 dias de idade por dose avaliada. A aplicação das doses, previamente determinadas, foi realizada com a deposição de 0,5µl da respectiva dose na parte ventral do abdome dos insetos, utilizando seringa de Hamilton 25µL. Após serem tratados, os insetos foram acondicionados em placas de Petri (12 x 1,5cm), forradas com papel de filtro. A umidade foi oferecida através de um chumaço de algodão embebido em mel a 10% e acondicionado no interior de recipientes de 10 mL, mais ovos de *A. kuehniella* oferecidos *ad libitum*. Em seguida, as placas de Petri contendo os insetos foram mantidas em câmaras climáticas tipo B.O.D., com temperatura regulada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h. Nos bioensaios, a mortalidade foi avaliada após 24h do tratamento, sendo considerados

indivíduos mortos os que não eram capazes de voltar à posição normal quando colocado de ventre para cima.

Extração de Amostras para Análise de Atividade Enzimática. Para cada população, foram obtidas três amostras, contendo 10 adultos de *E. connexa* com 8-10 dias de idade. Para atividade de esterases, os adultos de cada amostra foram dissecados e os abdomens foram homogeneizados utilizando 3 mL de tampão fosfato de sódio (0,02M, pH 7,0) em gelo. O homogeneizado obtido foi centrifugado a 10.000g por 15 min a 4°C e o sobrenadante preservado a -20°C em alíquotas até a determinação da atividade enzimática. Para glutationa-S-transferase, o processamento das amostras foi semelhante ao descrito para o ensaio de esterase, diferindo somente no tampão fosfato de sódio (0,1M, pH 7,5) e centrifugação a 15.000g por 15 min a 4°C. No ensaio para MFO, as amostras foram processadas e homogeneizadas em tampão fosfato (0,1 tampão fosfato de sódio M pH 7,8; 1 mM de EDTA; 1 mM de DTT; 1 mM de PTU e 1 mM de PMSF e glicerol a 20%) para determinação da atividade de MFO, conforme descrito por Rose *et al.* (1995). Inicialmente, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000g por 20 min a 4°C. O sobrenadante foi novamente centrifugado a 100.000g por 1 hora a 4°C. O precipitado (*Pellet*) foi re-suspendido em tampão fosfato, aliquotado para tubos eppendorfs e preservado a -80°C até uso posterior como fonte de enzimas microsossomais. A proteína total foi determinada através do método do ácido bicinconínico (Smith 1985) usando albumina de soro bovino (BSA) como padrão.

Atividade de Esterases Gerais. Para a quantificação da atividade de esterases, a metodologia utilizada foi adaptada de van Asperen *et al.* (1962). Soluções concentradas (250 mM) dos substratos α -naftil-acetato e β -naftil-acetato foram preparadas em acetona. As amostras foram analisadas em triplicata, sendo utilizados 10 μ L de cada amostra/população de *E. connexa* na diluição 1:10 a qual continha 1 μ g de proteínas totais, 2 μ L de 25 mM de α -naftil-acetato ou β -

naftil-acetato e 188 μL de tampão fosfato de sódio (0,02M, pH 7,0) por poço da placa de microtitulação. As amostras foram incubadas a 30°C por 15 minutos. A reação foi paralisada, utilizando 33,2 μL de FAST Blue B a 0,3% em 3,5% de SDS. A absorbância foi lida a 595 nm em leitora de microplaca (Elx800, BioTek®).

Atividade de Conjugação por GST. O substrato CDNB (1-cloro-2,4-dinitrobenzeno) foi utilizado para determinar a atividade de conjugação da glutathiona reduzida a este substrato sob influencia da enzima Glutathione-S-Transferase (formando 2,4-dinitrofenil S-glutathiona), conforme descrito por Habig *et al.* (1974). Uma solução de CDNB (150 mM) foi preparada em álcool etílico e a glutathiona reduzida (10 mM) foi dissolvida em tampão fosfato de sódio (0,1M; pH 7,5). Para a reação, 138 μL de tampão fosfato de sódio (0,1M, pH 7,5), 10 μL da amostra, 150 μL de glutathiona reduzida (10 mM) foram utilizados. A pré-mistura foi incubada em banho maria a 30°C por 5 minutos. Posteriormente, 2 μL de CDNB (150 mM) foram adicionados à reação e imediatamente a atividade de formação de 2,4-dinitrofenil S-glutathiona foi analisada por espectrofotometria a 340 nm. A reação foi lida por 5 min, com intervalo de leitura a cada 30s. Os dados de absorbância foram analisados em função do tempo de reação após adição do CDNB. A inclinação da reta (absorbância/min) foi transformada em unidade de concentração utilizando o coeficiente de extinção do CDNB ($9,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Atividade de MFOs. O substrato p-nitroanisol foi utilizado para determinar a atividade de MFO, através da reação de formação de p-nitrofenol sob a influência da enzima p-nitroanisol O-desmetilase, conforme descrito por Rose & Brindley (1985). As amostras foram analisadas em triplicata, sendo utilizados 100 μL p-nitroanisol (2 mM) e 90 μL da amostra (25 μg de proteínas totais) por poço, incubados a por 5 min à 30°C em estufa. Posteriormente, 10 μL de NADPH reduzido (9,6 mM) foram adicionados à reação. A absorbância foi lida a 405 nm numa leitora de

placa (Elx800, BioTek®). A atividade de MFO por amostra foi obtida da equação linear estimada para a absorbância em função da curva padrão de p-nitrofenol.

Eletroforese em Gel de Poliacrilamida Nativo. Proteínas de ambas as populações foram separadas em gel nativo descontínuo de poliacrilamida a 8% em sistema formado por tampão Tris-glicina (50 mM). Em 10 µL da amostra de cada população (com 5 ou 10 µg de proteínas totais) foram adicionados 10 µL de azul de bromofenol (20% m/v de sacarose, 0,1% azul de bromofenol em tampão Tris-glicina com 50 mM, pH 8,3). O gel foi carregado com as amostras diluídas na solução de azul de bromofenol e a eletroforese foi realizada a 100V por aproximadamente 1,5h a 4°C. Para visualizar as bandas de esterase, o gel foi incubado em tampão fosfato de sódio (0,02 M, pH 7.0) com 2% v/v de 50 mM de α -naftil acetato ou β - naftil acetato, em banho-maria por 15 min a 30°C. A reação foi paralisada utilizando 0,04% de fast blue B e o gel fixado em ácido acético 5%.

Análises. O número de indivíduos mortos e vivos nos bioensaios de sinergismo foi registrado para a determinação da DL_{50} de cada população, através da análise de Probit (Finney 1971), utilizando o programa Polo PC (LeOra Software 1987). Testes de paralelismo e igualdade entre as curvas de dose-mortalidade estimadas foram interpretados pelo teste de qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade. As razões de sinergismo (RS) foram obtidas utilizando a DL estimada para cada população quando aplicado somente o lambda-cialotrina e este associado aos sinergistas PBO, DEM e TPP. Já as razões de resistência sinergizada (RRS) foram calculadas entre as populações suscetível (Ec-FM) e resistente (Ec-Vi) quando aplicado ou não o sinergista. As razões de resistência (RS) e resistência sinergizadas (RRS), bem como os respectivos intervalos de confiança ($IC_{95\%}$) foram estimadas pelo método descrito por Robertson & Preisler (1992), sendo que populações ou progênies apresentaram razões de resistência significativa ao lambda-

cialotrina, quando o intervalo de confiança não inclui o valor (1,0). Diferenças de atividade de esterase, glutathiona-S-transferase e MFO entre as populações de *E. connexa* suscetível e resistente foram analisados através do teste t usando o procedimento PROC TTEST (SAS Institute 2001).

Resultados

Os dados de mortalidade obtidos nos bioensaios para as populações de *E. connexa*, utilizando os diferentes sinergistas, assumiram o modelo de Probit ($P > 0,05$). Quando aplicado o PBO associado ao lambda-cialotrina na população suscetível (Ec-FM), foi observado que a inclinação da reta não assumiu o teste de paralelismo ($\chi^2 = 13,33$, G.L. = 1, $P < 0,05$), quando comparada à aplicação somente do lambda-cialotrina. Contudo, para os demais sinergistas, o paralelismo entre as inclinações da reta foi observado (DEM: $\chi^2 = 1,09$, G.L. = 1, $P > 0,05$; TPP: $\chi^2 = 1,56$, G.L. = 1, $P > 0,05$). A população resistente (Ec-Vi) apresentou o mesmo padrão de resposta observado para a população suscetível (Ec-FM) em relação à inclinação da reta. As inclinações das retas com a aplicação do lambda-cialotrina e este associado ao PBO não apresentaram paralelismo ($\chi^2 = 22,73$, G.L. = 1, $P < 0,05$). Por outro lado, foi observado paralelismo entre as inclinações da reta (DEM: $\chi^2 = 2,49$, G.L. = 1, $P > 0,05$; TPP: $\chi^2 = 0,10$, G.L. = 1, $P > 0,05$) ao aplicar o DEM e TPP associado ao lambda-cialotrina.

A DL_{50} estimada para a população suscetível (Ec-FM) foi de 0,009 mg/mL, enquanto que para a população resistente (Ec-Vi) foi de 0,213 mg/mL. Assim, a população Ec-Vi foi 21,87 vezes resistente quando comparada à população Ec-FM (Tabela 1). As DL_{50s} estimadas para a população Ec-FM utilizando os sinergistas PBO, DEM e TPP associados ao lambda-cialotrina foram de 0,0003; 0,039; e 0,028 mg i.a. de lambda-cialotrina + sinergista/mL, respectivamente (Tabela 1). Assim, as razões de sinergismo calculadas foram 33,8; 0,24 e 0,35 vezes para o PBO,

DEM e TPP, respectivamente (Tabela 1). Já para a população resistente Ec-Vi, as DL_{50s} estimadas foram de 0,0002; 0,269; e 0,242 mg i.a. de lambda-cialotrina + sinergista/mL para o PBO, DEM e TPP, com razões de sinergismo de 1462,85; 0,79 e 0,85 vezes, respectivamente (Tabela 1). Dessa forma, o sinergismo ocasionado pelo PBO para a população Ec-Vi foi 43,3 vezes maior quando comparado à população Ec-FM.

Quando aplicado somente o lambda-cialotrina, a razão de resistência foi 21,87 vezes (Tabela 1). Entretanto, foi observada uma redução nas razões de resistência quando considerado os sinergistas PBO, DEM e TPP. As razões de resistência sinergizada foram 0,50; 6,75 e 8,77 vezes para o PBO, DEM e TPP, respectivamente. Quando aplicados os sinergistas DEM e TPP, foi observado antagonismo significativo, sendo que o DEM produziu aumento na DL₅₀ na ordem de 4,08 vezes (IC_{95,5%}: 2,82-5,89) e TPP de 2,83 vezes (IC_{95,5%}: 2,01-3,97).

A atividade de esterases foi diferenciada entre as populações de *E. connexa* [α -naftol ($t_4 = -11,03$; $P = 0,0004$); e β -naftol ($t_4 = -9,17$; $P = 0,0008$)]. Os valores médios de atividade a partir do α -naftil acetato foram de 0,25 e 1,04 $\eta\text{Mol. min}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ de proteínas totais, para as populações de *E. connexa* suscetível e resistente, respectivamente. Já para β -naftil acetato, as atividades foram de 0,33 e 1,33 $\eta\text{Mol. min}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ de proteínas totais para estas populações. As atividades observadas de glutathiona-S-transferase e MFO não foram significativamente diferentes entre as populações de *E. connexa* [glutathiona-S-transferase ($t_4 = -1,76$; $P = 0,1525$); e MFO ($t_5 = -1,45$; $P = 0,2072$)] (Fig. 1). Independente do substrato usado, as bandas observadas no gel de eletroforese nativo confirmaram a atividade diferenciada de esterases contribuindo para a formação de α -naftol e β -naftol na população resistente quando comparada à população suscetível de *E. connexa* (Fig. 2).

Discussão

A seleção de joaninhas resistente a inseticidas, como a espécie em estudo, pode ser um resultado da exposição às aplicações em vários agroecossistemas. *E. connexa* alimenta-se de pulgões, cochonilhas, moscas-brancas e outros insetos pequenos, que podem ser considerados como recurso escasso no espaço e tempo (Hodek & Honěk 1996). Tal fato pode levar à dispersão de adultos de joaninhas para outras áreas em busca de alimento. Adicionalmente, coccinelídeos são capazes de produzir substâncias que atuam na defesa de estágios vulneráveis contra a predação (Agarwala & Dixon 1992). Substâncias deterrentes de alimentação (Hemptinne *et al.* 2000) e toxinas (Agarwala & Dixon 1992), bem como a produção e liberação de alcalóides quando atacados (Hodek & Honěk 1996), demonstram a atuação do metabolismo que pode auxiliar na destoxificação de inseticidas. Os resultados mostraram que *E. connexa* apresenta resistência ao inseticida lambda-cialotrina e que a destoxificação do inseticida é parte importante do fenômeno.

Conforme ocorreu na população suscetível Ec-FM, o metabolismo da população resistente Ec-Vi não foi inibido por DEM e TPP. O antagonismo observado na população suscetível Ec-FM resultante da aplicação de DEM e TPP correspondeu a 4,08 e 2,83 vezes, respectivamente, podendo produzir diminuição da razão de resistência sinergizada. A diminuição da estimativa da inclinação da reta quando utilizado o PBO pode indicar aumento da variação de resposta de *E. connexa* ao lambda-cialotrina (Robertson & Preisler 1992), visto que o PBO inibiu significativamente o metabolismo apresentado pelas populações Ec-FM e Ec-Vi. Além disso, a razão de resistência sinergizada quando o PBO foi utilizado indica que a população de *E. connexa* resistente apresentou tolerância semelhante à população suscetível. A inibição da resistência a piretróides mediante metabolismo por PBO é registrado para diferentes grupos de insetos, tais

como *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Kranthi *et al.* 2001), *Heliothis virescens* (Fabr.) (Zhao *et al.* 2002), *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae) (Lorini & Galley 2000), *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) (Kang *et al.* 2006), *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) (Sayyed *et al.* 2010), *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) (Thalavaisundaram *et al.* 2008).

A população de *E. connexa* resistente apresentou alto sinergismo conferido pela inibição da destoxificação do lambda-cialotrina na presença do PBO, o que indica possível envolvimento de monooxigenases de função mista e/ou hidrolases na resistência observada nesta espécie. Deste modo, as generalizações que inimigos naturais seriam desprovidos ou apresentariam menor atividade de mecanismos destoxificativos não procede neste caso, uma vez que as generalizações indicam que os fitófagos apresentariam um sistema enzimático diferenciado para destoxificar inseticidas por sua relação com plantas hospedeiras (Gordon 1961). O papel desempenhado pelas enzimas hidrolíticas e oxidativas na destoxificação de inseticidas tem sido relacionado às diferenças na suscetibilidade de artrópodes fitófagos e seus inimigos naturais (Croft & Strickler 1983). Fitófagos generalistas apresentam maior atividade de monooxigenases de função mista (ex., citocromo P450), uma vez que este grupo utiliza diferentes plantas hospedeiras e, conseqüentemente, é desafiado por diferentes aleloquímicos produzidos (Croft & Stricker 1983). Já fitófagos monófagos ou oligófagos apresentariam maior atividade de hidrolases, a exemplo de inimigos naturais (Croft & Stricker 1983).

O lambda-cialotrina é um piretróide, formado por um ácido e álcool meiótico na molécula que apresenta ligação éster (Elliott & Janes 1978), e pode ser alvo tanto de esterases quanto de oxidases de função mista (Yamamoto *et al.* 1971). As principais rotas de destoxificação de piretróides são a clivagem da ligação éster que podem ser mediadas por esterases e oxidases, e

hidroxilação dos anéis aromáticos ou grupo metil por oxidases. As atividades de glutathione-S-transferase e do MFO entre as populações de *E. connexa* sugerem o não envolvimento destes sistemas na resistência ao lambda-cialotrina. Entretanto, vale ressaltar que somente foi analisado um modelo substrato (p-nitroanisol) para confirmar a atuação de MFOs na resistência de *E. connexa*. Os resultados de atividade de formação de α -naftol e β -naftol e do gel de eletroforese nativo indicam a participação de esterases como fator maior na resistência ao lambda-cialotrina, apesar do TPP não ter sinergizado este inseticida. Diversos estudos têm demonstrado a inibição de atividade catalítica de enzimas que não fazem parte do sistema MFO por PBO (Gunning *et al.* 1998, Gunning *et al.* 1999, Young *et al.* 2005, Young *et al.* 2006, López-Soler *et al.* 2011) ou até mesmo o bloqueio da enzima pelo PBO (Khot *et al.* 2008). Assim, estudos visando investigar o nível de resistência ao ser utilizado outro sinergista inibidor de esterases (S,S,S-tributilfosforotritioato – DEF), a inibição de esterases *in vitro* utilizando o PBO, ou outros substratos modelos para atuação de MFOs podem ser realizados e são de importância para determinar como a resistência metabólica ocorre em *E. connexa*.

Estudos com joaninhas predadoras acerca do sinergismo e atividade enzimática conferindo resistência a inseticidas/acaricidas são incipientes. Em geral, os estudos somente retratam diferenças de suscetibilidade, sinergismo e de atividade enzimática para espécies de joaninhas a um determinado produto quando comparado à espécie praga (Wu & Miyata 2005, Wu *et al.* 2007). Por exemplo, a tolerância ao metamidofós para quatro espécies de joaninhas predadoras de pulgões coletados em crucíferas, *Verania discolor* (Fabricius), *Coccinella repanda* Thunberg, *Chilomenes quadriplagiata* (Swartz) e *Coccinella septempunctata* L., bem como o sinergismo do PBO quando utilizado o metamidofós em *C. repanda*, *C. quadriplagiata* e *C. septempunctata* (Wu & Miyata 2005). Wu *et al.* (2007) verificaram a ação sinergista do PBO na toxicidade do

metamidofós, fenvalerato e avermectina em *P. japonica*, entretanto a inibição *in vivo* do metabolismo somente foi observada nesta espécie quando utilizado o TPP. Além destes estudos, Francis *et al.* (2002), avaliaram a detecção de isoenzimas e o registro de atividade de GST em diferentes estágios de desenvolvimento de *Adalia bipunctata* L., sem mencionar a utilização de inseticidas/acaricidas para controle de pragas. A diferença de atividade de esterases e de bandas no gel de eletroforese nativo entre populações suscetível e resistente de *E. connexa* ao lambda-cialotrina, bem como a resposta de atividade de GST são similares aos resultados obtidos por Kumral *et al.* (2011) ao estudar a resistência de *Stethorus gilvifrons* (Muls.) (Coleoptera: Coccinellidae) ao bifentrin. A recente detecção de resistência nesta espécie ($RR_{50} = 10,9$) parece estar associada à participação de esterases na destoxificação do bifentrin, sem a atuação de GSTs, conforme encontrado em *E. connexa*.

Como a resistência de *E. connexa* foi completamente suprimida pelo PBO, é possível inferir que o mecanismo de resistência, relacionado ao metabolismo por oxidases/hidrolases, possa ser o fator principal da resistência de *E. connexa* ao lambda-cialotrina. Isto porque a atuação de sinergistas inibindo a destoxificação pode ser um indicativo de resistência metabólica em insetos resistentes (Wilkinson 1983). Vale ressaltar que a herança da resistência desta população de *E. connexa* indicou que a resistência pode ser conferida por um ou poucos genes, com possível envolvimento de um gene principal (Cap. 3). Fato que estaria de acordo com o envolvimento do mecanismo metabólico (atuação de esterases) como fator principal da resistência.

O PBO inibe a destoxificação do lambda-cialotrina, fazendo com que a população resistente de *E. connexa* apresente resposta similar a população suscetível utilizada neste estudo. Contudo, não é observada inibição quando utilizado o DEM e TPP. A atuação de esterases na resistência metabólica de *E. connexa* está de acordo com o padrão esperado por Croft & Stricker (1983). Para

fins de manejo integrado de pragas, o envolvimento do metabolismo de *E. connexa* na resistência pode ser vista de forma positiva, uma vez que a atuação de enzimas detoxificativas pode conferir resistência cruzada a diferentes grupos químicos de inseticidas, tais como organofosforados e carbamatos. Entretanto, isto necessita estudos futuros, a fim de determinar a capacidade de *E. connexa* em apresentar tolerância diferenciada a diversos grupos de inseticidas. Adicionalmente, estudos que visem definir se MFOs apresentam papel na resistência ou se PBO inibe esterases devem ser realizados com o intuito de gerar informações adicionais, aliadas à herança da resistência, para a utilização da população de *E. connexa* resistente para o controle biológico como ferramenta para o manejo integrado de pragas.

Agradecimentos

À FACEPE (IBPG-0168-5.01/08), CNPq (Edital Universal Proc. 473211/2009-2) e à CAPES (BEX 7095-10-4) pelo financiamento a pesquisa mediante recursos e bolsas de estudos e pesquisa aos autores.

Literatura Citada

- Agarwala, B.K. & A.F.G. Dixon. 1992.** Laboratory study of cannibalism and interspecific predation in ladybirds. *Ecol. Entomol.* 17: 303-309.
- BRASIL. 2012.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. AGROFIT: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 01/03/2012.
- Bregues C, N.J. Hawkes, F. Chandre, L. McCarroll, S. Duchon, P. Guillet, S. Manguin, J.C. Morgan & J. Hemingway. 2003.** Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med. Vet. Entomol.* 17: 87-94.

- Cosme, L.V., G.A. Carvalho & A.P. Moura. 2007.** Efeitos de inseticidas botânico e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em laboratório. Arq. Inst. Biol. 74: 251-258.
- Croft, B.A. & J.G. Morse. 1979.** Recent advances in natural enemy-pesticide research. Entomophaga 24: 3-11.
- Croft, B.A. & Strickler. 1983.** Natural enemy resistance to pesticides: documentation, characterization, theory and application, p. 669-702. In G.P. Georghiou & T. Saito (ed.), Pest resistance to pesticides. New York, Plenum Press, 809p.
- Elliott, M. & N.F. Janes. 1978.** Synthetic pyrethroids – a new class of insecticide. Chem. Soc. Rev. 7: 473-505.
- Finney, D.J. 1971.** Probit Analysis. London, Cambridge University Press, 333p.
- Francis, F., E. Haubruge & P. Dierickx. 2002.** Glutathione S-transferase isoenzymes in the two-spot ladybird, *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). Arch. Insect Biochem. Physiol. 49: 158-166.
- Galvan, T.L., R.L. Koch & W.D. Hutchison. 2005.** Effects of spinosad and indoxacarb on survival, development, and reproduction of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). Biol. Control 34: 108-114.
- Gordon, H.T. 1961.** Nutritional factors in insect resistance to chemicals. Annu. Rev. Entomol. 6: 27-54.
- Gunning, R.V., G.D. Moores & A.L. Devonshire. 1998.** Inhibition of pyrethroid resistance related esterases by piperonyl butoxide in Australian *Helicoverpa armigera* and *Aphis gossypii*. p. 215-226. In G. Jones (ed.), Piperonyl Butoxide: the Insecticide Synergist. London, Academic Press, 323p.
- Gunning, R.V., G.D. Moores & A.L. Devonshire. 1999.** Esterase inhibitors synergise the toxicity of pyrethroids in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Pestic. Biochem. Physiol. 63: 50-62.
- Gyenge, J.E., J.D. Edelman & C.E. Salto. 1998.** Efectos de la temperatura y la dieta en la biología de *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae). An. Soc. Entomol. Brasil 27: 345-356.
- Habig, W.H., M.J. Pabst & W.B. Jakoby. 1974.** Glutathione S-transferases: the first step in mercapturic acid formation. J. Biol. Chem. 249: 7130-7139.

- Hammock, B.D. 1975.** NADPH-dependent epoxidation of methyl farnesoate to juvenile hormone in the cockroach *Blaberus giganteus* L. *Life Sci.* 17: 323-28.
- Hemptinne, J.L., G. Lognay, C. Gauthier, A.F.G. Dixon. 2000.** Role of surface chemical signals in egg cannibalism and intraguild predation in ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemoecology* 10: 123-128.
- Hodek, I. & A. Hošek. 1996.** Ecology of Coccinellidae. Dordrecht, Kluwer Academic, 464p.
- Kang, C.Y., G. Wu. & T. Miyata. 2006.** Synergism of enzyme inhibitors and mechanisms of insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hom., Aleyrodidae). *J. Appl. Entomol.* 130: 377-385.
- Kappler, C., M. Kabbouh, C. Hetru, R. Durst & J.A. Hoffmann. 1988.** Characterization of three hydroxylases involved in the final steps of biosynthesis of the steroid hormone ecdysone in *Locusta migratoria* (Insecta, Orthoptera). *J. Steroid Biochem.* 31: 891-98.
- Khot, A.C., G. Bingham, L.M. Field & G.D. Moores. 2008.** A novel assay reveals the blockade of esterases by piperonyl butoxide. *Pest Manag. Sci.* 64: 1139-1142.
- Kranthi, K.R., D. Jadhav, R. Wanjari, S. Kranthi. & D Russell. 2001.** Pyrethroid resistance and mechanisms of resistance in field strains of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 94, 253-263.
- Kumral, N.A., N.S. Gencer, H. Susurluk & C. Yalcin. 2011.** A comparative evaluation of the susceptibility to insecticides and detoxifying enzyme activities in *Stethorus gilvifrons* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Panonychus ulmi* (Acarina: Tetranychidae). *Int. J. Acarol.* 37: 255-268.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit Logit analysis. Leora Software, Berkely, CA.
- Li, X., M.A. Schuler & M.R. Berenbaum. 2007.** Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 231-253.
- López-Soler, N., A. Cervera, V. Quinto, Jaime Abellán, P. Bielza, R. Martínez-Pardo & M.D. Garcera. 2011.** Esterase inhibition by synergists in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *Pest Manag. Sci.* 67: 1549-1556.
- Lorini, I. & D.J. Galley. 2000.** Effect of the synergists piperonyl butoxide and DEF in deltamethrin resistance on strains of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 29: 749-755.
- Matsumura, F. 1985.** Toxicology of Insecticides. 2 Ed., New York, Plenum Press, 598p.

- Plapp Jr., F.W. & D. L. Bull. 1978.** Toxicity and selectivity of some insecticides to *Chrysopa carnea*, a predator of the tobacco budworm. *Environ. Entomol.* 7: 431-434.
- Plapp Jr., F.W. & T.C. Wang. 1983.** Genetic origins of insecticide resistance, p. 47-70. In G.P. Georgioui & T. Saito (ed.), *Pest resistance to pesticides*. New York: Plenum Press, 809p.
- Raffa, K.F. & T.M. Priester. 1985.** Synergists as research tools and control agents in agriculture. *J. Agric. Entomol.* 2: 27-45.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** *Pesticide Bioassays with Arthropods*. 1st ed. Boca Raton, CRC, Press, 127p.
- Rocha, L.C.D., G.A. Carvalho, A.P. Moura, V.F. Moscardini, D.T. Rezende & O.M. Santos. 2010.** Seletividade fisiológica de inseticidas utilizados em cultura cafeeira sobre ovos e adultos de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant. *Arq. Inst. Biol.* 77: 119-127.
- Rose, R.L. & W.A. Brindley. 1985.** An evaluation of the role of oxidative enzymes in Colorado potato beetle resistance to carbamate insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 23: 74-84.
- Rose, R., L. Barbhैया, R.M. Roe, G.C. Rock & E. Hodgson. 1995.** Cytochrome P-450-associated insecticide resistance and the development of biochemical diagnostic assays in *Heliothis virescens*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 50: 178-191.
- Ruberson, J. R., H. Nemoto & Y. Hirose. 1998.** Pesticides and conservation of natural enemies in pest management. p. 207-220. In P. Barbosa (ed.), *Conservation biological control*. New York, Academic Press, 397p.
- Ruberson, J.R. & P.G. Tillman. 1999.** Effect of selected insecticides on natural enemies in cotton: a laboratory study. *Proc. Beltwide Cotton Conf.* 2: 1210-1213.
- Sas Institute. 2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sayyed, A.H., A.K. Pathan & U. Faheem. 2010.** Cross-resistance, genetics and stability of resistance to deltamethrin in a population of *Chrysoperla carnea* from Multan, Pakistan. *Pestic. Biochem. Physiol.* 98: 325-332.
- Scott, J.G. 1991.** Insecticide resistance in insects. p. 663-677. In Pimentel, D. (ed), *Handbook of pest management in agriculture*, vol.II, Boca Raton, CRC Press, 757p.
- Smith, P.K., R.I. Krohn, G.T. Hermanson, A.K. Mallia, F.H. Gartner, M.D. Provenzano, E.K. Fujimoto, N.M. Goeke, B.J. Olson & D.C. Klenk. 1985.** Measurement of protein using Bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150: 76-85.

- Thalavaisundaram, S., G.A. Herron, A.D. Clift & H. Rose. 2008.** Pyrethroid resistance in *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) and implications for its management in Australia. *Aust. J. Entomol.* 47: 64-69.
- Tillman, P.G. & J. E. Mulrooney. 2000.** Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.* 93: 1638-1643.
- Torres, J.B., F.S. Freitas & D. Pratisoli. 1995.** Avaliação de diferentes porcentagens da mistura de farinha de milho com farinha de trigo integral e levedura-de-cerveja na criação de *Anagata kuhniella* (Zeller, 1879). *Rev. Ciênc. Prát.* 19: 365-368.
- van Asperen, K. 1962.** A study of house fly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.* 8: 401-416.
- Wilkinson, C.F. 1983.** Characterization of cytochrome P-450 in studies of insecticide resistance, p. 207-228. In G.P. Georghiou & T. Saito (ed.), *Pest resistance to pesticides*. New York, Plenum Press, 809p.
- Wu, G. & T. Miyata. 2005.** Susceptibilities to methamidophos and enzymatic characteristics in 18 species of pest insects and their natural enemies in crucifer vegetable crops. *Pestic. Biochem. Physiol.* 82: 79-93.
- Wu, G., T. Miyata, C.Y. Kang & L.H. Xie. 2007.** Insecticide toxicity and synergism by enzyme inhibitors in 18 species of pest insect and natural enemies in crucifer vegetable crops. *Pest Manag. Sci.* 63: 500-510.
- Yamamoto, I., M. Elliott & J.E. Casida. 1971.** The Metabolic Fate of Pyrethrin I, Pyrethrin II, and Allethrin. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 44: 347-348.
- Young, S.J., R.V. Gunning & G.D. Moores. 2005.** The effect of piperonyl butoxide on pyrethroid-resistance-associated esterases in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag. Sci.* 61: 397-401.
- Young, S.J., R.V. Gunning & G.D. Moores. 2006.** Effect of pretreatment with piperonyl butoxide on pyrethroid efficacy against insecticide-resistant *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Bemisia tabaci* (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). *Pest Manag. Sci.* 62: 114-119.
- Zhao, G., Rose, R.L., Hodgson, E., Roe, R.M., 2002.** Biochemical mechanisms and diagnostic microassays for pyrethroid, carbamate and organosphosphates insecticide resistance/cross-resistance in the tobacco budworm, *Heliothis virescens*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 56: 183-195.

Tabela 1. Toxicidade do inseticida lambda-cialotrina a populações suscetível (Ec-FM) e resistente (Ec-Vi) de *Eriopsis connexa* quando aplicado em associação aos sinergistas butóxido de piperonila (PBO), dimetil maleato (DEM) e trifetil fosfato (TPP). Nota = n, número de adultos testados; GL, grau de liberdade; EP, erro padrão; e χ^2 , teste de qui-quadrado.

Inseticida	n	GL	Inclinação±EP	DL ₅₀ (IC 95%) ¹	RS ₅₀ (IC 95%) ²	RRS ₅₀ (IC 95%) ³	DL ₉₀ (IC 95%) ¹	RS ₉₀ (IC 95%) ²	RRS ₅₀ (IC 95%) ³	χ^2
<i>Ec-FM</i>										
Lambda-cialotrina	194	5	2,08 ± 0,28	0,009 (0,008-0,013)	-	-	0,040 (0,027-0,075)	-	-	2,16
Lambda-cialotrina + PBO	169	3	0,74 ± 0,23	0,0003 (0,00007-0,0011)	33,8 (11,11-102,72)	-	0,015 (0,003-7,93)	2,74 (0,18-39,70)	-	1,01
Lambda-cialotrina + DEM	166	4	2,56 ± 0,36	0,039 (0,027-0,066)	0,24 (0,17-0,35)	-	0,126 (0,074-0,409)	0,31 (0,16-0,62)	-	4,86
Lambda-cialotrina + TPP	196	4	2,60 ± 0,31	0,028 (0,022-0,035)	0,35 (0,25-0,50)	-	0,086 (0,063-0,137)	0,47 (0,25-0,88)	-	1,52
<i>Ec-Vi</i>										
Lambda-cialotrina	208	5	3,71 ± 0,45	0,213 (0,177-0,258)	-	21,87 (15,94-30,01)	0,473 (0,376-0,653)	-	11,74 (6,75-20,45)	3,57
Lambda-cialotrina + PBO	147	4	1,41 ± 0,25	0,0002 (0,00007-0,0003)	1462,85 (795,49-2690,08)	0,50 (0,14-1,74)	0,001 (0,0006-0,003)	403,21 (182,93-888,75)	0,08 (0,005-1,23)	2,70
Lambda-cialotrina + DEM	177	5	2,84 ± 0,34	0,269 (0,182-0,396)	0,79 (0,59-1,05)	6,75 (4,81-9,45)	0,758 (0,493-1,724)	0,62 (0,41-0,95)	6,01 (3,41-10,61)	8,57
Lambda-cialotrina + TPP	175	5	3,51 ± 0,43	0,242 (0,182-0,317)	0,88 (0,66-1,15)	8,77 (6,50-11,83)	0,561 (0,415-0,910)	0,84 (0,57-1,24)	6,55 (4,09-10,49)	5,10

¹DL - dose (mg de i.a. lambda-cialotrina/mL) que produz mortalidade; ²Razão de sinergismo e intervalo de confiança a 95%; ³Razão de resistência sinergizada e intervalo de confiança a 95%. * RS e RRS foram calculadas através do método de Robertson & Preisler (1992), sendo significativos quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

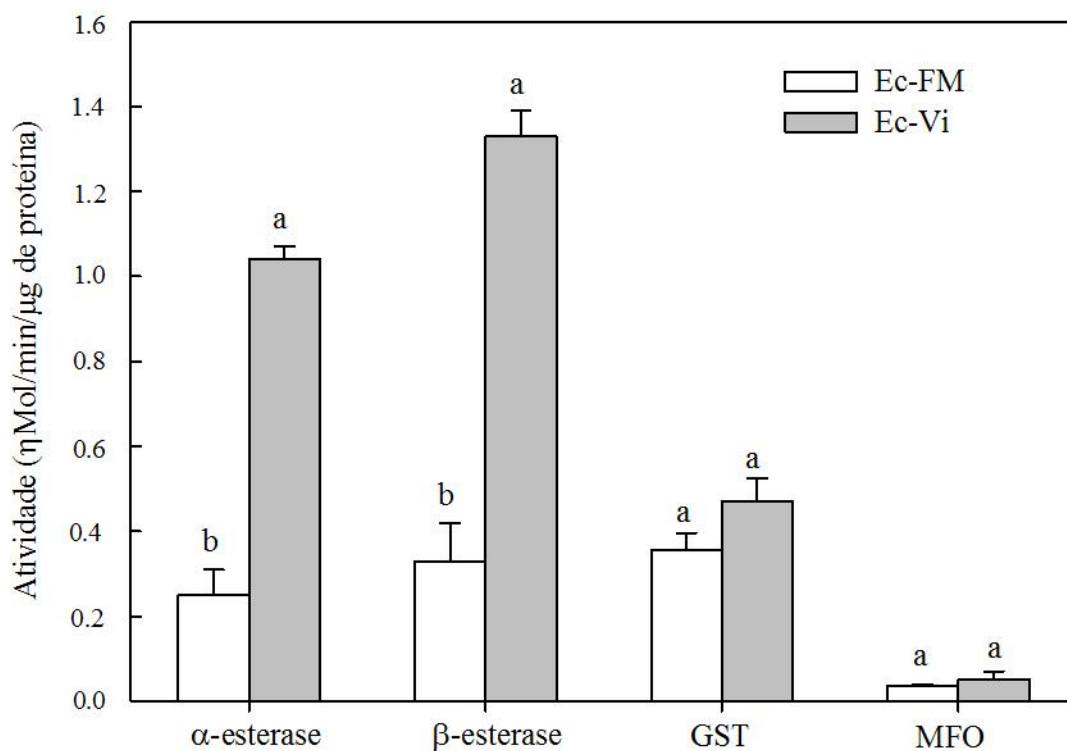


Figura 1. Médias (+EP) da atividade enzimática de α -esterase, β -esterase, glutationa S-transferase (GST) e monooxigenase de função mista (MFO) das populações suscetível (Ec-FM) e resistente (Ec-Vi) de *Eriopsis connexa*. Os substratos para esterase α , esterase β , GST e MFO foram α -naftil acetato, β -naftil acetato, CDNB e p-nitroanisol, respectivamente. Nota: Barras seguidas da mesma letra não diferem, entre populações para a mesma enzima, pelo teste t ($P > 0,05$).

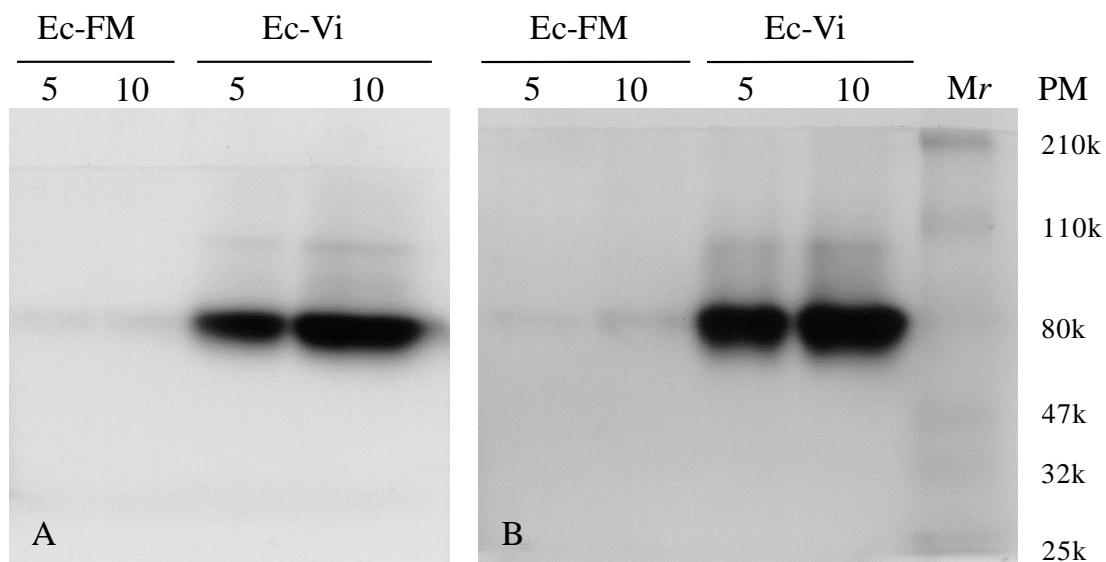


Figura 2. Comparação de bandas em gel de poliacrilamida nativo para α -esterase (A) e β -esterase (B) das populações suscetível (Ec-FM) e resistente (Ec-Vi) de *Eriopsis connexa* em 5 e 10 μ g de proteínas totais. Os substratos para esterase α e β esterases foram α -naftil acetato e β -naftil acetato, respectivamente. PM, peso molecular; e Mr, marcador.

CAPÍTULO 5

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO LAMBDA-CIALOTRINA EM POPULAÇÃO DE CAMPO DE *Hippodamia convergens* (GUÉRIN-MÉNEVILLE) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)¹

AGNA R.S. RODRIGUES², JOHN R. RUBERSON³, JORGE B. TORRES² E HERBERT A.A SIQUEIRA²

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua
Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

³Department of Entomology, University of Georgia-Tifton Campus, 122 S. Entomology Drive,
31794, Tifton, GA,USA.

¹Rodrigues, A.R.S., J.R. Ruberson, J.B. Torres & H.A.A Siqueira. Caracterização da resistência ao lambda-cialotrina em população de campo de *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville) (Coleoptera: Coccinellidae). A ser submetido.

RESUMO – A joaninha *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville) têm apresentado sobrevivência diferenciada após contato com o lambda-cialotrina em laboratório e em campo, um fenômeno pouco estudado em inimigos naturais. Assim, este trabalho investigou a ocorrência e a caracterização da resistência de *H. convergens* ao lambda-cialotrina. A herança e sinergismo da resistência basearam-se no efeito *knockdown* e mortalidade de adultos. As populações parentais foram expostas ao butóxido de piperonila (PBO) associado ao lambda-cialotrina, para determinar o papel de enzimas na resistência. Cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos entre as populações parentais foram realizados de forma massal e em casais individuais, para obter descendentes e realizar experimentos de herança. Adultos das populações/progênes foram submetidos à aplicação tópica de diferentes doses do lambda-cialotrina em grau técnico para calcular as doses para *knockdown* (KD) e letais (DL) e a dominância efetiva. A variação genética nos parentais foi verificada pela mortalidade de adultos provenientes dos casais individuais quando aplicada a dose discriminatória para indivíduos resistentes (0,5 mg/mL). A resistência foi influenciada por no mínimo dois fatores, o *knockdown* e a recuperação de sintomas pela destoxificação do inseticida. O efeito *knockdown* é conferido por fator recessivo ligado ao sexo, contudo a dominância pode ser dependente da dose utilizada. A destoxificação do lambda-cialotrina foi inibida pelo PBO. Também, foi observada variação genética na população resistente de *H. convergens* durante os experimentos, produzindo alteração nas proporções de *knockdown* e mortalidade. Estudos devem ser conduzidos para determinar o papel da herança ligada ao sexo na evolução da resistência nesta espécie, bem como da interação de diferentes mecanismos de resistência observados.

PALAVRAS-CHAVE: joaninha, piretróide, herança da resistência, butóxido de piperonila

CHARACTERIZATION OF THE RESISTANCE IN FIELD POPULATION of *Hippodamia convergens* (GUÉRIN-MÉNEVILLE) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) TO LAMBDA-CYHALOTHRIN

ABSTRACT - The lady beetle, *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville) has exhibited differential survival under field and laboratory conditions treated with the pyrethroid λ -cyhalothrin, an unusual phenomenon for a natural enemy. This work investigated and characterized the phenomenon of pyrethroid resistance in this species. The mechanism and level of resistance was determined by treating parental populations with piperonyl butoxide (PBO). The inheritance bioassay utilized mass crosses and pairs of backcrosses between parental populations to obtain testable progeny. Adult beetles from populations and progeny were topically treated with 0.5 μ L of different doses of lambda-cyhalothrin (technical grade) to calculate the knockdown (KDs) and lethal (LD) doses, and to investigate the dominance based on a single dose and determine if the resistance is autosomal and monogenic (null hypothesis). The genetic variation in the parental populations was tested by applying a discriminating dose for resistant individuals (0.5 mg/mL). The data indicate that mortality is influenced by at least two factors, knockdown and detoxification of the insecticide. The knockdown effect is recessive and sex linked, while nature of the dominance is determined by the dose. Detoxification of lambda-cyhalothrin in the resistant population is inhibited by PBO. Alterations in the proportions of individuals dying from those suffering knockdown indicated genetic variation in the resistant population. Further studies should be done to investigate the role of sex linked inheritance of resistance in the species and interactions of different mechanism involved.

KEY WORDS: Lady beetles, pyrethroid, resistance inheritance, piperonyl butoxide

Introdução

Inimigos naturais sofrem efeitos deletérios quando utilizados inseticidas para o controle de pragas (Orr 2009). Dentre estes efeitos podemos citar a morte do inseto, devido à toxicidade do produto ou inanição, bem como a alteração de seus padrões comportamentais e de parâmetros biológicos (Liu & Chen 2001, revisado por Desneux *et al.* 2007). Assim, para a utilização do controle biológico dentro dos preceitos do manejo integrado de pragas, faz-se necessário reduzir os efeitos indesejados da aplicação de inseticidas de amplo espectro de ação (Obrycki *et al.* 2009), preferivelmente através do uso de produtos seletivos (Ruberson *et al.* 1998). Contudo, os compostos organofosforados, carbamatos e piretróides disponíveis para o controle de pragas são pouco seletivos a inimigos naturais (Pathan *et al.* 2008).

O impacto de inseticidas na população destes agentes de controle tem sido amplamente discutido, relacionando-o a casos de ressurgência de pragas e surtos de pragas secundárias (Hardin *et al.* 1995, Dutcher 2007). Recentemente, a percepção que inimigos naturais apresentam potencial para desenvolver resistência a inseticidas em campo tem recebido maior atenção, principalmente pelos estudos realizados com crisopídeos: detecção de resistência, caracterização genética e mecanismos envolvidos na resistência, potencial de predação e custo adaptativo em indivíduos resistentes (Pree *et al.* 1989, Pathan *et al.* 2008, Sayyed *et al.* 2010, Pathan *et al.* 2010).

Joaninhas predadoras são amplamente conhecidas pela habilidade em consumir diversos grupos de artrópodes de corpo mole, tais como pulgões, moscas-brancas, cochonilhas e ácaros (Hodek & Honěk 1996). Desta forma, exercendo importante papel no controle destes artrópodes-pragas em diferentes agroecossistemas (Obrycki *et al.* 2009). Quando relacionado a outros grupos de inimigos naturais de pulgões, joaninhas predadoras são em geral mais tolerantes a inseticidas,

considerando a ordem decrescente: joaninhas, crisopídeos, sirfídeos, hemípteros e parasitoides (Hodek 1973). Contudo, a resposta de joaninhas predadoras a inseticidas tem sido restrita à toxicidade quando aplicadas doses ou subdoses de inseticida, ou a ocorrência de efeitos subletais neste grupo de inimigos naturais (Tillman & Mulrooney 2000, Cosme *et al.* 2007). Por outro lado, quando estimadas as doses letais, estudos têm demonstrado variação quanto ao grau de suscetibilidade de diferentes espécies de joaninhas a inseticidas (Lingren & Ridgway 1967, Moffit *et al.* 1972, Coats *et al.* 1979, Kaakeh *et al.* 1996, Ruberson *et al.* 2007, Cap. 2). Apesar de Croft (1990) citar as joaninhas *Stethorus punctum* (LeConte) e *Stethorus punctillum* (Weise) como espécies resistentes a azinfos-metil na cultura da macieira (Hull & Starner 1983, Pasqualini & Malavolta 1985), tal observação não foi confirmada. Assim, por quatro décadas, a detecção de resistência em populações de joaninhas foi limitada a estudos com *Coleomegilla maculata* (De Geer) (Coleoptera: Coccinellidae) na cultura do algodoeiro. Quando utilizada a parationa metílica, Head *et al.* (1977), obtiveram razão de resistência na ordem de 11,2 vezes para *C. maculata*. Enquanto que Graves *et al.* (1978), registraram razões de resistência para *C. maculata* na ordem de 14,6; 28,9; e 12 vezes aos inseticidas DDT, parationa metílica e monocrotofós, respectivamente. Recentemente, foi registrada resistência em *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) ao lambda-cialotrina em brássicas ($RR_{50} = 38$) (Cap. 2 e 3) e *Stethorus gilvifrons* (Muls.) (Coleoptera: Coccinellidae) ao bifentrin ($RR_{50} = 10,9$) (Kumral *et al.* 2011).

Inseticidas piretróides foram desenvolvidos na década de 70, possuindo grande eficácia para o controle de ampla variedade de artrópodes pragas (Elliott & Janes 1978). O impacto destes inseticidas em vários grupos de inimigos naturais, tais como ácaros, dípteros, crisopídeos, himenópteros parasitóides e coccinélídeos foi resumido por Croft & Brown (1975). Na Geórgia,

EUA, o piretróide lambda-cialotrina tem sido utilizado para controle de lagartas desfolhadoras e percevejos (Roberts *et al.* 2011), porém sendo considerado pouco seletivo a inimigos naturais (Ruberson & Tillman 1999).

A joaninha predadora *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville) (Coleoptera: Coccinellidae) é uma espécie cosmopolita, desempenhando papel importante no controle de pragas em diversos agroecossistemas (Hagen 1962). Consequentemente, esta espécie pode ser exposta ao efeito tóxico de diferentes grupos de inseticidas (Moffit *et al.* 1972, Tillman & Mulrooney 2000, Riddick *et al.* 2000, Torres & Ruberson 2005b). Contudo, a sua sobrevivência diferencial entre as espécies de joaninhas presentes em algodoeiro na Geórgia, EUA (Tillman & Mulrooney 2000), aliada a histórica exposição de *H. convergens* a inseticidas, sugerem a seleção de populações resistentes ao inseticida lambda-cialotrina, como foi indicado por Torres & Ruberson (2005a, 2005b). Isto foi confirmado através de estudos de laboratório com diversas populações de *H. convergens* (Ruberson *et al.* 2007). Desta forma, este estudo teve por objetivo responder os seguintes questionamentos: Como a herança da resistência ao lambda-cialotrina pode ser caracterizada? Enzimas destoxicativas inibidas por butóxido de piperonila contribuem para resistência nesta espécie? Estas informações são de extrema importância para o manejo de pragas se considerarmos a redução do uso de inseticidas na cultura do algodoeiro, provenientes da erradicação da principal praga do algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae), a introdução do algodão-Bt para controle de lagartas e a disponibilidade de inseticidas seletivos, assim, permitindo a conservação de inimigos naturais.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido no laboratório de Controle Biológico da Coastal Plain Experiment Station (CPES) da University of Georgia (Tifton-GA). Larvas e adultos de *H. convergens* foram mantidos na criação utilizando ovos de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), adquiridos da empresa Beneficial Insectary Inc., Redding, CA, EUA. Adultos de *H. convergens* utilizados nos cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos receberam pulgões como alimento adicional, a fim de estimular a produção de ovos. As joaninhas foram mantidas em ambiente controlado com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase 14h.

Obtenção dos Inseticidas Sintéticos. O lambda-cialotrina (99,5%, Chem Service, West Chester, PA, USA) e o butóxido de piperonila (PBO) (Endura PB 80 EC-NF, 80% PBO, Endura Fine Chemicals, Bolonha, Itália) em grau técnico foram adquiridos em mercado especializado.

Obtenção das Populações de *Hippodamia convergens* Suscetível e Resistente. Foram utilizadas duas populações de *H. convergens*, uma adquirida de insetário comercial (ARBICO Organics, Oro Valley, AZ, EUA), coletada na Califórnia em abril de 2011, e a outra, coletada em plantas de cobertura "clover" no município de Attapulgus, GA, EUA, à $30^\circ 45' 45,34''$ N e $84^\circ 28' 49,75''$ W, no mesmo período. Para ambas as populações, adultos da geração F₁ foram submetidos à aplicação tópica de 0,5 µL de diferentes doses do inseticida lambda-cialotrina em grau técnico para calcular as DL_{50s}. Baseando-se nos resultados a partir de seis doses de lambda-cialotrina, as DL_{50s} calculadas foram correspondentes a 0,004 e 0,816 mg de i.a./mL, para as populações da Califórnia (Hc-CA) e da Geórgia (Hc-GA), respectivamente. Assim, as populações suscetível e resistente foram denominadas Hc-CA e Hc-GA, respectivamente, com razão de resistência de 220,03 vezes. Além disso, as DL₅₀ e DL₉₀ para Hc-GA foram de 0,816 e 4,595 mg i.a./mL sendo superiores à maior concentração do inseticida lambda-cialotrina recomendada para o controle de

H. zea na cultura do algodoeiro (0,44 mg/mL; 44 g de i.a./ha utilizando 100L de calda/ha) (Roberts *et al.* 2011). Os experimentos relacionados à herança da resistência ao lambda-cialotrina foram iniciados com adultos provenientes da geração F₁ das populações resistente e suscetível.

Criação das Populações e Progênes de *Hippodamia convergens*. As populações de *H. convergens* foram mantidas isoladamente em colônias. Adultos de cada população foram acondicionados em caixas plásticas tipo cubo de 30 cm (comprimento x largura x altura) com laterais teladas. Posteriormente, casais foram transferidos para recipientes plásticos de 500 mL, com tampa de tela feita com tecido *voil* para permitir a circulação de ar. Pedacos de papel-toalha foram adicionados no interior dos recipientes, servindo como substrato para posturas. Estas foram transferidas para copos plásticos transparentes de 30mL, com abertura superior fechada com disco de papel. No mínimo, posturas de 20 fêmeas foram utilizadas para manter a colônia e serem utilizadas nos experimentos. Após a eclosão, uma larva foi transferida e criada por copo plástico de 25mL, que foi disposto em bandejas-suporte, com capacidade para 30 copos. Como alimento foi fornecido ovos de *E. kuehniella* em quantidades *ad libitum* de acordo com a idade das larvas.

Curvas de Dose-Mortalidade. Inicialmente, o lambda-cialotrina e o PBO a 99,5 e 80% em grau técnico, respectivamente, foram diluídos em acetona. No estudo com o sinergista, inicialmente foram realizados bioensaios com intuito de determinar a dose de PBO a ser aplicada, que não produzisse mortalidade de adultos para ambas as populações suscetível e resistente de *H. convergens*. Desta forma, a dose 10 mg de i.a. PBO/mL foi utilizada nos bioensaios. Em seguida, para cada população de *H. convergens*, foram conduzidos testes preliminares utilizando o sinergista na dose determinada, com diluições seriais do inseticida lambda-cialotrina em fator de 10 (dose inicial 1 mg de i.a./mL), a fim de determinar o intervalo de doses ocasionando 0 a 100% de mortalidade. Nos bioensaios da herança da resistência, os testes preliminares foram realizados

com o lambda-cialotrina na ausência do sinergista PBO. Nos bioensaios do sinergismo e de herança foram utilizadas no mínimo cinco doses de lambda-cialotrina, e a testemunha foi tratada somente com a dose 10 mg de i.a. PBO/mL e acetona, respectivamente.

O bioensaio foi realizado duas vezes para cada população ou progênie de *H. convergens*. Em cada bioensaio, foram utilizados no mínimo 20 insetos adultos com 8 a 10 dias de idade por dose avaliada. A aplicação das doses, previamente determinadas, foi realizada com a deposição de 0,5µl da respectiva dose na parte ventral do abdome dos insetos, utilizando seringa de Hamilton 25µL. Os insetos após serem tratados foram acondicionados em placas de Petri (12 x 1,5cm), forrados com papel de filtro. No interior da placa foi colocado um recipiente de 5mL contendo um chumaço de algodão umedecido em mel a 10% como fonte de umidade e complemento alimentar. Em seguida, as placas de Petri contendo os insetos foram mantidas em câmaras climáticas tipo B.O.D., com temperatura regulada a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14h. Nos bioensaios de herança e sinergismo, o *knockdown* e a mortalidade foram avaliados após 2 e 24h da exposição ao produto, respectivamente, sendo considerado apresentando *knockdown* ou mortos, os indivíduos que não eram capazes de voltar a posição normal quando colocado de ventre para cima nos respectivos intervalos de avaliação.

Ligação ao Sexo em *Hippodamia convergens*. Neste estudo, foram utilizados adultos de *H. convergens* oriundos da população suscetível (Hc-CA) e da população resistente ao lambda-cialotrina (Hc-GA). Para investigar se a resistência a este inseticida é herdada autossomicamente ou é ligada ao sexo, foram conduzidos cruzamentos recíprocos entre machos (n=30) e fêmeas (n=30) virgens das duas populações, com o intuito de obter insetos de dois tipos de heterozigotos (progênie F₁): SR (♂ S x ♀ R) e RS (♂ R x ♀ S). Para a realização dos cruzamentos recíprocos, as fêmeas e os machos virgens dos parentais foram mantidos em caixas plásticas tipo cubo,

conforme descritas anteriormente, para permitir livre escolha de parceiro. Cada população de heterozigotos (SR e RS) foi mantida isoladamente visando à obtenção de adultos para realizar os bioensaios referentes às curvas de dose-mortalidade.

Para verificar a ligação ao sexo ou influencia maternal, bem como determinar se a resistência é monofatorial ou polifatorial, machos virgens de *H. convergens* (n=30) de cada progênie F₁ (SR e RS) foram retrocruzados com fêmeas virgens das populações parentais (n=30), produzindo quatro retrocruzamentos: BC1 (♂ F₁ SR x ♀ R); BC2 (♂ F₁ RS x ♀ R); BC3 (♂ F₁ SR x ♀ S); e BC4 (♂ F₁ RS x ♀ S). Desta forma, adultos das progênies F₁ e das populações parentais foram acasalados em caixas plásticas, conforme descrito para os cruzamentos recíprocos. A população obtida a partir do retrocruzamento foi mantida separadamente para ser utilizada nos bioensaios para a obtenção da curva de dose-mortalidade.

Dominância em função da dose do Lambda-cialotrina. Neste experimento, foram utilizados adultos com 8 a 10 dias de idade das populações Hc-CA (n=24), Hc-GA (n=24), F₁ SR (n=24) e F₁ RS (n=24) por dose de lambda-cialotrina testada. Cinco doses previamente estabelecidas, correspondentes a 0,001; 0,01; 0,1; 0,5; e 1,0 mg de i.a. lambda-cialotrina/mL em grau técnico, foram aplicadas em diferentes grupos de joaninhas de cada população, conforme descrito nos bioensaios de dose-mortalidade. O *knockdown* e a mortalidade de adultos de *H. convergens* para as cinco doses foram avaliados após 2 e 24h da exposição ao lambda-cialotrina, respectivamente.

Varição Genética nas Populações Suscetível e Resistente de *Hippodamia convergens*. Para avaliar a presença de variação genética nas populações parentais, foram realizados experimentos utilizando adultos com 8 a 10 dias de idade, provenientes de casais individuais (n=5) das populações Hc-CA e Hc-GA, das progênies F₁ SR e RS, e de quatro retrocruzamentos. Desta forma, cada casal correspondeu a uma família da população ou progênie analisada. Neste

experimento, foi utilizada a dose discriminatória para indivíduos homozigotos dominantes, correspondente a 0,5 mg de i.a. lambda-cialotrina/mL, seguindo o procedimento descrito nos bioensaios de determinação da curva de dose-mortalidade. Para cada família, 30 adultos foram submetidos ao tratamento com o lambda-cialotrina, divididos em grupos de 10. O grupo controle foi tratado somente com acetona. A ocorrência de *knockdown* e mortalidade de adultos de *H. convergens* foi avaliada após 2 e 24h da exposição ao produto, respectivamente.

Análises. O número de indivíduos apresentando *knockdown*, mortos ou vivos nos bioensaios de herança da resistência e sinergismo foi registrado para a determinação da DK_{50} e DL_{50} de cada população ou progênie estudada, através da análise de Probit (Finney 1971), utilizando o programa Polo PC (LeOra Software 1987). Testes de paralelismo e igualdade entre as curvas de dose-mortalidade calculadas foram interpretados pelo teste de qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade. As razões de resistência (RR_{50}) nos bioensaios de herança foram calculadas pela relação das DK_{50s} ou DL_{50s} da população resistente, progênies e retrocruzamentos de *H. convergens* em função da população suscetível. As razões de sinergismo (RS_{50}) foram obtidas utilizando a DK_{50} ou DL_{50} estimada para cada população de *H. convergens* quando aplicado somente o lambda-cialotrina e este associado aos sinergista PBO. Já as razões de toxicidade dos bioensaios de sinergismo (RR_{50}) foram calculadas entre as populações resistente (Hc-GA) e suscetível (Hc-CA) quando aplicado ou não o sinergista. As RR_{50s} e RS_{50s} , bem como os respectivos intervalos de confiança ($IC_{95\%}$) foram calculados pelo método descrito por Robertson & Preisler (1992), sendo que estas razões foram consideradas significativas, quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1.

As hipóteses que a herança da resistência ao lambda-cialotrina em *H. convergens* é autossômica ou ligada ao sexo foram testadas a partir das curvas de dose-mortalidade obtidas para

adultos das progênes F_1 SR e F_1 RS. A partir da DL_{50} estimada para a progênie F_1 (SR e RS) e para as populações parentais suscetível (Hc-CA) e resistente (Hc-GA), o grau de dominância da resistência foi estimado através do método descrito por Stone (1968): $D = [(2 \theta_3 - \theta_2 - \theta_1) / (\theta_2 - \theta_1)]$. Onde, D = grau médio de dominância; $\theta_1 = \log_{10} (DK_{50})$ ou (DL_{50}) da população suscetível; $\theta_2 = \log_{10} (DK_{50})$ ou (DL_{50}) da população resistente; e $\theta_3 = \log_{10} (DL_{50})$ ou (DK_{50}) da população heterozigota (progênie F_1). Assim, se $D = 1$, indica dominância completa; $0 < D < 1$, indica dominância incompleta; $-1 < D < 0$, indica recessividade incompleta; e $D = -1$, indica recessividade completa. O erro padrão do grau de dominância foi calculado utilizando a fórmula descrita por Lehmann (1966), e interpretado segundo Preisler *et al.* (1990).

O número mínimo de fatores (n_E) influenciando a resistência foi obtido através do método de Lande (1981), utilizando a fórmula: $n_E = (\theta_2 - \theta_1)^2 / 8\sigma_s^2$, onde θ_1 e θ_2 correspondem ao $\log_{10} (DK_{50})$ ou (DL_{50}) da população suscetível e resistente, respectivamente. O valor de σ_s^2 calculado através da fórmula: $\sigma_s^2 = [\sigma_{rc1}^2 + \sigma_{rc2}^2 - (\sigma_{F1}^2 + 0,5 \sigma_1^2 + 0,5 \sigma_2^2)]$, onde σ_{rc1}^2 , σ_{rc2}^2 , σ_{F1}^2 , σ_1^2 e σ_2^2 correspondem às variâncias das progênes retrocruzadas com a população suscetível e resistente, da progênie F_1 , e das populações suscetível e resistente, respectivamente. O número mínimo de genes foi estimado separadamente para cada progênie F_1 de *H. convergens* e seu respectivo retrocruzamento.

A dominância em função da dose (h) foi calculada a partir da fórmula descrita por Hartl (1992): $h = (w_{12} - w_{22}) / (w_{11} - w_{22})$, onde w_{11} , w_{12} e w_{22} correspondem ao desempenho calculado para indivíduos homozigotos dominantes, heterozigotos e homozigotos recessivos, respectivamente. Para os indivíduos homozigotos dominantes, o fitness foi definido como 1. Já o fitness para heterozigotos e homozigotos recessivos foi obtido pela relação entre a sobrevivência observada dos adultos da progênie F_1 agrupado ou da população suscetível (Ec-FM) e a

sobrevivência observada dos adultos da população resistente (Ec-Vi). Os valores de h variam entre 0 (recessividade completa) e 1 (dominância completa). Se h corresponde a 0,5 (codominante ou aditivo) ou está entre $0 < h < 0,5$ (recessividade incompleta) e $0,5 < h < 1$ (dominância incompleta).

Para avaliar a variação genética nas populações parentais, os dados de *knockdown* e de mortalidades observados foram corrigidos em função do número de machos e fêmeas de *H. convergens*. O ajuste das proporções observadas de *knockdown* e mortalidade para cada família, e entre as famílias (homogeneidade das famílias e ausência de variação genética) em cada população, progênie ou retrocruzamentos foi testado para o aceite da hipótese nula, com base nas proporções esperadas de herança ligada ao cromossomo X (Sokal & Rohlf 1981). Conforme modelo de herança e recessividade demonstrada na dose discriminatória (0,5 mg de i.a. lambda-cialotrina/mL), os testes de ajuste foram conduzidos para a progênie F1 SR e o retrocruzamento BC2. Os testes de ajuste não foram realizados para as famílias da população suscetível (Hc-CA), da progênie F1 RS e de seus respectivos retrocruzamentos (BC3 e BC4), porque as proporções de *knockdown* e mortalidade observadas foram similares àquelas esperadas para todas as famílias (1,00). Também, para a população resistente (Hc-GA) e retrocruzamento BC1, as proporções esperadas (0,00) não permitiram testar o seu ajuste às proporções observadas.

Resultados

Toxicidade do Lambda-cialotrina e Sinergismo do PBO para as Populações Parentais. Os dados de *knockdown* e mortalidade para toxicidade e sinergismo assumiram o modelo de Probit ($P > 0,05$), enquanto que as curvas de dose-mortalidade não assumiram paralelismo e igualdade ($P < 0,05$). Em relação à toxicidade do lambda-cialotrina, as DK_{50s} e DK_{90s} estimadas para as

populações suscetível (Hc-CA) e resistente (Hc-GA) foram correspondentes à 0,001 e 0,297; e 0,004 e 1,636 mg/mL, respectivamente, produzindo razão de resistência de 286,75 e 461,16 vezes para as DK_{50} e DK_{90} , respectivamente (Tabela 1). Já as DL_{50s} e DL_{90s} para as populações acima citadas foram de 0,004 e 0,816; e 0,015 e 4,595 mg/mL, respectivamente, com razão de resistência correspondente à 220,03 e 308,00 vezes para as DL_{50} e DL_{90} , respectivamente (Tabela 1).

Em relação ao sinergismo, foi observado que ao utilizar o PBO as estimativas de DK e DL foram similares para ambas as populações Hc-Ca e Hc-GA (Tabela 2). As DK_{50s} e DK_{90s} para as populações suscetível (Hc-CA) e resistente (Hc-GA) foram de 0,0006 e 0,043; e 0,002 e 0,327 mg de i.a. de lambda-cialotrina + PBO/mL, respectivamente. Já as DL_{50s} e DL_{90s} para as populações acima citadas foram de 0,0007 e 0,047; e 0,002 e 0,309 mg de i.a. de lambda-cialotrina + PBO/mL, respectivamente (Tabela 2). Entretanto, as estimativas de DK e DL utilizando o PBO foram inferiores às estimativas obtidas somente com o lambda-cialotrina. Desta forma, as razões de sinergismo da DK_{50} e DK_{90} foram de 1,62 e 6,94; e 1,82 e 5,00 vezes para as populações Hc-CA e Hc-GA, respectivamente. Para as DL_{50} e DL_{90} , as razões de sinergismo foram de 5,53 e 17,24; e 9,10 e 14,84 vezes, respectivamente. Também, foi observado que independente dos dados serem referentes à DK_{50} e DL_{50} a razão de resistência sinergizada ao utilizar o PBO foi de aproximadamente 70,0 vezes (Tabela 2). Se considerarmos às DK_{90} e DL_{90} , as razões de resistência sinergizadas foram de aproximadamente 180 vezes.

Ligação ao Sexo em *Hippodamia convergens*. Os dados de *knockdown* e de mortalidade obtidos nos bioensaios assumiram o modelo de Probit ($P > 0,05$), com exceção para os dados de mortalidade da progênie F1 SR ($P < 0,05$). Para as progênies F1 RS e F1 SR, as DK_{50s} foram de 0,003 e 0,012 mg/mL, enquanto que as DK_{90s} foram correspondentes à 0,019 e 0,182 mg/mL,

respectivamente (Tabela 1). Ao considerar a DK_{50} , não houve diferença significativa entre as progênes F1 [$RR_{50(IC95\%)}: 4,54 (0,89-23,12)$]. Entretanto, o mesmo não foi observado quando analisada a DK_{90} [$RR_{90(IC95\%)}: 9,56 (3,94-23,21)$]. Para DK_{50} , o grau de dominância variou de -0,66 a -0,13. Contudo, as diferenças nas estimativas de DK_{90} produziram graus de dominância variando de -0,48 a 0,27. Quando observado os retrocruzamentos BC1 e BC2, a DK_{50} e DK_{90} apresentaram padrões de resposta semelhante à população resistente. Entretanto, os retrocruzamentos BC3 e BC4 produziram padrão de resposta para suscetibilidade, apesar de apresentarem diferenças significativas pelo método de Robertson & Preisler (1992) (Tabela 1).

Para as progênes F1 (RS e SR), as DL_{50s} foram correspondentes à 0,026 e 0,194 mg/mL, enquanto que a DL_{90} foi de 0,100 e 2,423 mg/mL, respectivamente (Tabela 2). Independente da estimativa analisada (DL_{50} ou DL_{90}) houve diferença significativa entre as progênes F1 (RS e SR) [$RR_{50(IC95\%)}: 7,44 (4,48-12,35)$; e $RR_{90(IC95\%)}: 24,11 (8,56-67,87)$]. Para a DL_{50} , o grau de dominância variou de -0,28 a 0,47, enquanto que para a DL_{90} variou de -0,34 a 0,78 (Tabela 2). Quando observado os retrocruzamentos BC1 e BC2, a DL_{50} e a DL_{90} apresentaram padrões de resposta semelhante à população resistente. Porém, os retrocruzamentos BC3 e BC4 produziram padrão de resposta para suscetibilidade, apesar de apresentarem diferenças significativas pelo método de Robertson & Preisler (1992) (Tabela 2).

Dominância em Função da Dose do Lambda-cialotrina. A resistência foi funcionalmente dominante ($h = 1,0$) na menor dose utilizada, correspondente a 0,001 mg/mL, para ambos os cruzamentos recíprocos, nos diferentes intervalos após a aplicação do inseticida (Tabelas 3 e 4). Entretanto, a recessividade da resistência variou entre as progênes F1 (SR e RS), bem como entre os intervalos de avaliação. Para a progênie F1 RS, a resistência foi funcionalmente recessiva ($h = 0,0$), quando foram aplicadas as doses 0,1 e 1,0 mg/mL, após 2 e 24h da aplicação do produto,

respectivamente (Tabelas 3 e 4). Esta resposta somente foi observada para a progênie F1 SR ($h = 0,0$), quando foi avaliada a dose 1,0 mg/mL após 2h da aplicação do inseticida (Tabela 3). Após 24h, a progênie F1 SR apresentou dominância efetiva (h) variando de 0,32 a 0,50, para doses entre 0,1 a 1,0 mg/mL (Tabela 4).

Número Mínimo de Fatores Influenciando a Resistência em *Hippodamia convergens*. O número mínimo de genes influenciando a resistência ao lambda-cialotrina em *H. convergens* foi de -4,39 e 0,74 quando foram analisados os dados de *knockdown* do F1 SR e F1 RS e seus respectivos retrocruzamentos, respectivamente. Quando foram analisados os dados de mortalidade, as estimativas variaram de -1,23 e 3,73 genes nas mesmas condições.

Variação Genética nas Populações Suscetível e Resistente de *Hippodamia convergens*. Dos cinco casais formados da população Hc-GA e da progênie F1 SR, somente quatro casais produziram descendentes. Desta forma, somente quatro casais foram formados para os retrocruzamentos BC1 e BC3. Dois casais da população Hc-GA e um casal do retrocruzamento BC3 produziram descendentes com mortalidade larval ~50%. Então, novas posturas foram coletadas destes casais. Entretanto, somente um casal de Hc-GA produziu posturas viáveis, com mesmo padrão de mortalidade larval, não tendo adultos (mínimo de 30 adultos) destas famílias para serem testados. Os dados de *knockdown* e mortalidade indicam que machos utilizados para formação dos casais da população Hc-GA não foram suscetíveis ($X^S y$). A variação genética numericamente verificada nesta população é referente à proporção de adultos suscetíveis produzidos por casais de fêmea heterozigota ($X^R X^S$) e macho resistente ($X^R y$) (Tabelas 7 e 8). Também, as famílias da população suscetível (Hc-CA), da progênie F1 RS e de seus respectivos retrocruzamentos (BC3 e BC4) não evidenciaram variação na resposta quanto à proporção de adultos suscetíveis produzidos (1,0) (Tabelas 7 e 8). As famílias de F1 SR foram similares entre si

em função do *knockdown* ($\chi^2 = 1,59$, GL = 3, P = 0,6611) e da mortalidade ($\chi^2 = 6,37$, GL = 3, P = 0,0948). Também, a proporção de *knockdown* e mortalidade observada foram significativas em três das quatro famílias (Tabelas 7 e 8), evidenciando variação genética em função do *knockdown* ($\chi^2 = 30,00$, GL = 4, P < 0,0001) e da mortalidade ($\chi^2 = 25,35$, GL = 4, P < 0,0001). Em relação ao retrocruzamento BC2 foi observada variação genética entre as famílias [*knockdown* ($\chi^2 = 26,55$, GL = 5, P < 0,0001); mortalidade ($\chi^2 = 41,40$, GL = 5, P < 0,0001)]. A proporção de *knockdown* observada foi diferenciada em duas das cinco famílias (Tabela 7), o que não ficou evidenciado quando analisado os dados de mortalidade (Tabela 8). Independente dos resultados individuais, não foi observada diferença entre as famílias de BC2 [*knockdown* ($\chi^2 = 4,63$, GL = 4, P = 0,3277); mortalidade ($\chi^2 = 0,22$, GL = 4, P = 0,9942)]. Para o retrocruzamento BC1, os dados indicam diferença em função da proporção esperada, como consequência da variação genética confirmada nos seus parentais (Hc-GA e F1 SR).

Discussão

Considerando os resultados de *knockdown* (DK₅₀) para as progênes F1, a herança de *H. convergens* para resistência ao lambda-cialotrina pode ser considerada autossomal e incompletamente recessiva. Entretanto, as estimativas da DK₉₀ para estas progênes indicam herança ligada ao sexo. Se avaliarmos a herança da resistência ao lambda-cialotrina com base na mortalidade, as estimativas da DL das progênes F1 indicam resistência também ligada ao sexo. Para a progênie F1 SR, ao utilizar como parâmetros a DK₉₀ e as DLs, a resistência é incompletamente dominante, enquanto que para a progênie F1 RS a resistência é incompletamente recessiva. Diferentes fatores podem contribuir para este padrão de resposta, dentre eles a presença de heterozigotos na população parental, causando variação genética nos cruzamentos recíprocos,

indicado pela estimativa da inclinação da reta ($\sim 1,0$) (Robertson *et al.* 2007). Também, não se pode desconsiderar diferenças genéticas das duas populações estudadas que podem ter influenciado os resultados. Desta forma, faz-se necessário analisar parâmetros adicionais, a fim de inferir o modo de herança da resistência ao lambda-cialotrina em *H. convergens*.

A joaninha *H. convergens* apresenta fórmula diplóide $2n = 18$ autossomos + XX para fêmeas, $2n = 18$ autossomos + Xyp para machos (Smith 1960). O cromossomo y é representado pela letra minúscula, visto que apresenta tamanho reduzido quando comparado ao cromossomo X. Desta forma, o “Xy” designa o mecanismo cromossômico heterogamético de determinação sexual e o “p” representa o tipo de associação dos cromossomos bivalentes sexuais na metáfase I (Smith 1950). Esta espécie apresenta sistema sexual ortodoxo aquiasmático, com meiose atípica em machos, provavelmente pelo grau de compactação e tamanho reduzido do bivalente sexual (White 1973). A associação entre os cromossomos sexuais é peculiar, do tipo “para-quedas”, formado pelo cromossomo X e o “para-quedista” y (Smith 1950). Assim, para analisar a ocorrência de herança ligada ao sexo em *H. convergens*, o sistema de determinação sexual deve ser considerado, em função da ausência de crossing-over entre os cromossomos sexuais.

Tendo por base os resultados obtidos nos retrocruzamentos, a hipótese do modo de herança ligada ao sexo pode ser aceita, visto que as estimativas da DK e DL do retrocruzamento BC1 ($\sigma^{\text{F1 SR}} \times \text{♀ Hc-GA}$) deveriam ser semelhantes a Hc-GA; enquanto que do retrocruzamento BC2 ($\sigma^{\text{F1 RS}} \times \text{♀ Hc-GA}$) similar ao F1 SR; BC3 ($\sigma^{\text{F1 SR}} \times \text{♀ Hc-CA}$) semelhante ao F1 RS; e BC4 ($\sigma^{\text{F1 RS}} \times \text{♀ Hc-CA}$) com resposta similar à Hc-CA. Somente o retrocruzamento BC2 e BC4 apresentaram DK e DL significativas, respectivamente. Entretanto, houve possível influência de variação genética nestas estimativas (Tabashnik 1991) ou variação natural como consequência da realização de experimentos em diferentes gerações (Robertson *et al.* 1995). Também, os

experimentos com casais individuais utilizando a dose discriminatória (0,5 g de i.a. lambda-cialotrina/L) demonstraram claro efeito de ligação ao sexo na herança da resistência, tanto para DK quanto para DL. Adicionalmente, os dados obtidos indicam que machos com um cromossomo X^R apresentam fenótipo semelhante à fêmea $X^R X^R$. Este resultado demonstra possível compensação de dose em machos de *H. convergens*, como observado para fêmeas de *Helicoverpa armigera* (Fabr.) (Lep.: Noctuidae) (Daly & Fisk 1998). Vale ressaltar que as estimativas do número de genes com base na DK e DL sugerem que a herança da resistência ao lambda-cialotrina em *H. convergens* é ligada ao sexo. Segundo Lande (1981), padrões de herança sexual têm a capacidade de modificar as variâncias fenotípicas apresentadas pelas populações e progênes, que são fundamentais para estimar o número de genes. Tal mudança do padrão não permite estimar corretamente o número de genes influenciando a resposta analisada (ex., valores negativos para uma das progênes F1), bem como produzindo número de genes subestimados (ex., valores próximos a zero), como foi observado neste estudo.

A herança da resistência de *H. convergens* ao lambda-cialotrina, baseando-se nos resultados de *knockdown*, pode ser considerada recessiva. Assim, a diferença no grau de dominância quando a resposta foi ligada ao sexo, não é relacionada à sobrevivência de heterozigotos na progênie F1 SR (dominante) e mortalidade de heterozigotos na progênie F1 RS (recessiva) (Bourguet *et al.* 2000). Esta diferença é resultante do padrão de mortalidade entre os descendentes produzidos na progênie F1 SR quando comparada à progênie F1 RS. Descendentes machos provenientes da progênie F1 SR seriam resistentes ($X^R y$), enquanto que as descendentes fêmeas não ($X^R X^S$). Já para a progênie F1 RS, ambos os machos ($X^S y$) e as fêmeas ($X^R X^S$) seriam suscetíveis. Desta forma, a presença de machos resistentes na F1 SR produz acréscimo na DK, conseqüentemente

gerando graus de dominância diferenciados para cada progênie dos cruzamentos recíprocos, dependendo da magnitude da resposta dos indivíduos resistentes.

Os dados de mortalidade da progênie F1 SR não assumiram o modelo de Probit. A presença de variação genética nesta progênie foi confirmada, estando relacionada à presença de fêmeas $X^R X^S$ na população Hc-GA. Entretanto, este pode não ser o único fator contribuindo para o resultado. Isto porque mesmo com variação genética, os dados de DK da progênie F1 SR assumiram o modelo de Probit. Fato observado durante os experimentos da curva de dose-mortalidade e confirmado no experimento de casais individuais é que alguns indivíduos desta progênie, bem como da população Hc-GA, apresentaram recuperação dos sintomas após 24h. Os resultados do experimento de casais individuais demonstram que o gene influenciando esta recuperação também pode ser ligado ao sexo, uma vez que adultos da progênie F1 RS e fêmeas da progênie F1 SR não recuperaram após 24h. Entretanto, o grau de dominância não pode ser determinado com segurança, uma vez que a dose utilizada no experimento de casais individuais pode ter produzido herança funcionalmente recessiva. Assim, existe indicativo da presença de genes ligados no cromossomo sexual X, produzindo diferentes mecanismos de resistência. Apesar de não terem sido testados experimentalmente, podemos indicar o envolvimento da insensibilidade de sítio-alvo (que poderia ser confirmado através de estudos de resistência cruzada ao DDT e outros piretróides) e a associação deste a um possível mecanismo detoxificativo após 24h, como fatores influenciando a resistência ao lambda-cialotrina em *H. convergens*. Resultado deste tipo tem sido observado em outros estudos que têm registrado casos de resistência envolvendo diferentes mecanismos de resistência à piretróides (Roush *et al.* 1986, McDonald & Schmidt 1987; Payne *et al.* 1988). Entretanto, devemos ter cautela ao interpretar os dados, uma

vez que os experimentos para determinação das curvas de dose-mortalidade e de casais individuais foram realizados em momentos distintos.

Neste estudo, a atuação do metabolismo como fator de resistência em *H. convergens* foi testada através da resposta obtida quando utilizado o sinergista butóxido de piperonila (PBO). Podemos observar que a DK e a DL foram significativamente reduzidas para as populações Hc-CA e Hc-GA, quando o lambda-cialotrina foi associado a este sinergista. Tal padrão pode ter sido resultante do aumento da taxa de penetração do inseticida através da cutícula, como foi observado para *H. armigera* quando tratada com o inseticida piretróide esfenvarelato, e conseqüentemente, causando a redução das estimativas da DK e DL (Gunning *et al.* 1995). Também, a recuperação de sintomas após 24h da aplicação dos produtos não ocorreu quando comparada à aplicação somente do lambda-cialotrina (na ordem de três vezes), fato que foi indicado pela similaridade das estimativas de DK e DL. Outro ponto importante é que a resistência na população Hc-GA não foi completamente suprimida pelo butóxido de piperonila, apesar da dose de sinergista utilizada ser suficiente para suprimir a recuperação de sintomas após 24h. Por outro lado, devemos enfatizar a importância destes resultados que apresentam o potencial em triplicar o nível de resistência em *H. convergens*, em função da atuação de enzimas detoxificativas.

Devemos considerar que ao utilizar fêmeas heterozigotas ($X^R X^S$) no cruzamento recíproco F1 SR, descendentes machos suscetíveis ($X^S y$) podem ser produzidos. A presença destes machos na progênie F1 SR, que não é o padrão esperado, pode gerar estimativas de DL subestimadas, permitindo erroneamente denominar a herança da resistência como autossomal. Fato que ocorreu ao estudar a herança da resistência ao granulovírus (CpGV) (Baculoviridae) em uma população heterogênea de *C. pomonella* (Eberle & Jehle 2006). E, que ficou demonstrado com experimentos de casais individuais após seleção em laboratório (Asser-Kaiser *et al.* 2007), e também, a partir de

experimentos conforme realizado neste estudo (Asser-Kaiser *et al.* 2010). Entretanto, estimativas inferiores da inclinação da reta para um dos cruzamentos recíprocos (Eberle & Jehle 2006), já sugeriam a influência de genes ligados ao cromossomo sexual em *C. pomonella* (Asser-Kaiser *et al.* 2010).

Estudos prévios têm revelado herança recessiva da resistência quando utilizados inseticidas piretróides em diferentes grupos de insetos. Por exemplo, para *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) (Halliday & Georghiou 1985), *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) (Roush *et al.* 1986), *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) (Liu & Scott 1995), *Heliothis virescens* (Fabr.) (Lepidoptera: Noctuidae) (Payne *et al.* 1988), *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) (Liu *et al.* 1981), *H. armigera* (Tan & McCaffery 1999), *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae) (Guedes *et al.* 1994), *C. pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) (Bouvier *et al.* 2001). Entretanto, poucos são os casos de resistência ligada ao sexo considerando diferentes grupos de inseticidas: *C. quinquefasciatus* (McDonald & Schmidt 1987), *S. zeamais* (Guedes *et al.* 1994), *H. armigera* (Daly & Fisk 1998), *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) (Kanga *et al.* 2001), *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) (Follet *et al.* 1995), *C. pomonella* (Asser-Kaiser *et al.* 2007).

A dominância efetiva demonstra que quando são utilizadas doses elevadas de lambda-cialotrina, a resistência é funcionalmente recessiva permitindo a sobrevivência dos indivíduos homozigotos resistentes, enquanto que ao serem utilizadas doses inferiores deste inseticida, a resistência pode ser classificada como funcionalmente dominante, um padrão também observado em outros estudos (Liu & Tabashnik 1997, Sayyed *et al.* 2000, Zhao *et al.* 2000, Alves *et al.* 2006, Balasubramani *et al.* 2008, Sayyed *et al.* 2008, Shad *et al.* 2010). Sabe-se que a dominância não indica uma propriedade intrínseca de um alelo (Sved & Mayo 1970), visto que a sua

expressão é variável em relação à dose utilizada (Bourguet *et al.* 2000). Assim, se uma dose é suficientemente alta para matar todos os indivíduos heterozigotos, uma resistência dominante pode se tornar funcionalmente recessiva, como foi definido por Curtis *et al.* (1978). Por outro lado, se doses baixas são utilizadas permitindo a sobrevivência de heterozigotos resulta em resistência funcionalmente dominante. Apesar da progênie F1 SR não apresentar numericamente resposta funcionalmente recessiva nas maiores doses de lambda-cialotrina utilizadas, esta resposta pode ter sido resultante da influencia da herança sexual, que produz machos X^Ry.

A herança da resistência para a população de *H. convergens* indica ligação sexual, recessiva. Provavelmente, o principal mecanismo de resistência está relacionado à insensibilidade de sítio-alvo, i.e, resistência do tipo-kdr, com a participação de enzimas detoxificativas, esterases ou monooxigenases de função mista, que foram inibidas pelo PBO. Desta forma, os resultados aqui obtidos diferem dos encontrados para *Eriopsis connexa* (Germar) (Cap. 3). Em *E. connexa* o modo de herança é autossomal, incompletamente dominante para a resistência ao lambda-cialotrina, e que foi totalmente inibido pelo sinergista PBO.

O modo da herança e os possíveis mecanismos envolvidos na resistência de *H. convergens* podem ser explicados, observando o histórico de aplicação de inseticidas sintéticos para controle de pragas na cultura do algodoeiro na Geórgia, EUA. Na década de 50, o DDT foi amplamente utilizado para controle de *Anthonomus grandis* (Boh.), *Heliothis* spp. e *Helicoverpa* spp., principais pragas da cultura do algodoeiro (Anônimo 1950). Com a detecção de populações de *A. grandis* resistentes e a disponibilidade de organofosforados no mercado, o DDT foi sendo substituído para o controle desta praga (Anônimo 1958). Em 1961, o DDT ainda era indicado para controle de adultos de *A. grandis* em diapausa, entretanto durante o desenvolvimento da cultura, este deveria ser aplicado em associação ao toxafeno ou organofosforados (Anônimo 1961). O

regime de aplicação dos organofosforados (em intervalo de cinco dias), aliado ao amplo espectro de ação do DDT, contribuía com grande impacto na população de inimigos naturais, surto de pragas secundárias e resistência em diferentes insetos-praga na cultura do algodoeiro (Newson & Smith 1949, Gaines 1954, Haney *et al.* 2009). A detecção de resistência em populações de *H. virescens* e *H. zea* (Canerday 1974), provavelmente estimulou a adoção de inseticidas piretróides na Geórgia na década de 80 (Lambert 1981). Independente do grupo do inseticida, a ocorrência de *A. grandis* na cultura do algodoeiro forçava as aplicações de inseticidas de amplo espectro de ação serem iniciadas quando os primeiros botões florais eram formados, produzindo grande impacto na população de inimigos naturais (Haney *et al.* 2009). Desta forma, o histórico de utilização de DDT, organofosforados e piretróides para o controle de pragas, pode ter contribuído para seleção de populações da joaninha predadora *H. convergens* resistentes em campo. Este padrão de utilização de inseticidas corrobora com a insensibilidade do sítio-alvo e a participação de enzimas destoxicativas como mecanismo principal de resistência. Mesmo tendo sido diminuída consideravelmente a aplicação de inseticidas após o programa de erradicação de *A. grandis* e a introdução de cultivares transgênicas de algodoeiro para o controle de lagartas desfolhadoras (Betz *et al.* 2000, Haney *et al.* 2009), a necessidade de aplicação de piretróides e organofosforados ainda persiste para o controle de percevejos pentatomídeos (Greene *et al.* 2001). Desta forma, a menor frequência de aplicação de inseticidas piretróides e organofosforados pode reduzir o efeito negativo causado por estes produtos na densidade populacional de *H. convergens*, e assim, permitir manutenção de genes de resistência, aliada à provável estabilidade de resistência geralmente relatada a inseticidas piretróides.

Ao contrário do que é observado em heranças autossomais, mesmo em baixas frequências do alelo de resistência X^R , machos desta espécie poderiam ser resistentes ao lambda-cialotrina,

visto que somente possuem uma cópia deste cromossomo. O conhecimento da influencia de fatores como a frequência inicial de alelos de resistência, o tamanho da população, a razão sexual em campo, custo adaptativo, a ocorrência de dispersão e de múltiplas cópulas nesta espécie são extremamente necessárias para fomentar um melhor entendimento da evolução da resistência em *H. convergens*. Entretanto, resultados iniciais de seleção em laboratório, utilizando a população Hc-GA sugerem rápida evolução da resistência, conforme foi descrito na herança sexual recessiva de *H. armigera* ao endossulfan (Daly & Fisk 1998). Fatores como a alta frequência de alelos de resistência, fêmeas $X^R X^S$ sendo suscetíveis ao lambda-cialotrina, machos requerendo somente um alelo X^R para sobreviver à aplicação do inseticida e, ainda, a interação entre mecanismos de resistência, que tem potencial para permitir a sobrevivência de indivíduos suscetíveis ao lambda-cialotrina (indivíduos que sofrem *knockdown*) podem favorecer à rápida evolução da resistência em *H. convergens*. Apesar de citar uma possível atuação de diferentes genes influenciando a resistência ao lambda-cialotrina em *H. convergens*, a natureza da interação desses genes não foi estudada. Vale ressaltar que em geral, este tipo de interação é um fator por si só considerado complexo na herança da resistência (Hardstone *et al.* 2009). Assim, estudos enfocando a natureza da interação desses genes, aliada à ocorrência de custo adaptativo para manter os diferentes genes na ausência de aplicação de inseticidas, bem como dos benefícios relacionados à presença dos diferentes mecanismos de resistência devem ser realizados. Para tanto, o papel de cada mecanismo isolado na resistência e as interações entre os diferentes genótipos devem ser considerados, sem deixar de observar a influencia da herança sexual em *H. convergens*.

Agradecimentos

À CAPES pela concessão de bolsa a A.R.S.R. através do Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior (PDEE), sob processo BEX 7095/10-4. À Georgia Cotton Commission

pelo suporte financeiro para execução do projeto. À Melissa Thompson e Michael D. Toews pelo auxílio nas coletas das joaninhas predadoras e obtenção de pulgões em campo. À Karla Gabriela Diaz pela ajuda na manutenção da criação das joaninhas em laboratório.

Literatura Citada

- Alves, A.P., T.A. Spencer, B.E. Tabashnik & B.D. Siegfried. 2006.** Inheritance of resistance to the Cry1Ab *Bacillus thuringiensis* toxin in *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *J. Econ. Entomol.* 99: 494-501.
- Anônimo. 1950.** Cotton insects, p. 318. In Anônimo (ed.), *Georgia agricultural handbook*. Athens, Univ. of Georgia Coop. Ext. Serv. Publ., 583p.
- Anônimo. 1958.** Cotton insects, p. 105-107. In Anônimo (ed.), *Georgia agricultural handbook*. Athens, Univ. of Georgia Coop. Ext. Serv. Publ., 245p.
- Anônimo. 1961.** Cotton insects, p. 172-174. In Anônimo (ed.), *Georgia agricultural handbook*. Athens, GA, Univ. of Georgia Coop. Ext. Serv. Publ., 306p.
- Asser-Kaiser, S., D.G. Heckel & J.A. Jehle. 2010.** Sex linkage of CpGV resistance in a heterogeneous field strain of the codling moth *Cydia pomonella* (L.). *J. Invertebr. Pathol.* 103: 59-64.
- Asser-Kaiser, S., E. Fritsch, K. Undorf-Spahn, J. Kienzle, K.E. Eberle, N.A. Gund, A. Reineke, C.P.W. Zebitz, D.G. Heckel, J. Huber & J.A. Jehle. 2007.** Rapid emergence of Baculovirus resistance in codling moth due to dominant, sex-linked inheritance. *Science* 317: 1916-1918.
- Balasubramani, V., A.H. Sayyed & N. Crickmore. 2008.** Genetic characterization of resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from India. *J. Econ. Entomol.* 101: 1911-1918.
- Betz, F.S., B.G. Hammond & R.L. Fuchs. 2000.** Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 32: 156-173.
- Blümel, S., G.A. Matthews, A. Grinstein & Y. Elad. 1999.** Pesticides in IPM: selectivity, side-effects, application and resistance problems, p. 150-167. In R. Albajes, M.L. Gullino, J.C. van Lenteren & Y. Elad. (eds.), *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 568p.
- Bourguet, D., A. Genissel & M. Raymond. 2000.** Insecticide resistance and dominance levels. *J. Econ. Entomol.* 93: 1588-1595.

- Bouvier, J.C., R. Buès, T. Boivin, L. Boudinhon, D. Beslay & B. Sauphanor. 2001.** Deltamethrin resistance in the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae): inheritance and number of genes involved. *Heredity* 87: 456-462.
- Canerday, T.D. 1974.** Response of bollworm and tobacco budworm in Georgia to methyl parathion. *J. Econ. Entomol.* 67: 299.
- Coats, S.R., J.R. Coats & C.R. Ellis. 1979.** Selective toxicity of three synthetic pyrethroids to eight coccinellids, a eulophid parasitoid, and two pest chrysomelids. *Environ. Entomol.* 8: 720-722.
- Cosme, L.V., G.A. Carvalho & A.P. Moura. 2007.** Efeitos de inseticidas botânico e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 74: 251-258.
- Croft, B.A. & A.W.A. Brown. 1975.** Responses of arthropod natural enemies to insecticides. *Annu. Rev. Entomol.* 20: 285-335.
- Croft, B.A. & J.G. Morse. 1979.** Recent advances in natural enemy-pesticide research. *Entomophaga* 24: 3-11.
- Croft, B.A. 1990.** Pesticide resistance: documentation, p. 357-381. In B.A. Croft (ed.), *Arthropod biological control agents and pesticides*. New York, John Wiley & Sons, 723p.
- Curtis, C.F., L.M. Cook & R.J. Wood. 1978.** Selection for and against insecticide resistance and possible methods of inhibiting the evolution of resistance in mosquitoes. *Ecol. Entomol.* 3: 273-287.
- Daly, J.C. & J.H. Fisk. 1998.** Sex-linked inheritance of endosulfan resistance in *Helicoverpa armigera*. *Heredity* 81: 55-62.
- Desneux, N., A. Decourtye & J.-M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 81-106.
- Dutcher, J.D. 2007.** A review of resurgence and replacement causing pest outbreaks in IPM, p. 27-43. In A. Ciancio & K.G. Mukerji (eds.), *General concepts in integrated pest and disease management*. Dordrecht, Springer, 360p.
- Eberle, K.E. & J.A. Jehle. 2006.** Field resistance of codling moth against *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) is autosomal and incompletely dominant inherited. *J. Invertebr. Pathol.* 93: 201-206.
- Elliott, M. & N.F. Janes. 1978.** Synthetic pyrethroids – a new class of insecticide. *Chem. Soc. Rev.* 7: 473-505.
- Finney, D.J. 1971.** Probit analysis. London, Cambridge University Press, 333p.

- Follet, P.A., F. Gould & G.C. Kennedy. 1995.** High-realism model of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) adaptation to permethrin. *Environ. Entomol.* 24: 167-178.
- Gaines, R.C. 1954.** Effect on beneficial insects of several insecticides applied for cotton insect control. *J. Econ. Entomol.* 543-544.
- Georghiou, G.P. 1972.** The evolution of resistance to pesticides. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 3: 133-168.
- Gould, F. 1998.** Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *Annu. Rev. Entomol.* 43: 701-726.
- Graves, J.B., R.B. Mohamad & D.F. Clower. 1978.** Beneficial insects also developing “resistance”. *LA. Agric.* 22: 10-11.
- Greene, J.K., S.G. Turnipseed, M.J. Sullivan & O.L. May. 2001.** Treatment thresholds for stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.* 94: 403-409.
- Guedes, R.N.C., J.O.G. Lima, J.P. Santos & C.D. Cruz. 1994.** Inheritance of deltamethrin resistance in a Brazilian strain of maize weevil (*Sitophilus zeamais* Mots.). *Int. J. Pest Manag.* 40: 103-106.
- Gunning, R.V., A.L. Devonshire & G.D. Moores. 1995.** Metabolism of esfenvalerate by pyrethroid-susceptible and -resistant Australian *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest. Biochem. Physiol.* 54: 205-213.
- Hagen, K.S. 1962.** Biology and ecology of predacious Coccinellidae. *Annu. Rev. Entomol.* 7: 289-326.
- Halliday, W.R. & G.P. Georghiou. 1985.** Inheritance of resistance to permethrin and DDT in the southern house mosquito (Diptera: Culicidae). *J. Econ. Entomol.* 78: 762-767.
- Haney, P.B., W.J. Lewis & W.R. Lambert. 2009.** Cotton production and the boll weevil in Georgia: history, cost of control, and benefits of eradication. Athens, Univ. of Georgia Coop. Ext. Serv. Publ., 60p. (Research Bulletin 428).
- Hardin, M.R., B. Benrey, M. Coll, W.O. Lamp, G.K. Roderick & P. Barbosa. 1995.** Arthropod pest resurgence: an overview of potential mechanisms. *Crop Prot.* 14: 3-18.
- Hardstone, M.C., C.A. Leichter & J.G. Scott. 2009.** Multiplicative interaction between the two major mechanisms of permethrin resistance, *kdr* and cytochrome P450-monooxygenase detoxification, in mosquitoes. *J. Evol. Biol.* 22: 416-423.

- Head, R., W.W. Neel, C.R. Sartor & H. Chambers. 1977.** Methyl parathion and carbaryl resistance in *Chrysomela scripta* and *Coleomegilla maculata*. Bull. Environ. Cont. Toxicol. 17: 163-164.
- Hodek, I. 1973.** Biology of Coccinellidae. Hague, Prague & W. Junk, 260p.
- Hodek, I. & A. Honěk. 1996.** Ecology of Coccinellidae. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 464p.
- Hull, L.A. & V.R. Starner. 1983.** Impact of four synthetic pyrethroids on major natural enemies and pests of apple in Pennsylvania. J. Econ. Entomol. 76: 122-130.
- Kaakeh, N., W. Kaakeh & G.W. Bennet. 1996.** Topical toxicity of imidacloprid, fipronil, and seven conventional insecticides to the adult convergent lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). J. Entomol. Sci. 31: 315-322.
- Kanga, L.H.B., D.J. Pree, F.W. Plapp Jr. & J.L. van Lier. 2001.** Sex-linked altered acetylcholinesterase resistance to carbamate insecticides in adults of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). Pestic. Biochem. Physiol. 71: 29-39.
- Kumral, N.A., N.S. Gencer, H. Susurluk & C. Yalcin. 2011.** A comparative evaluation of the susceptibility to insecticides and detoxifying enzyme activities in *Stethorus gilvifrons* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Panonychus ulmi* (Acarina: Tetranychidae). Int. J. Acarol. 37: 255-268.
- Lambert, W.R. 1981.** Cotton insect control. p. 39-41. In Anonimo (ed.), The 1981 Georgia farm chemical handbook. Athens, Univ. of Georgia Coop. Ext. Serv. Publ. 390p.
- Lande, R. 1981.** The minimum number of genes contributing to quantitative variation between and within populations. Genetics 99: 541-553.
- Lehmann, E. L. 1966.** Testing statistical hypotheses. New York, Wiley, 369p.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit-Logit analysis. Berkely, Leora Software.
- Lingren, P.D. & R.L. Ridgway. 1967.** Toxicity of five insecticides to several insect predators. J. Econ. Entomol. 60: 1639-1641.
- Liu, M.Y., Y.J. Tzeng & C.N. Sun. 1981.** Diamondback moth resistance to several synthetic pyrethroids. J. Econ. Entomol. 74: 393-396.
- Liu, N. & J.G. Scott. 1995.** Genetics of resistance to pyrethroid insecticides in the housefly, *Musca domestica*. Pestic. Biochem. Physiol. 52: 116-124.

- Liu, T-X. & T.-Y. Chen. 2001.** Effects of the insect growth regulator fenoxycarb on immature *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *Fl. Entomol.* 84: 628-633.
- Liu, Y-B & B.E. Tabashnik. 1997.** Inheritance of Resistance to the *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry1C in the diamondback moth. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2218-2223.
- McDonald, P.T. & C.D. Schmidt. 1987.** Genetics of permethrin resistance in the hornfly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 433-437.
- Moffit, H.R., E.W. Anthon & L.O. Smith. 1972.** Toxicity of several commonly used orchard pesticides to adult *Hippodamia convergens*. *Environ. Entomol.* 1: 20-23.
- Newson, L.D. & C.E. Smith. 1949.** Destruction of certain insect predators by applications of insecticides to control cotton pests. *J. Econ. Entomol.* 42: 904-908.
- Obrycki, J.J. & T.J. Kring. 1998.** Predaceous Coccinellidae in biological control. *Annu. Rev. Entomol.* 43: 295-321.
- Obrycki, J.J., J.D. Harwood, T.J. Kring & R.J. O'Neil. 2009.** Aphidophagy by Coccinellidae: Application of biological control in agroecosystems. *Biol. Control* 51: 244-254.
- Orr, D. 2009.** Biological control and integrated pest management, p. 201-239. In R. Peshin & A.K. Dhawan (eds.), *Integrated pest management: innovation-development process*. Dordrecht, Springer, 690p.
- Pasqualini, E. & C. Malavolta. 1985.** Possibility of natural limitation of *Panonychus ulmi* (Koch) (Acarina: Tetranychidae) on apple in Emilia-Romagna. *Boll. Ist. Entomol. "Guido Grandi" Stud. Bologna* 39: 221-230.
- Pathan, A.K., A.H. Sayyed, M. Aslam, M. Razaq, G. Jilani & M.A. Saleem. 2008.** Evidence of field-evolved resistance to organophosphates and pyrethroids in *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), *J. Econ. Entomol.* 101: 1676-1684.
- Pathan, A.K., A.H. Sayyed, M. Aslam, T.-X. Liu, M. Razzaq & W.A. Gillani. 2010.** Resistance to pyrethroids and organophosphates increased fitness and predation potential of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol.* 103: 823-834.
- Payne, G.T., R.G. Blenk & T.M. Brown. 1988.** Inheritance of permethrin resistance in the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 81: 65-73.
- Plapp, F.W. & D. L. Bull. 1978.** Toxicity and selectivity of some insecticides to *Chrysopa carnea*, a predator of the tobacco budworm. *Environ. Entomol.* 7: 431-434.

- Pree, D.J., D.E. Archibald & R.K. Morrison. 1989.** Resistance to insecticides in the common green lacewing *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) in Southern Ontario. *J. Econ. Entomol.* 82: 29-34.
- Preisler, H.K., M.A. Hoy & J.L. Robertson. 1990.** Statistical analysis of modes of inheritance for pesticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 83: 1649-1655.
- Riddick, E.W., G. Dively & P. Barbosa. 2000.** Season-long abundance of generalist predators in transgenic versus non-transgenic potato fields. *J. Entomol. Sci.* 35: 349-359.
- Roberts, P.M., J.R. Ruberson & M. Tows. 2011.** Cotton, p. 64-101. In P. Guillebau (ed.), Georgia pest management handbook 2011. Athens, Univ. of Georgia Coop. Ext. Serv. Publ., 846p.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. 1ed. Boca Raton: CRC Press, 127p.
- Robertson, J.L., R.M. Russel, H.K. Preisler & N.E. Savin. 2007.** Pesticide resistance. p. 99-114. In Bioassays with arthropods. Boca Raton, CRC Press, 199p.
- Robertson, J.L., H.K. Preisler, S.S. Ng, L.A. Hickie, W.D. Gelernter. 1995.** Natural variation – a complicating factor in bioassays with chemical and microbial pesticides. *J. Econ. Entomol.* 88: 1-10.
- Roush, R.T., R.L. Combs, T.C. Randolph, J. Macdonald & J.A. Hawkins. 1986.** Inheritance and effective dominance of pyrethroid resistance in the horn fly (Diptera. Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 79: 1178-1182.
- Ruberson, J.R., H. Nemoto & Y. Hirose. 1998.** Pesticides and conservation of natural enemies in pest management, p. 207-220. In P. Barbosa (ed.), Conservation biological control. New York, Academic Press, 397p.
- Ruberson, J.R. & P.G. Tillman. 1999.** Effect of selected insecticides on natural enemies in cotton: a laboratory study. *Proc. Beltwide Cotton Conf.* 2: 1210-1213.
- Ruberson, J.R., P. Roberts & J.P. Michaud. 2007.** Pyrethroid resistance in Georgia populations of the predator *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae). *Proc. Beltwide Cotton Conf.* 1: 361-365.
- Sayed, A.H., A.K. Pathan & U. Faheem. 2010.** Cross-resistance, genetics and stability of resistance to deltamethrin in a population of *Chrysoperla carnea* from Multan, Pakistan. *Pestic. Biochem. Physiol.* 98: 325-332.
- Sayed, A.H., R. Haward, S. Herrero, J. Ferré & D.J. Wright. 2000.** Genetic and biochemical approach for characterization of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in a field

- population of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. Appl. Environ. Microbiol. 66: 1509-1516.
- Sayed, A.H., S. Saeed, M. Noor-Ul-Ane & N. Crickmore. 2008.** Genetic, biochemical, and physiological characterization of spinosad resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). J. Econ. Entomol. 101: 1658-66.
- Shad, S.A., A.H Sayyed & M. A. Saleem. 2010.** Cross-resistance, mode of inheritance and stability of resistance to emamectin in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Pest Manag. Sci. 66: 839-846.
- Smith, S.G. 1950.** The cytotaxonomy of Coleoptera. Can. Entomol. 82: 58-68.
- Smith, S.G. 1960.** Chromosome numbers of Coleoptera. II. Can. J. Genet. Cytol. 2: 66-88.
- Sokal, R. & F. Rohlf. 1981.** Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. San Francisco, W.H. Freeman, 859p.
- Stone, B.F. 1968.** A formula for determining the degree of dominance in cases of monofactorial inheritance of resistance to chemicals. Bull. W.H.O. 38: 325-326.
- Sved, J.A. & O. Mayo. 1970.** The evolution of dominance, p. 289-316. In K.I. Kojima (ed.), Mathematical topics in population genetics. Berlin, Springer, 400p.
- Tabashink, B.E. & M.W. Johnson. 1999.** Evolution of pesticide resistance in natural enemies, p. 673-698. In T.S. Bellows & T.W. Fisher (eds), Handbook of biological control. New York, Academic Press, 1046p.
- Tabashnik, B.E. 1991.** Determining the mode of inheritance of pesticide resistance with backcross experiments. J. Econ. Entomol. 81: 703-712.
- Tan, J.G. & A.R. McCaffery. 1999.** Expression and inheritance of nerve insensitivity resistance in larvae of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. Pestic. Sci. 55: 617-625.
- Theiling, K.M. & B.A. Croft. 1988.** Pesticide side-effects on arthropod natural enemies: A database summary. Agric. Ecosyst. Environ. 21: 191-218.
- Tillman, P.G. & J. E. Mulrooney. 2000.** Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. J. Econ. Entomol. 93: 1638-1643.
- Torres, J.B. & J.R. Ruberson. 2005a.** Lady beetle species shift in Bt and non-Bt cotton fields. Proc. Beltwide Cotton Conf. 1: 1630-1638.

Torres, J.B. & J.R. Ruberson. 2005b. Canopy-and ground-dwelling predatory arthropods in commercial Bt and non-Bt cotton fields: patterns and mechanisms. *Environ. Entomol.* 34: 1242-1256.

White, M.J.D. 1973. *Animal cytology and evolution.* 3^a. ed. London, Cambridge University, 961p.

Zhao, J.-Z., H.L. Collins, J.D. Tang, J. Cao, E.D. Earle, R.T. Roush, S. Herrero, B. Escriche, J. Ferré & A.M. Shelton. 2000. Development and characterization of diamondback moth resistance to transgenic broccoli expressing high levels of Cry1C. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 3784-3789.

Tabela 1. Toxicidade do lambda-cialotrina para populações suscetível, resistente, dos cruzamentos recíprocos F₁ e retrocruzamentos de *Hippodamia convergens* quando avaliados após 2 e 24h da exposição ao produto. Nota = n, número de adultos testados; GL, grau de liberdade; EP, erro padrão; e χ^2 , teste de qui-quadrado.

População/ Progênie ¹	Knockdown									
	n	GL	Inclinação ± EP	DK ₅₀ (IC _{95%}) ²	RR ₅₀ (IC _{95%}) ³	DD ₅₀ ± EP ⁴	DK ₉₀ (IC _{95%}) ²	RR ₉₀ (IC _{95%}) ³	DD ₉₀ ± EP ⁴	χ^2
Hc-CA(S)	191	4	2,39 ± 0,42	0,001 (0,0004-0,002)	-	-	0,004 (0,002-0,011)	-	-	6,76
Hc-GA(R)	221	4	1,73 ± 0,28	0,297 (0,156-0,439)	286,75 (86,59-949,64)*	-	1,636 (0,955-6,219)	461,16 (133,26-1595,93)*	-	4,76
F1 SR	214	5	1,10 ± 0,20	0,012 (0,005-0,021)	11,91 (5,43-26,11)*	-0,13 ± 0,15	0,182 (0,105-0,474)	51,11 (24,04-108,68)*	0,27 ± 0,17	4,50
F1 RS	220	4	1,52 ± 0,19	0,003 (0,0002-0,007)	2,62 (0,57-12,02)	-0,66 ± 0,27	0,019 (0,009-0,038)	5,35 (2,81-10,16)*	-0,48 ± 0,11	0,50
BC1	198	6	1,32 ± 0,19	0,271 (0,162-1,14)	211,33 (111,96-398,90)*	-	2,254 (1,02-15,43)	835,24 (252,59-2761,92)*	-	6,35
BC2	167	4	0,72 ± 0,20	0,073 (0,026-0,144)	70,47 (31,19-159,24)*	-	4,480 (1,100-396,1)	1259,04 (143,76-11026,3)*	-	6,33
BC3	267	8	2,27 ± 0,33	0,003 (0,002-0,004)	2,81 (1,71-4,63)*	-	0,011 (0,008-0,017)	3,00 (1,85-4,89)*	-	4,78
BC4	268	8	2,63 ± 0,40	0,003 (0,002-0,004)	2,91 (1,80-4,71)*	-	0,009 (0,007-0,014)	2,61 (1,64-4,14)*	-	1,78

População/ Progênie	Mortalidade									
	n	GL	Inclinação ± EP	DL ₅₀ (IC _{95%}) ²	RR ₅₀ (IC _{95%}) ³	DD ₅₀ ± EP ⁴	DL ₉₀ (IC _{95%}) ²	RR ₉₀ (IC _{95%}) ³	DD ₉₀ ± EP ⁴	χ^2
Hc-CA(S)	191	4	2,12 ± 0,33	0,004 (0,003-0,005)	-	-	0,015 (0,010-0,028)	-	-	1,24
Hc-GA(R)	221	4	1,71 ± 0,32	0,816 (0,631-1,167)	220,03 (76,89-629,65)*	-	4,595 (2,54-15,53)	308,00 (79,62-1191,39)*	-	1,54
F1 SR	214	5	1,17 ± 0,17	0,194 (0,059-1,745)	52,33 (32,30-84,80)*	0,47 ± 0,16	2,423 (0,545-14490)	162,29 (56,64-465,02)*	0,78 ± 0,26	19,63**
F1 RS	220	4	2,19 ± 0,33	0,026 (0,019-0,034)	7,03 (4,89-10,11)*	-0,28 ± 0,09	0,100 (0,072-0,173)	6,73 (3,62-12,52)*	-0,34 ± 0,12	1,46
BC1	198	6	2,03 ± 0,39	0,804 (0,548-1,441)	216,95 (131,14-358,92)*	-	3,431 (1,793-12,971)	230,03 (85,46-619,16)*	-	1,03
BC2	167	4	1,45 ± 0,22	0,364 (0,245-0,621)	98,08 (59,26-162,32)*	-	2,754 (1,346-9,637)	184,56 (65,92-516,78)*	-	4,58
BC3	267	8	2,17 ± 0,25	0,015 (0,012-0,019)	4,07 (2,90-5,71)*	-	0,059 (0,043-0,091)	3,93 (2,19-7,08)*	-	4,78
BC4	268	8	2,24 ± 0,27	0,011 (0,009-0,014)	3,05 (2,17-4,27)*	-	0,042 (0,031-0,065)	2,83 (1,58-5,08)*	-	4,20

¹Hc-CA e Hc-GA = populações suscetível e resistente, respectivamente; F1 SR (♂ S x ♀ R) e F1 RS (♂ R x ♀ S); Retrocruzamentos BC1 (♂ F1 SR x ♀ R); BC2 (♂ F1 RS x ♀ R); BC3 (♂ F1 RS x ♀ S); e BC4 (♂ F1 RS x ♀ S); ²DK ou DL = dose (mg de i.a. de lambda-cialotrina/mL) que produz efeito *knockdown* ou mortalidade, respectivamente. ³RR = razão de resistência e intervalo de confiança a 95%, calculados através do método de Robertson & Preisler (1992); ⁴DD, grau de dominância. *RR significativos, uma vez que o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0. **Dados não assumiram modelo de Probit (P<0,05).

Tabela 2. Toxicidade do inseticida lambda-cialotrina a populações de *Hippodamia convergens* quando aplicado associado ao sinergista butóxido de piperonila (PBO). Nota = n, número de adultos testados; GL, grau de liberdade; EP, erro padrão; e χ^2 , teste de qui-quadrado.

População/ Progênie ¹	n	GL	Inclinação ± EP	Knockdown (2h)						χ^2
				DK ₅₀ (IC _{95%}) ²	RS ₅₀ (IC _{95%}) ³	RR ₅₀ (IC _{95%}) ⁴	DK ₉₀ (IC _{95%}) ²	RS ₉₀ (IC _{95%}) ³	RR ₉₀ (IC _{95%}) ⁴	
<i>Lambda-cialotrina</i>										
Hc-CA (S)	191	4	2,39 ± 0,42	0,001 (0,0004-0,002)	-	-	0,004 (0,002-0,011)	-	-	6,76
Hc-GA (R)	221	4	1,73 ± 0,28	0,297 (0,156-0,439)	-	286,75 (86,59-949,64)	1,636 (0,955-6,219)	-	461,16 (133,26-1595,93)	4,76
<i>Lambda-cialotrina + PBO</i>										
Hc-CA (S)	278	4	2,64 ± 0,33	0,0006 (0,0005-0,0008)	1,62 (1,07-2,45)	-	0,002 (0,001-0,004)	1,82 (1,16-2,86)	-	3,87
Hc-GA (R)	182	5	1,45 ± 0,23	0,043 (0,030-0,061)	6,94 (4,40-10,93)	67,05 (45,70-98,37)	0,327 (0,186-0,881)	5,00 (2,08-12,02)	167,81 (75,53-372,82)	0,69
<i>Mortalidade (24h)</i>										
População/ Progênie ¹	n	GL	Inclinação ± EP	DL ₅₀ (IC _{95%}) ²	RS ₅₀ (IC _{95%}) ³	RR ₅₀ (IC _{95%}) ⁴	DL ₉₀ (IC _{95%}) ²	RS ₉₀ (IC _{95%}) ³	RR ₉₀ (IC _{95%}) ⁴	χ^2
<i>Lambda-cialotrina</i>										
Hc-CA (S)	191	4	2,12 ± 0,33	0,004 (0,003-0,005)	-	-	0,015 (0,010-0,028)	-	-	1,24
Hc-GA (R)	221	4	1,71 ± 0,32	0,816 (0,631-1,167)	-	220,03 (76,89-629,65)	4,595 (2,54-15,53)	-	308,00 (79,62-1191,39)	1,54
<i>Lambda-cialotrina + PBO</i>										
Hc-CA (S)	278	4	3,30 ± 0,42	0,0007 (0,0006-0,0008)	5,53 (4,23-7,22)	-	0,002 (0,001-0,003)	9,10 (5,34-15,49)	-	4,38
Hc-GA (R)	182	5	1,57 ± 0,24	0,047 (0,034-0,067)	17,24 (11,24-26,70)	70,55 (49,49-100,57)	0,309 (0,182-0,762)	14,84 (5,19-42,39)	188,81 (91,57-389,27)	3,43

¹Hc-CA e Hc-GA = populações suscetível e resistente, respectivamente. ²DK e DL = dose (mg de i.a./mL) que produz efeito *knockdown* ou mortalidade, respectivamente. ³RS = razão de sinergismo e intervalo de confiança a 95%; ⁴RR, razão de resistência e intervalo de confiança a 95%; *RS e RR foram calculados através do método de Robertson & Preisler (1992), sendo significativos quando o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0.

Tabela 3. Dominância efetiva para adultos de *Hippodamia convergens* após 2h da aplicação do lambda-cialotrina [Hc-CA (n=120 adultos); Hc-GA (n=120 adultos); F1 RS (n=120 adultos); F1 SR (n=120 adultos)].

Doses (mg/mL)	População/ Progênie ¹	n	Knockdown (%)	Desempenho ²	D_{ML} ²	População/ Progênie ¹	n	Mortalidade (%)	Desempenho ²	D_{ML} ²
0,001	Hc-CA (S)	24	33,33	0,67		Hc-CA (S)	24	16,67	0,83	
	Hc-GA (R)	24	0,00	1,00		Hc-GA (R)	24	0,00	1,00	
	F ₁ RS	24	0,00	1,00	1,00	F ₁ RS	24	0,00	1,00	1,00
	F ₁ SR	24	0,00	1,00	1,00	F ₁ SR	24	0,00	1,00	1,00
0,01	Hc-CA (S)	24	100,00	0,00		Hc-CA (S)	24	91,67	0,09	
	Hc-GA (R)	24	0,00	1,00		Hc-GA (R)	24	0,00	1,00	
	F ₁ RS	24	83,33	0,17	0,17	F ₁ RS	24	16,67	0,83	0,82
	F ₁ SR	24	41,67	0,59	0,58	F ₁ SR	24	0,00	1,00	1,00
0,1	Hc-CA (S)	24	100,00	0,00		Hc-CA (S)	24	100,00	0,00	
	Hc-GA (R)	24	33,33	0,67		Hc-GA (R)	24	8,33	0,92	
	F ₁ RS	24	100,00	0,00	0,00	F ₁ RS	24	79,17	0,21	0,23
	F ₁ SR	24	75,00	0,25	0,38	F ₁ SR	24	54,17	0,46	0,50
0,5	Hc-CA (S)	24	100,00	0,00		Hc-CA (S)	24	100,00	0,00	
	Hc-GA (R)	24	79,17	0,21		Hc-GA (R)	24	20,83	0,79	
	F ₁ RS	24	100,00	0,00	0,00	F ₁ RS	24	95,83	0,04	0,05
	F ₁ SR	24	95,83	0,04	0,20	F ₁ SR	24	75,00	0,25	0,32
1,0	Hc-CA (S)	24	100,00	0,00		Hc-CA (S)	24	100,00	0,00	
	Hc-GA (R)	24	95,83	0,04		Hc-GA (R)	24	33,33	0,67	
	F ₁ RS	24	100,00	0,00	0,00	F ₁ RS	24	100,00	0,00	0,00
	F ₁ SR	24	100,00	0,00	0,00	F ₁ SR	24	70,83	0,29	0,44

¹Hc-CA e Hc-GA = populações suscetível e resistente, respectivamente; F1 SR (♂ Hc-CA x ♀ Hc-GA) e F1 RS (♂ Hc-GA x ♀ Hc-CA). ² D_{ML} , valor pode variar entre 0 e 1 (0 = resistência recessiva e 1 = resistência dominante); ²Desempenho corresponde a taxa de sobreviventes entre as populações suscetível (Hc-CA) e F₁ SR ou F₁ RS, e a população resistente (Hc-GA); ³Os valores de h variam entre 0 (recessividade completa) e 1 (dominância completa). Se os valor de h corresponde a 0,5 (co-dominante ou aditivo) ou está entre $0 < h < 0,5$ (recessividade incompleta) e $0,5 < h < 1$ (dominância incompleta).

Tabela 4. *Knockdown* após 2h da aplicação da dose discriminatória para adultos resistentes $X^R X^R$ e $X^R y$ de *Hippodamia convergens* (0,5 mg de i.a. lambda-cialotrina/mL). Os genótipos dos descendentes e proporções esperadas e observadas de *knockdown* são mostrados, considerando a hipótese nula: populações parentais suscetíveis e resistentes homocigotas em razão da herança da resistência ligada ao cromossomo X^R . Nota = EP, erro padrão.

População/P rogênie ¹	Ligação ao Sexo					F/n ³	Proporção observada (EP)			χ^2	P
	Genótipo dos descendentes		Proporção esperada				χ^2	P			
	♂	♀	♂	♀	Adultos ²						
Hc-GA	$X^R Y$	$X^R X^R$	0,00	0,00	0,00	A/20	0,67 (0,00)	0,68 (0,14)	0,67 (0,05)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	B/30	0,47 (0,28)	0,27 (0,07)	0,37 (0,03)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	C/30	0,30 (0,15)	0,00 (0,00)	0,15 (0,06)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	D/40	0,47 (0,21)	0,50 (0,07)	0,48 (0,12)	NC	NC
Hc-CA	$X^S Y$	$X^S X^S$	1,00	1,00	1,00	(A-E)/150	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	0,00	1,00
F1 SR	$X^R Y$	$X^R X^S$	0,00	1,00	0,50	A/30	0,50 (0,00)	1,00 (0,00)	0,75 (0,00)	7,50	0,01*
			0,00	1,00	0,50	B/30	0,30 (0,15)	1,00 (0,00)	0,65 (0,06)	2,70	0,10
			0,00	1,00	0,50	C/30	0,53 (0,17)	1,00 (0,00)	0,77 (0,07)	8,53	<0,00*
			0,00	1,00	0,50	D/30	0,61 (0,03)	1,00 (0,00)	0,80 (0,01)	11,5	<0,00*
F1 RS	$X^S Y$	$X^R X^S$	1,00	1,00	1,00	(A-E)/150	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	0,00	1,00

Tabela 4. Continuação.

População/P rogênie ¹	Ligação ao Sexo					F/n ³	Proporção observada (EP)			χ^2	P
	Genótipo dos descendentes		Proporção esperada				χ^2	P			
	♂	♀	♂	♀	Adultos ²						
BC1	X ^R Y	X ^R X ^R	0,00	0,00	0,00	A/30	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	B/30	0,30 (0,05)	0,07 (0,07)	0,18 (0,08)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	C/30	0,15 (0,07)	0,00 (0,00)	0,05 (0,03)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	D/30	0,06 (0,06)	1,00 (0,00)	0,53 (0,02)	NC	NC
BC2	X ^R Y	X ^R X ^S	0,00	1,00	0,50	A/30	0,25 (0,14)	1,00 (0,00)	0,63 (0,06)	1,88	0,16
			0,00	1,00	0,50	B/30	0,28 (0,06)	1,00 (0,00)	0,64 (0,02)	2,41	0,12
			0,00	1,00	0,50	C/30	0,25 (0,14)	1,00 (0,00)	0,63 (0,06)	1,88	0,16
			0,00	1,00	0,50	D/30	0,42 (0,30)	1,00 (0,00)	0,71 (0,12)	5,21	0,02
			0,00	1,00	0,50	E/30	0,71 (0,10)	1,00 (0,00)	0,86 (0,04)	0,21	<0,00
BC3	X ^S Y	X ^R X ^S	1,00	1,00	1,00	(A-D)/110	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	0,00	1,00
BC4	X ^S Y	X ^S X ^S	1,00	1,00	1,00	(A-E)/150	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	0,00	1,00

¹Hc-CA e Hc-GA correspondem às populações suscetível (S) e resistente (R); O F1 SR corresponde ao cruzamento entre ♂ S x ♀ R, e o F1 RS entre ♂ R x ♀ S. Os retrocruzamentos BC1 [♂ F1 SR x ♀ R]; BC2 [♂ F1 RS x ♀ R]; BC3 [♂ F1 RS x ♀ S]; e BC4 [♂ F1 RS x ♀ S]; ²Proporção de adultos é referente a média entre as proporções para macho e fêmeas. ³F, indica as famílias e n, o número de insetos testados por família em cada população, progênie ou retrocruzamento, perfazendo um total de 1040 adultos testados. NC, valores de qui-quadrado e probabilidades não calculadas, devido à proporção esperada.

Tabela 5. Mortalidade após 24h da aplicação da dose discriminatória para adultos resistentes $X^R X^R$ e $X^R y$ de *Hippodamia convergens* (0,5 mg de i.a. lambda-cialotrina/mL). Os genótipos dos descendentes e proporções esperadas e observadas de mortalidade são mostrados, considerando a hipótese nula: populações parentais suscetíveis e resistentes homocigotas em razão da herança da resistência ligada ao cromossomo X^R . Nota = EP, erro padrão.

População/P rogênie ¹	Ligação ao Sexo					F/n ³	Proporção observada (EP)			χ^2	P
	Genótipo dos descendentes		Proporção esperada				σ	ρ	Adultos		
	σ	ρ	σ	ρ	Adultos ²						
Hc-GA	$X^R Y$	$X^R X^R$	0,00	0,00	0,00	A/20	0,67 (0,00)	0,41 (0,16)	0,54 (0,01)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	B/30	0,47 (0,07)	0,27 (0,07)	0,37 (0,03)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	C/30	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	D/40	0,43 (0,22)	0,38 (0,07)	0,40 (0,15)	NC	NC
Hc-CA	$X^S Y$	$X^S X^S$	1,00	1,00	1,00	(A-E)/150	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	0,00	1,00
F1 SR	$X^R Y$	$X^R X^S$	0,00	1,00	0,50	A/30	0,50 (0,00)	1,00 (0,00)	0,75 (0,00)	7,50	0,01*
			0,00	1,00	0,50	B/30	0,00 (0,00)	1,00 (0,00)	0,50 (0,00)	0,00	1,00
			0,00	1,00	0,50	C/30	0,53 (0,17)	1,00 (0,00)	0,77 (0,09)	8,53	<0,00*
			0,00	1,00	0,50	D/30	0,56 (0,03)	1,00 (0,00)	0,78 (0,01)	9,31	<0,00*
F1 RS	$X^S Y$	$X^R X^S$	1,00	1,00	1,00	(A-E)/150	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00	0,00	1,00

Tabela 5. Continuação.

População/Progenie ¹	Ligação ao Sexo					F/n ³	Proporção observada (EP)			χ^2	P
	Genótipo dos descendentes		Proporção esperada				χ^2	P			
	♂	♀	♂	♀	Adultos ²				♂		
BC1	X ^R Y	X ^R X ^R	0,00	0,00	0,00	A/30	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	B/30	0,00 (0,00)	0,07 (0,07)	0,03 (0,03)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	C/30	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	NC	NC
			0,00	0,00	0,00	D/30	0,00 (0,00)	1,00 (0,00)	0,50 (0,00)	NC	NC
BC2	X ^R Y	X ^R X ^S	0,00	1,00	0,50	A/30	0,00 (0,00)	1,00 (0,00)	0,50 (0,00)	0,00	1,00
			0,00	1,00	0,50	B/30	0,07 (0,07)	1,00 (0,00)	0,53 (0,03)	0,13	0,72
			0,00	1,00	0,50	C/30	0,08 (0,08)	1,00 (0,00)	0,54 (0,04)	0,21	0,65
			0,00	1,00	0,50	D/30	0,00 (0,00)	1,00 (0,00)	0,50 (0,00)	0,00	1,00
			0,00	1,00	0,50	E/30	0,08 (0,08)	1,00 (0,00)	0,54 (0,04)	0,21	0,65
BC3	X ^S Y	X ^R X ^S	1,00	1,00	1,00	(A-D)/110	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00	0,00	1,00
BC4	X ^S Y	X ^S X ^S	1,00	1,00	1,00	(A-E)/150	1,00 (0,00)	1,00 (0,00)	1,00	0,00	1,00

¹Hc-CA e Hc-GA correspondem às populações suscetível (S) e resistente (R); O F1 SR corresponde ao cruzamento entre ♂ S x ♀ R, e o F1 RS entre ♂ R x ♀ S. Os retrocruzamentos BC1 [♂ F1 SR x ♀ R]; BC2 [♂ F1 RS x ♀ R]; BC3 [♂ F1 RS x ♀ S]; e BC4 [♂ F1 RS x ♀ S].

²Proporção de adultos é referente a média entre as proporções para macho e fêmeas. ³F, indica as famílias e n, o número de insetos testados por família em cada população, progênie ou retrocruzamento, perfazendo um total de 1040 adultos testados. NC, valores de qui-quadrado e probabilidades não calculadas, devido à proporção esperada.