

STATUS DA RESISTÊNCIA À LAMBDA-CIALOTRINA EM *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) APÓS LIVRE ACASALAMENTO, HETEROSE E RE-
SELEÇÃO

por

DEIVIDY VICENTE DO NASCIMENTO

(Sob Orientação do Professor Jorge Braz Torres – UFRPE)

RESUMO

A joaninha predadora, *Eriopis connexa* (Germar), é encontrada em diversos agroecossistemas associada a infestação de pulgões. Constantes exposições às aplicações de piretroides direcionadas para o controle de pragas desfolhadoras, têm resultado na seleção de *E. connexa* para resistência (R) a este grupo de inseticidas. Joaninhas resistentes têm a capacidade de sobreviverem a eventuais aplicações de piretroides e, conseqüentemente, controlar as populações de pulgões, evitando os surtos após as aplicações de piretroides. Após a liberação de populações resistentes de *E. connexa* (R), a estabilidade da resistência na população estará sujeita a fatores, como: presença da pressão de seleção (i), frequência de acasalamento com indivíduos resistente com indivíduos suscetíveis (S) (ii), e o impacto de um desempenho reprodutivo menor devido ao custo da resistência (iii). O objetivo do presente trabalho foi de avaliar o comportamento da resistência de uma população de *E. connexa* resistente ao inseticida lambda-cialotrina após liberação e constante cruzamento com indivíduos suscetíveis em ambiente com e sem pressão de seleção, bem como também o custo da resistência após a re-seleção com descendentes do cruzamento R×S. Uma série de experimentos foi conduzida incluindo acasalamento livre entre adultos R e S, seguido por submissão ou não à pressão de seleção, re-

seleção e determinação do nível de resistência. Adicionalmente, estudos de biologia foram realizados nas gerações F1 e F5 para medir o desempenho da descendência do cruzamento R×S. Os resultados de acasalamento livre entre R×S, em ambiente sem pressão de seleção, mostram que apesar da proporção de indivíduos com fenótipos R reduz significativamente ao longo das gerações observadas, a resistência ainda estava presente na população após quatro gerações. Por outro lado, quando os indivíduos foram submetidos a pressão de seleção, com a aplicação da dosagem recomendada do inseticida (400mL /150L), a proporção de indivíduos sobreviventes na população foi igual ou superior ao esperado (50%). Indivíduos de primeira geração do cruzamento R×S apresentaram ganho significativo no desempenho em fecundidade e sobrevivência; porém, o ganho na fecundidade não foi mantido após a re-seleção. A população R apresenta menor longevidade que as populações S e do cruzamento R×S, mas com produção de ovos consistente na fase inicial da fase adulta, favorecendo o seu desempenho por completar gerações em menor tempo. Os resultados sugerem que a manutenção da resistência em *E. connexa*, após a liberação, dependerá da pressão de seleção, e na sua ausência a proporção de indivíduos R reduz significativamente. Assim, indivíduos com fenótipo R podem se manter na população, mesmo sem pressão de seleção e serem re-selecionados, o que explica parcialmente a ocorrência comum de populações de *E. connexa* resistentes à lambda-cialotrina, em agroecossistemas com utilização de piretroides.

PALAVRAS-CHAVE: Resistência a inseticidas, tabela de vida, estabilidade da resistência, piretroides, liberação de inimigo natural.

STATUS OF LAMBDA-CYHALOTHRIN RESISTANCE IN *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) AFTER FREE MATING, HETEROSIS AND
RESELECTION

por

DEIVIDY VICENTE DO NASCIMENTO

(Sob Orientação do Professor Jorge Braz Torres – UFRPE)

ABSTRACT

The lady beetle, *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae), is a natural enemy found in several crop ecosystems, associated mainly with aphids' infestation. It has probably been under selection pressure of pyrethroid applications, against defoliator pest species, resulting in selection for resistance (R). The resistance trait confers the lady beetle ability to survival pyrethroids application; thereby surviving beetles will provide aphid control precluding the recurrent aphid outbreak after a pyrethroid application. After releasing of *E. connexa* R phenotype, its resistance trait stability may depend on factors, such as presence of selection pressure (i), mating frequency with susceptible (S) field phenotype (ii), and the impact of minor reproductive performance due to the biological cost implied by the resistance trait (iii). The aim of the present work was to assess the resistance of a population of *E. connexa* resistant to lambda-cyhalothrin after release and crossing with susceptible individuals in an environment with and without selection pressure, as well as, the cost of resistance after re- selection with R×S offspring. A series of experiments were run including mass mating between R and S adult beetles following by exposure to selection pressure or not, reselection, and measurement of resistance level.

Additionally, biology studies were carried out in the F1 and F5 generations of descendants from R×S crosses to measure their performance in comparisons to their S and R parental. The results from mass mating R×S without selection pressure showed significant reduction of R phenotype, but it still presents in the population after four generations. On the other hand, when offspring from R×S crosses received application of lambda-cyhalothrin at field rate, the survival was equal or greater than the expected 50%. First generation of offspring R×S exhibited significant gain in the fecundity and survival. However, the gain in fecundity did not sustain after reselection. Females R exhibited lower survival than S and R×S females, but with consistent egg production at initial adulthood favoring their performance by completing generation earlier than S and R×S females. The results indicate that the maintenance of the resistance in *E. connexa* after field releases will depend on selection pressure. In the absence of selection pressure, the proportion of R phenotype will decrease significantly but will not be lost from the population. So, they can be reselected what partially explain the common occurrence of *E. connexa* R to lambda-cyhalothrin in crop ecosystem with wide use of pyrethroid.

KEY WORDS: Insecticide resistance, life table, resistance stability, pyrethroids, natural enemy release.

STATUS DA RESISTÊNCIA À LAMBDA-CIALOTRINA EM *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) APÓS LIVRE ACASALAMENTO, HETEROSE E RE-
SELEÇÃO

por

DEIVIDY VICENTE DO NASCIMENTO

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

RECIFE - PE

Fevereiro – 2022

STATUS DA RESISTÊNCIA À LAMBDA-CIALOTRINA EM *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) APÓS LIVRE ACASALAMENTO, HETEROSE E RE-
SELEÇÃO

por

DEIVIDY VICENTE DO NASCIMENTO

Banca Examinadora:

José Dijair Antonino de Souza Junior – UFRPE (presidente)

Jefferson Elias da Silva - UFS

Jorge Braz Torres – UFRPE

Deividy Vicente do Nascimento
Mestre em Entomologia

Prof. Jorge Braz Torres – UFRPE
Orientador

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- N244s Nascimento, Deividy Vicente
Status da resistência à lambda-cialotrina em *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) após livre acasalamento, heterose e re-seleção / Deividy Vicente Nascimento. - 2022.
64 f. : il.
- Orientador: Jorge Braz Torres.
Inclui referências e apêndice(s).
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Recife, 2022.
1. Resistência a inseticidas. 2. Tabela de vida de fertilidade. 3. Estabilidade da resistência. 4. Piretroides. 5. Liberação de inimigos naturais. I. Torres, Jorge Braz, orient. II. Título

CDD 632.7

DEDICATÓRIA

Aos meus pais *Edite Maria de Melo Nascimento* e *Adair Vicente do Nascimento*

Aos futuros leitores, para que utilizem o conhecimento aqui descrito em busca de uma sociedade cada vez melhor.

Se você não consegue achar um caminho, crie um você mesmo.

Desconhecido.

AGRADECIMENTOS

Direciono primeiramente meus agradecimentos a Deus, por todas as bênçãos concedidas a minha vida, por sempre se fazer presente em todos os momentos e ter me dado forças para vencer cada obstáculo até aqui. A Nossa Senhora que se fez e faz presente me acolhendo, me acalmando e intercedendo por cada passo que dou.

A mim mesmo, por todo o esforço, dedicação e persistência principalmente nos momentos difíceis durante toda a trajetória do Mestrado, e por conseguir manter viva a força de vontade de querer sempre ser alguém melhor na vida.

Aos meus pais EDITE MARIA DE MELO NASCIMENTO e ADAIR VICENTE DO NASCIMENTO, por todo o esforço para poder me dar a melhor educação possível.

A minha namorada Magda Beatriz de Lima Almeida pela compreensão, ajuda, suporte e companheirismo em todos os momentos que passei durante esta especialização.

Ao meu irmão Douglas Vicente do Nascimento, pelo apoio e descontração.

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia (PPGE – UFRPE).

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – PROEX) pelo financiamento do projeto e concessão da bolsa.

Ao Amigo e professor, Jorge Braz Torres, por todo o isentivo e conhecimento passado durante todo o meu desenvolvimento no mundo da ciência.

Ao amigo Rogério Lira pela ajuda na execução dos experimentos.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Controle Biológico, Anderson Machado, Denner Potin, Rogério Lira, Karolayne Lopes, Natalia Bermúdez, Alessandra Guedes, Roberta Coelho,

Renilson Morato, Prof. Dijair Antonino, pelos momentos de descontração, as pausas do café, as risadas e as ajudas durante os experimentos.

A minha família e em especial a meus avós, Antônia Francisca, Josefa Nascimento e David Nascimento.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
Insetos Predadores no Controle Biológico e Resistência a Inseticidas	4
Custo Adaptativo em Insetos Resistentes a Inseticidas.....	7
Joaninha Predadora <i>Eriopis connexa</i>	9
Relevância do Estudo	12
LITERATURA CITADA.....	15
2 STATUS DA RESISTÊNCIA À LAMBDA-CIALOTRINA EM <i>Eriopis connexa</i> (GERMAR) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) APÓS LIBERAÇÃO, HETEROSE E RE-SELEÇÃO.....	21
RESUMO	22
ABSTRACT.....	23
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	26
RESULTADOS.....	33
DISCUSSÃO.....	37
AGRADECIMENTOS.....	41
LITERATURA CITADA.....	42
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	52

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

É notável que a agricultura tem apresentado contínuo desenvolvimento e alcançado resultados positivos quanto a produtividade, estimulada principalmente pela demanda crescente por alimentos, exigida por uma população também crescente. Um dos maiores avanços na manutenção da produtividade agrícola aconteceu há, aproximadamente, 80 anos, com o surgimento de compostos orgânicos e sintéticos que auxiliaram no controle de pragas, fungos e plantas daninhas (Perkins 2002). O uso desses produtos químicos teve papel importante na redução de perdas causadas por ataques de pragas. Dentre os diversos compostos químicos descobertos naquela época, e que teve maior relevância foi o diclorodifeniltricloroetano (DDT), sintetizado pela primeira vez em 1874, pelo Austríaco Othmar Zeidler, mas tendo as propriedades inseticidas descoberta em 1939¹, por Paul Herman Müller, sendo utilizado para o controle de pragas nas lavouras, e até na prevenção de epidemias por meio do controle de insetos vetores de doenças, como da febre amarela, malária e filariose (Perkins 2002). Naquela época, o DDT era considerado por muitos entomologistas como “o inseticida milagroso”, devido a sua efetividade no controle das pragas (Metcalf *et al.* 1994, Radcliffe *et al.* 2009).

Os benefícios oferecidos acarretaram o uso indiscriminado desses compostos, o que não tardou o aparecimento de casos de falhas no controle de pragas, surtos populacionais de pragas secundárias, entre outros problemas operacionais e ambientais. Assim, os pesquisadores passaram a questionar sobre o uso abusivo dos inseticidas sintéticos. Porém, apenas com a publicação do livro “*Silent Spring*” (Primavera Silenciosa), por Rachel Carson, em 1962, que detalhava os

efeitos negativos do DDT nas populações de pássaros e peixes, bem como na saúde humana, que estimularam-se regulamentações políticas como também, incentivaram cientistas a mudar de fato a abordagem no uso indiscriminado dos inseticidas para a proteção dos cultivos (Perkins 2002).

Hoskins *et al.* (1939) publicou que o controle biológico e o controle químico eram de certa forma práticas suplementares, onde o controle natural ficava responsável por controlar maior parte das pragas e o controle químico entraria, quando os danos provocados aos agentes do controle natural fossem os menores possíveis, nascendo assim o conceito de “Controle Integrado (Kogan 1998)” uma das primícias do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Nos anos 1960, surgiu o conceito “Manejo de Pragas” que ampliava o conceito do “controle integrado”, incluindo múltiplas táticas para o controle das pragas. Mas foi apenas nos anos de 1970 com a junção do “Controle integrado” e “Manejo de pragas” que surgiu o conceito moderno do MIP, o qual conhecemos (Kogan 1998, Ehler *et al.* 2006, Radcliffe *et al.* 2009). Assim, o MIP tornou-se um sistema de suporte de decisão para a seleção e uso de táticas de controle, sejam elas utilizadas individualmente, ou combinadas de forma harmoniosa, dentro de uma estratégia de manejo baseada em análises de custo e benefício, que leva em consideração o interesse e o impacto sobre os produtores, a sociedade e o meio ambiente.

Dentre os inúmeros métodos de controle usados no MIP, podemos destacar o controle biológico. Que segundo Barbosa *et al.* (1998), consiste no uso de inimigos naturais vivos, sendo estes os mais diversos, variando desde vírus entomopatogênicos até outros insetos. O termo controle biológico foi mencionado pela primeira vez, em 1919, por H.S. Smith para descrever o uso de inimigos naturais no controle de insetos praga (Smith 1919). Assim, ao longo do tempo, o controle biológico foi se desenvolvendo como uma disciplina voltada a este método de controle

¹NobelPrize.org: The Nobel Prize in Physiology of Medicine 1948.

de pragas, que busca por meios ambientalmente saudáveis a redução das populações de pragas ou mitigar os seus efeitos, através do uso de inimigos naturais.

No decorrer do tempo o controle biológico foi considerado como sendo uma disciplina filosófica e de saudosismo, limitada a certos cultivos, na sua maioria, conduzidos em pequena escala e em casas de vegetação. Paralelamente, ao desenvolvimento de outros métodos de controle de pragas dentro do contexto do MIP, o controle biológico em grandes áreas agrícolas acaba sendo de difícil implementação, principalmente quando se diz a respeito do controle conservativo, pois deve ser pensado como uma abordagem a longo prazo (Van Driesche *et al.* 2009). Esta abordagem exige do produtor uma mudança no uso da propriedade para a instalação de áreas de refúgio, diversificação da lavoura, compatibilidade entre os métodos de controle, etc., para que o controle seja efetivado de forma satisfatória. Além de que, algumas vezes, faz-se necessária a aplicação de inseticidas para o controle de pragas com densidade populacional equivalente ao nível de dano econômico. Como inseticidas e inimigos naturais possuem como alvo insetos (pragas), a integração do controle biológico com a utilização de inseticidas nessas áreas torna-se difícil e, na maioria das vezes, incompatíveis (Croft 1990, Tabashnik & Johnson 1999, Radcliffe *et al.* 2009, Bielza 2016)

A seletividade é uma das diversas formas que podemos contornar a incompatibilidade entre os inseticidas e os inimigos naturais, podendo ser dividida em duas, seletividade ecológica e fisiológica. A **seletividade ecológica**, por exemplo, é obtida por meio da aplicação do inseticida de maneira a reduzir a exposição do inimigo natural ao inseticida. Por outro lado, a **seletividade fisiológica**, ambos, o inseticida e o inimigo natural podem entrar em contato, mas características intrínsecas do inimigo natural e do inseticida, tornam esses agentes de controle menos suscetíveis aos efeitos tóxicos dos inseticidas (Croft 1990, Weinzierl 2009). Assim, no contexto da seletividade fisiológica, busca-se através de um manejo e da escolha de inseticidas solucionar os

problemas de pragas com uso de inseticidas específicos, que não causem efeitos adversos na população de inimigos naturais (Torres & Bueno 2018). Ainda, como forma de promover a seletividade fisiológica, tem-se o uso de inimigos naturais apresentando resistência a inseticidas, permitindo a integração do controle biológico com a aplicação de inseticidas utilizadas no MIP (Torres 2012, Torres *et al.* 2015).

Insetos Predadores no Controle Biológico e Resistência a Inseticidas

Diante da grande diversidade de inimigos naturais utilizados no controle biológico, os insetos predadores exercem papel importante no controle de pragas, sendo descrito por Whitcomb (1981), como a primeira linha de defesa biológica das plantas contra a herbivoria. Fato comprovado pela grande diversidade de herbívoros presentes nos agroecossistemas, mas nem todos atingem o *status* de praga. Os insetos predadores são comumente os primeiros agentes de controle biológico presentes nos agroecossistemas, devido ao hábito diversificado de alimentação, empregando subprodutos das plantas como pólen e néctar, como suplemento alimentar, além do uso de diferentes tipos de presas disponíveis (maioria são generalistas). Assim, as populações de herbívoros são mantidas reguladas pela atividade de inimigos naturais, como os predadores, que coexistem no mesmo ambiente (Torres *et al.* 2009), até que um fator biótico ou abiótico altere o equilíbrio com algumas das populações de herbívoros crescendo e atingindo o *status* de praga.

Existem exemplos de uso aplicado de insetos predadores no controle biológico, dentro dos quais podemos citar: a liberação de *Podisus nigrispinus* (Say) para o controle de lagartas desfolhadoras, em plantações de eucalipto (Torres *et al.* 2006); o uso de percevejo predador, *Orius insidiosus* (Say), para o controle de tripes (PROMIP 2021); a utilização de *Adalia bipunctata* (L.) para o controle de afídeos, em casa de vegetação; o uso de *Chrysoperla carnea* (Stephens) para o controle de tripes, mosca-branca e afídeos; *Macrolophus pygmaeus* (Rambur)

para o controle de tripes, pulgões, além de larvas e ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick); *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) para controle de cochonilhas (Koppert 2021), entre outros. Contudo, devido à dificuldade de criação de insetos predadores em grande número para uso através de liberações e, na maioria, serem generalistas (Michaud 2019); insetos predadores são alvos de estudos para a conservação de sua ação nas lavouras, a qual depende da compatibilidade entre os métodos de controle de pragas. Desta forma, a utilização de inseticidas seletivos torna-se a principal maneira de obter compatibilidade entre o controle químico e o biológico (Torres & Bueno 2018, Machado *et al.* 2019).

Assim, como acontecem com as espécies pragas, os insetos predadores quando submetidos à contínua exposição a inseticidas, podem ser selecionados para resistência. Porém, diferente das pragas, essa resistência pode ser considerada benéfica, pois abre a possibilidade de fazer a integração entre o controle químico e o biológico, mediante a seletividade fisiológica. Como resultado da integração dos métodos de controles químico e biológico, é esperado o controle de diferentes espécies de herbívoros, impedindo surtos populacionais de pragas secundárias, ressurgência e desenvolvimento de resistência, quando o inimigo natural atua também sobre remanescentes da praga alvo do inseticida (Torres 2012, Lira *et al.* 2019).

Atualmente existem 40 espécies de inimigos naturais citadas possuindo resistência a algum tipo de inseticida, dentre eles, 12 espécies são de insetos predadores (Tabela 1), totalizando 191 casos registrados (Kumral *et al.* 2011, Rodrigues *et al.* 2013, Costa *et al.* 2018, APRD 2021, Balanza *et al.* 2021). Os demais são 15 espécies de ácaros e 13 espécies de parasitoides, 103 e 34 casos, respectivamente (APRD 2022).

De fato, a quantidade de casos de resistência registrada em inimigos naturais, em geral, é baixa quando comparada aos 17.307 casos de resistência catalogados para 581 espécies de pragas (APRD 2022). Segundo Tabashnik *et al.* (1999), a hipótese mais aceita para essa discrepância nas

quantidades de casos de resistência se dá ao fato de que os inimigos naturais apresentam um mecanismo de detoxificação inferior quando comparado ao herbívoro. Os insetos herbívoros desenvolveram um portfólio enzimático eficiente na detoxificação dos compostos secundários de defesas das plantas, que também, promove a detoxificação de compostos xenobióticos, como os inseticidas. Ainda, mesmo que apresentem metabolismo capaz de detoxificar compostos xenobióticos, os inimigos naturais resistentes não persistem no ambiente por serem submetidos a escassez de alimento após sobreviverem uma aplicação inseticida, conseqüentemente, não perpetuando a população resistente. Além desses, outros fatores como o descaso dado a uma população de inimigo natural sobrevivente no ambiente e, portanto, não sendo estudada.

Tabela 1. Espécies de predadores que apresentam resistência a inseticidas e números de casos registrados (Bielza 2016, APRD 2022).

Espécies de predadores	Família: Ordem	No. de casos
<i>Adalia bipunctata</i> (L.)	Coccinellidae: Coleoptera	4
<i>Aleochara bilineata</i> (Gyllenhal)	Staphylinidae: Coleoptera	2
<i>Aphidoletes aphidomyza</i> (Rondani)	Cecidomyiidae: Diptera	1
<i>Chaoborus astictopus</i> (Dyar & Shannon)	Chaoboridae: Diptera	3
<i>Chrysoperla</i> (= <i>Chrysopa</i>) <i>carnea</i> (Stephens)	Chrysopidae: Neuroptera	162
<i>Coleomegilla maculata</i> (De Geer)	Coccinellidae: Coleoptera	5
<i>Eriopis connexa</i> (Germar)	Coccinellidae: Coleoptera	2
<i>Hippodamia convergens</i> (Guérin-Ménéville)	Coccinellidae: Coleoptera	6
<i>Labidura riparia</i> (Pallas)	Labiduridae: Dermaptera	2
<i>Orius laevigatus</i> (Fieber) ¹	Anthocoridae; Hemiptera	1
<i>Propylaea japonica</i> (Thunberg)	Coccinellidae: Coleoptera	2
<i>Stethorus gilvifrons</i> (Mulsant)	Coccinellidae: Coleoptera	1

¹Balanza et al. (2021).

A resistência a inseticida apesar de ser uma característica benéfica ao inseto predador por permiti-lo sobreviver; ela pode resultar em uma relação de *trade-off* entre a sobrevivência e

redução no desempenho biológico, principalmente, a redução da fecundidade. Indivíduos resistentes de *E. connexa* produzem maior quantidade de enzimas detoxificativas (ex., alfa e beta-esterases), comparados aos indivíduos suscetíveis (Rodrigues *et al.* 2014, Rodrigues *et al.* 2020). Devido a essa maior quantidade de enzimas produzidas, os indivíduos resistentes apresentam redução na produção de ovos (fecundidade), na ordem de 50% (Ferreira *et al.* 2013, D'Ávila *et al.* 2018).

Custo Adaptativo em Insetos Resistentes a Inseticidas

No ponto de vista agrônômico a resistência a inseticidas apresentadas por inimigos naturais é benéfica, visto que após a aplicação do inseticida contra a praga, o qual o inimigo natural é resistente, é esperado a sua sobrevivência. Porém, do ponto de vista do inimigo natural, essa resistência muitas vezes resulta em perda de desempenho denominada de custo adaptativo ou custo da resistência. Além de que, quando em ambientes que não haja manutenção da pressão de seleção, ou quando essa pressão de seleção seja reduzida, os indivíduos suscetíveis irão prevalecer sobre os resistentes (Cown 1957, Coustau *et al.* 2002, Kliot *et al.* 2012), sendo este outro ponto negativo quando se tratando da manutenção da resistência em uma população de inimigos naturais em uma área. Sendo o conhecimento desta característica biológica exibida, utilizado como uma forma de mitigar a frequência de populações resistentes de insetos pragas, consistindo na retirada da pressão de seleção do mesmo modo de ação, sendo esta prática denominada rotação de modo de ação (IRAC 2021).

O custo adaptativo pode ser expressado de diferentes formas: em *Aphis gossypii* (Glover), a resistência ao tiametoxan acarretou no aumento no período pré-reprodutivo e redução no número de descendentes produzidos pela população resistente, quando comparado com a população suscetível (Zhang *et al.* 2020). Em *Aedes aegypti* (L.), indivíduos resistentes ao temefós

apresentaram baixa fecundidade, fertilidade e longevidade, quando comparados com insetos suscetíveis (Diniz *et al.* 2015). Em *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo b, a resistência ao tiametoxam resultou na redução da longevidade e fertilidade, quando comparada com insetos suscetíveis (Feng *et al.* 2009). Em *Diaphorina citri* (Kuwayama), também, resistente ao tiametoxam e ao imidacloprido, foi observado baixo desempenho reprodutivo e de desenvolvimento quando comparado com população suscetível, criada em laboratório (Chen *et al.* 2020).

O custo adaptativo também está relacionado com o rápido decréscimo da resistência em populações de insetos que apresentam resistência. Populações de *Tuta absoluta* (Meyrick) resistente a espinosade, tem um decréscimo de 10 vezes a cada 1,57 gerações sem pressão de seleção, chegando à suscetibilidade ao inseticida após oito gerações sem a seleção (Campos *et al.* 2014).

Entretanto, algumas populações resistentes, testadas em laboratório, não apresentaram nenhum efeito significativo com relação à perda de desempenho relacionada à resistência, como é o caso de populações de *B. tabaci* encontradas na Ilha Réunion, resistente a acetamiprido e pimezina (Taquet *et al.* 2020), *Drosophila melanogaster* (Meigen) resistente a espinosina com baixo custo adaptativo (Homem *et al.* 2020), *Tribolium castaneum* (Herbst) resistente a malationa (Arnaud *et al.* 2002), *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) resistente a piretroides (Oliveira *et al.* 2007). Ainda, a resistência pode não gerar impacto para a espécie resistente. De acordo com Pathan *et al.* (2010), o crisopídeo *Chrysoperla carnea* (Stephens), resistente a piretroides e organofosforados encontrados em campo, apresentaram um desempenho biológico (longevidade, fecundidade, fertilidade e predação) similar ou superior ao de indivíduos de uma população suscetível.

A evolução, por sua vez, pode atuar em uma população resistente e reduzir o custo adaptativo, além de manter a característica da resistência presente no genoma do inseto, caso este

seja submetido a exposição ao inseticida no futuro (Belinato *et al.* 2016). Essas adaptações podem acontecer através de genes modificadores “*modifiers genes*” que consiste na mutação de um gene em algum outro ponto do genoma do inseto e que compensa o custo associado a resistência, melhorando o desempenho do inseto que apresenta resistência a determinado inseticida e, geralmente, essa mutação está associada a resistência metabólica (Davies *et al.* 1996, Belinato *et al.* 2016, Bass *et al.* 2017). Outro mecanismo que confere menor custo adaptativo seria uma mutação pré-existente no genoma do inseto causando assim menor efeito deletério quando exposto ao inseticida (Bass *et al.* 2013, 2017). Outro mecanismo que pode conferir um efeito mais brando no custo adaptativo, é a heterozigose permanente, que se trata de quando ambos os alelos para resistência e suscetibilidade estão ligados em um mesmo cromossomo podendo, então, um mesmo gene produzir duas proteínas. Nesse caso, uma proteína que atue na resistência do inseticida, além de favorecer um melhor desempenho biológico quando comparada com um indivíduo que apresente a resistência em homozigose (Assogba *et al.* 2016, Belinato *et al.* 2016).

Joaninha Predadora *Eriopsis connexa* Resistente à Lambda-Cialotrina

Coccinellidae é uma família de coleópteros que possui mais de 6000 espécies catalogadas em 360 gêneros (Hodek *et al.* 2012), composta pelas subfamílias Coccinellinae, Scymninae, Coccidulinae, Chilocorinae, Epilachninae, Ortaliinae e Sticholotidinae (Kovář 1996, Magro *et al.* 2010). Sendo quase todas as espécies de hábito predador com espécies especialistas e generalistas. Alguns grupos suplementam sua dieta com pólen, néctar ou fungo, enquanto aquelas espécies da subfamília Epilachninae, e do gênero *Bulaea* pertencente a subfamília Coccinellinae são insetos fitófagos (Slipinski 2007, Giorgi *et al.* 2009). Como principais presas das joaninhas podemos destacar insetos pertencentes a ordem Hemíptera, mais especificamente a subordem Sternorrhyncha (pulgões, mosca-branca e pisilídeos) (Hodek & Honěk 2009), pequenos

lepidópteros, ovos de lepidópteros e outros coleópteros, larvas de formigas, ácaros, tripes, entre outros (Slipinski 2007, Evans 2009, Giorgi *et al* 2009, Lira *et al.* 2019). Assim, as joaninhas predadoras são amplamente associadas e aplicadas no controle biológico, tanto da forma conservativa, quanto de forma aplicada com liberações massais (Obrycki & Kring 1998, Michaud 2012).

Dentre as diversas espécies de coccinélídeos que são associadas ao controle biológico nos diversos agroecossistemas presentes no Brasil, as mais comuns são: *Cycloneda sanguinea* (L.), *Coleomegilla maculata* (De Geer), *Harmonia axyridis* (Pallas), *Tenuisvalvae notata* (Mulsant), *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant), *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville), *Scymnus* spp. e *Eriopis connexa* (Germar) (Torres *et al.* 2009, Harterreiten-Souza 2012, Peronti 2016, Rezende 2016). E, como espécie de importância mundial em programas de controle biológico, destacamos a espécie *Novius cardinalis* (Mulsant), antes descrita no gênero *Rodolia*. Esta espécie tem sido introduzida em 33 diferentes países para o controle da cochonilha pulverulenta dos citros, *Icerya purchasi* Maskell, com reconhecido sucesso em ao menos 26 países (CABI 2022).

A joaninha *E. connexa*, objeto principal deste estudo é, frequentemente, encontrada em áreas de cultivo de brássicas, em geral, algodão, milho, entre outras culturas. Sempre associadas ao controle de insetos como pulgões. Além dessas presas, sua presença auxilia no controle de pragas alimentando-se de ovos e larvas de pequenos lepidópteros entre outros (Rodrigues *et al.* 2013, Lira *et al.* 2019).

Em condições controladas, as joaninhas *E. connexa*, apresentam uma fase larval que compreende quatro instares de desenvolvimento com duração de ≈ 18 dias de ovo a fase adulta (Santos *et al.* 2016). Durante a fase adulta, as fêmeas apresentam uma longevidade média de ≈ 250

dias (Montes 1970), chegando a produzir uma média de 940 ovos (Lira *et al.* 2016), tendo seus ovos apresentando uma viabilidade média entre 45–50% (Lira *et al.* 2016, Santos *et al.* 2016).

Por sua vez, os piretroides são inseticidas sintético derivados das piretrinas que por sua vez são compostos naturais derivados do *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Sua atividade biológica se dá no processo pós-sináptico atuando nos canais de sódio presente nas células nervosas do inseto, mudando sua conformação permitindo o constante fluxo de sódio para o interior da célula provocando estímulos elétricos intermitentes na célula, causando a morte do inseto devido a hiperexcitação provocada (Yu 2015). São inseticidas amplamente disponíveis no mercado brasileiro, apresentando 13 ingredientes ativos registrados em um total de 143 formulações (AGROFIT 2021). Entre eles, a lambda-cialotrina é um dos mais utilizados por apresentar 36 formulações comerciais disponíveis no mercado brasileiro (AGROFIT 2021), indicados para o controle de desfolhadores em uma grande diversidade de culturas, sendo muitas delas com ocorrência natural da joaninha *E. connexa*. Fato que as constantes aplicações de piretroides, a resistência a esses inseticidas vem sendo detectada em diversas populações de *E. connexa* coletadas em diferentes agroecossistemas (Rodrigues *et al.* 2013, Torres *et al.* 2015, Costa *et al.* 2018).

Até o presente, a detoxificação enzimática mediada por esterases é o mecanismo principal encarregado por conferir resistência a esse tipo de inseticida na população de *E. connexa* objeto de estudo do presente trabalho. Entretanto, estudos indicam que indivíduos resistentes possuem desempenho biológico inferior quanto a fecundidade em relação aos insetos suscetíveis (Ferreira *et al.* 2013, Lira *et al.* 2016, Santos *et al.* 2016, D'Avila *et al.* 2018). Apesar da resistência garantir a sobrevivência da joaninha quando exposta a alguns piretroides, o *trade off* entre sobrevivência e desempenho biológico pode dificultar a sua multiplicação, em laboratório, bem como gerar diferentes consequências, ainda, desconhecidas para a manutenção da espécie exibindo esta característica, em campo.

Relevância do Estudo

O MIP tem como essência a integração de métodos de controle visando reduzir a densidade populacional da praga a níveis que não causam perdas econômicas. Para tanto, as infestações de pragas são regularmente monitoradas para determinar se essas populações atingem níveis que equivalem ao nível de controle. Para as populações no nível de controle é tomada uma decisão para a adoção de um método de controle, que reduz a sua densidade a níveis abaixo do nível de dano. Dentre os diversos métodos de controle disponíveis para a utilização, o controle químico é o mais empregado de forma curativa pela premissa de rápida ação sobre a população presente, independente da densidade. Contudo, esta decisão é esperada ocorrer para, apenas, algumas espécies de herbívoros de um agroecossistema quando adotando o MIP, ou seja, àquelas que suas populações atingem o nível de controle e, portanto, *status* de praga. Por outro lado, a maioria das espécies é impactada pela ação dos fatores abióticos (do clima como a precipitação) e ação dos fatores bióticos (agentes de controle biológico como os entomopatógenos e entomófagos). Assim, as espécies que assumem o *status* de praga, requerendo medidas de controle curativas, como a utilização de inseticidas, são aquelas que por alguma razão escaparam do controle natural (Holling 1959, May 1977, Dwyer *et al.* 2004). De fato, é predito que surtos populacionais ocorrem quando os predadores falham na regulação das populações em baixas densidades (May 1977), o que justifica a conservação e adoção de práticas para preservar e estimular a ação do controle biológico com predadores nos agroecossistemas, como forma de prevenir surtos de pragas. Esta premissa é suportada pelos inúmeros casos de surtos de pragas após a utilização de inseticidas não seletivos (exemplos em Johnson & Tabashnik 1999, Machado *et al.* 2019), como resultado do impacto negativo sobre os inimigos naturais.

As principais causas de surtos de pragas citadas na literatura são: mudanças climáticas, introdução de espécies exóticas, desenvolvimento de resistência a inseticidas, monoculturas com espécies suscetíveis e destruição da entomofauna dos inimigos naturais. Com a exceção das mudanças climáticas, que não são passíveis de manipulação imediata nos agroecossistemas, as demais causas são passíveis de mitigação através do MIP. Entre essas causas, duas são relacionadas com o estudo proposto, uma diretamente via conservação dos inimigos naturais através da seletividade fisiológica, com uso de inimigo natural resistente a inseticidas, e dois, que indiretamente, impacta o desenvolvimento de insetos pragas resistentes a inseticidas. Isto porque a manutenção dos inimigos naturais nos agroecossistemas, após uma pulverização, oferece controle sobre os indivíduos remanescentes e, supostamente, resistente ao inseticida utilizado.

A joaninha predadora, *E. connexa*, é encontrada naturalmente em diversos agroecossistemas, associada a infestações de pragas Sternorrhyncha, as quais não são alvo de controle com uso de inseticidas piretroides. Ainda, o uso de inseticidas piretroides é uma das causas de surtos de espécies Sternorrhyncha (Deguine et al. 2000, Gaber et al. 2015), por impactarem negativamente os seus inimigos naturais. Por outro lado, *E. connexa* tem apresentado resistência a inseticidas piretroides devido à grande utilização desses produtos nos ambientes em que essas joaninhas se encontram (Rodrigues ARS et al. 2013, Torres et al. 2015, Costa et al. 2018). Assim, devido a incompatibilidade entre o controle biológico e o controle químico, a resistência apresentada pela *E. connexa* pode ser utilizada como forma de sua conservação e auxiliar o MIP (Torres 2012). A permanência desse inimigo natural em campo, após a necessidade de uma pulverização para o controle de insetos desfolhadores com piretroides, visa então reduzir os surtos comuns de Sternorrhyncha após a pulverização.

Após a liberação em campo, é esperado ocorrer a redução da frequência de indivíduos resistentes na população resistente da joaninha *E. connexa*, em um ambiente que não haja pressão

de seleção, visto que podem ocorrer cruzamento entre indivíduos suscetíveis e resistentes (Lira *et al.* 2016). Além disso, adultos de joaninhas apresentam dispersão entre os agroecossistemas (Ceura 2003), aumentando a possibilidade de evasão da resistência na área de interesse, o que implicaria em uma maior frequência de liberação das joaninhas para o estabelecimento da resistência na área de interesse.

Ainda, a resistência de *E. connexa* impõe um custo adaptativo com menor fecundidade para a população resistente comparada a população suscetível (Ferreira *et al.* 2013, Lira *et al.* 2016, Santos *et al.* 2016, D'Avila *et al.* 2018). Contudo, o cruzamento entre indivíduos suscetíveis e resistentes, produz descendentes com ganhos no desempenho (Lira *et al.* 2016), mas com redução da razão de resistência. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade da resistência de *E. connexa* ao inseticida lambda-cialotrina, em dois ambientes que simularam o que acontecerá em campo, após a liberação: agroecossistemas com recorrente aplicações de inseticidas piretroides (mantendo a pressão de seleção), e agroecossistemas sem aplicações inseticidas ou aplicações de inseticidas seletivos não piretroides (i.e., sem pressão de seleção). A pressão de seleção tem como hipótese eliminar os indivíduos suscetíveis na população mantendo o *status* da resistência (fenótipo resistente) na população, enquanto a ausência da pressão de seleção permitirá a manutenção de descendentes suscetíveis na população (fenótipo suscetível), bem como sua irradiação devido ao maior desempenho reprodutivo comparado aos indivíduos resistentes. Também, com o cruzamento com indivíduos suscetíveis é esperado um ganho de variabilidade na população e ganho no desempenho, mas com os descendentes apresentando perda do nível de resistência comparado com a população parental resistente. Então, para recuperar o nível de resistência, a população descendente foi re-selecionada, com monitoramento tanto do nível de resistência e como do desempenho, afim de averiguar se após a recuperação do nível resistência a

população mantém o ganho de desempenho promovido devido o cruzamento entre resistente e suscetível.

Literatura Citada

- APRD 2022.** Arthropod Pesticide Resistance Database. Disponível em www.pesticideresistance.org. Acesso em 28/02/2022.
- Arnaud, L. & E. Haubruge. 2002.** Insecticide resistance enhances male reproductive success in a beetle. *Evolution* 56: 2435–2444.
- Assogba, B.S., P. Milesi, L.S. Djogbénu, A. Berthomieu, P. Makoundou, L.S. Baba-Moussa, A.S. Fiston-Lavier, K. Belkhir, P. Labbe & M. Weill. 2016** The ace-1 locus is amplified in all resistant *Anopheles gambiae* mosquitoes: fitness consequences of homogeneous and heterogeneous duplications. *PLoS Biol* 14: e2000618.
- Balanza, V., J.E. Mendoza, D. Cifuentes & P. Bielza. 2021.** Selection for resistance to pyrethroids in the predator *Orius laevigatus*. *Pest Manag. Sci.* 77: 2539–2546.
- Barbosa, P.A. 1998.** Conservation biological control. San Diego, Elsevier, 396p.
- Bass, C. 2017.** Does resistance really carry a fitness cost? *Curr. Opin. Insect Sci.* 21: 39–46.
- Bass, C., C.T. Zimmer, J.M. Riveron, C.S. Wilding, C.S. Wondji, M. Kausmann, L.M. Field, M.S. Williamson & R. Nauen. 2013.** Gene amplification and microsatellite polymorphism underlie a recent insect host shift. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 19460–19465.
- Belinato, T.A., A.J. Martins & T. Stanislav. 2016.** Insecticide resistance and fitness cost. *Insecticides Resistance: InTech*, 243–261.
- Bielza, P. 2016.** Insecticide resistance in natural enemies, p. 313-329. In R.A. Horowitz & I. Ishaaya (eds.), *Advances in insect control and resistance management* Springer, Cham, 329p.
- CABI 2022.** Centre for Agriculture and Biosciences International. Disponível em <https://www.cabi.org/isc/datasheet/47720>. Acesso em 03/01/2022.
- Campos, M. R., A.R.S. Rodrigues, W.M. Silva, T.B.M. Silva, V.R.F. Silva, R.N.C. Guedes & H.A.A. Siqueira. 2014.** Spinosad and the tomato borer *Tuta absoluta*: a bioinsecticide, an invasive pest threat, and high insecticide resistance. *PLoS One*, 9: e103235.

- Ceura, L. M. 2003.** Efecto de la fragmentación, pérdida de hábitat y aislamiento de alfalfa sobre la abundancia y dispersión de *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). Tesis Pregrado, Santiago, UCHILE, 63p.
- Chen, X. D., T.A. Ebert, K.S. Pelz-Stelinski & L.L. Stelinski. 2020.** Fitness costs associated with thiamethoxam and imidacloprid resistance in three field populations of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) from Florida. *Bull. Entomol. Res.* 1–9.
- Costa, P.M.G., J.B. Torres, V.M. Rondelli & R. Lira. 2018.** Field-evolved resistance to λ -cyhalothrin in the lady beetle *Eriopis connexa*. *Bull. Entomol. Res.* 108: 380–387.
- Coustau, C., C. Chevillon & R. ffrench-Constant. 2000.** Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? *Trends Ecol. Evol.* 15: 378–383.
- Croft, B. A. 1990.** Arthropod biological control agents and pesticides. John Wiley and Sons Inc, 723p.
- Crow, J.F. 1957.** Genetics of insecticide resistance to chemicals. *Annu. Rev. Entomol.* 2: 227–246.
- D’ávila, V.A., W.F. Barbosa, L.C. Reis, B.S.A. Gallardo, J.B. Torres & R.N.C. Guedes. 2018.** Lambda-cyhalothrin exposure, mating behavior and reproductive output of pyrethroid-susceptible and resistant lady beetles (*Eriopis connexa*). *Crop Prot.* 107:41–47.
- Davies, A.G., A.Y. Game, Z. Chen, T.J. Williams, S. Goodall, J.L. Yen, J.A. McKenzie & P. Batterham. 1996.** Scalloped wings is the *Lucilia cuprina* Notch homologue and a candidate for the modifier of fitness and asymmetry of diazinon resistance. *Genetics* 143: 1321–1337.
- Deguine, J.P., E. Gozé, & F. Leclant. 2000.** The consequences of late outbreaks of the aphid *Aphis gossypii* in cotton growing in Central Africa: towards a possible method for the prevention of cotton stickiness. *Int. J. Pest Manage.* 46: 86–89.
- Diniz, D.F.A., M.A.V. Melo-Santos, E.M. Mendonça Santos, E.B. Beserra, E. Helvecio, D. Carvalho-Leandro, B.S. Santos, V.L.M Lima & C.F.J. Ayres. 2015.** Fitness cost in field and laboratory *Aedes aegypti* populations associated with resistance to the insecticide temephos. *Parasite Vector* 8: 662.
- Dwyer, G., J. Dushoff & S.H. Yee. 2004.** The combined effects of pathogens and predators on insect outbreaks. *Nature* 430: 341–345.
- Ehler, L. E. 2006.** Integrated pest management (IPM): definition, historical development and implementation, and the other IPM. *Pest Manag. Sci.* 62: 787–789
- Evans, E. W. 2009.** Lady beetles as predators of insects other than Hemiptera. *Biol. Control* 51: 255–267.

- Feng, Y.T., Q.J. Wu, B.Y. Xu, S.L. Wang, X.L. Chang, W. Xie & Y.J. Zhang. 2009.** Fitness costs and morphological change of laboratory-selected thiamethoxam resistance in the B-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *J. Appl. Entomol.* 133: 466–472.
- Ferreira, E.S., A.R. Rodrigues, C.S. Silva-Torres & J.B. Torres. 2013.** Life-history costs associated with resistance to lambda-cyhalothrin in the predatory ladybird beetle *Eriopis connexa*. *Agric. For. Entomol.* 15: 168–177.
- Gaber, A.S., A.A. Abd-Ella, G.H. Abou-Elhagag & Y.A. Abdel-Rahman 2015.** Field efficiency and selectivity effects of selected insecticides on cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididea) and its predators. *J. Phytopathol. Pest Manag.* 2: 22–35.
- 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.
- Harterreiten-Souza, É.S., P.H.B. Togni, P.V.G.N. Milane, K.R. Cavalcante, M.A. Medeiros, C.S.S. Pires & E.R. Sujii. 2012.** Seasonal fluctuation in the population of *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) (Coleoptera: Coccinellidae) and co-occurrence with other Coccinellids in the Federal District of Brazil. *Pap. Avulsos Zool.* 52: 134–140.
- Hodek, I. & A. Honěk. 2009.** Scale insects, mealybugs, whiteflies and psyllids (Hemiptera, Sternorrhyncha) as prey of ladybirds. *Biol. Control.* 51: 232_243.
- Holling, C.S. 1959.** Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Can. Entomol.* 91: 293–320.
- Homem, R. A., B. Buttery, E.E. Richardson, Y. Tan, L.M. Field, M.S. Williamson & T.E. Davies. 2020.** Evolutionary trade-offs of insecticide resistance—the fitness costs associated with target-site mutations in the nAChR of *Drosophila melanogaster*. *Mol Ecol.* 29: 2661–2675.
- Hoskins, W.M., A.D. Borden & A.E. Michelbacher. 1939.** Recommendations for a more discriminating use of insecticides. *Proc. 6th Pac. Sci. Congr.* 5: 19–23
- IRAC 2021.** Insecticide Resistance Action Committee. Disponível em <https://irac-online.org/>. Acesso em 20/12/2021.
- 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.
- Kliot, A., & M. Ghanim. 2012.** Fitness costs associated with insecticide resistance. *Pest Manag. Sci.* 68: 1431–1437.

- Kogan, M. 1998.** Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. *Annu. Rev. Entomol.* 43: 243–270
- Koppert 2021.** Koppert Biological Systems. Disponível em <https://www.koppert.com>. Acesso em 20/12/2021.
- Kovář, I. 1996.** Phylogeny, p. 19–31. In I. Hodek & A. Honek (eds.), *Ecology of Coccinellidae*. Dordrecht, Springer, 464p
- 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.
- Lira, R., A.R.S. Rodrigues & J.B. Torres. 2016.** Fitness advantage in heterozygous ladybird beetle *Eriopis connexa* (Germar) resistant to lambda-cyhalothrin. *Neotrop. Entomol.* 45: 573–579.
- Lira, R., D.V. Nascimento, J.B. Torres & H.A.A. Siqueira. 2019.** Predation on diamondback moth larvae and aphid by resistant and susceptible lady beetle, *Eriopis connexa*. *Neotrop. Entomol.* 48: 909–918.
- Machado, A.V.A., D.M. Potin, J.B. Torres & C.S.A. Silva-Torres. 2019.** Selective insecticides secure natural enemies action in cotton pest management. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 184, e109669.
- Magro, A., E. Lecompte, F. Magné, J.L. Hemptinne & B. Crouau-Roy. 2010.** Phylogeny of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae): are the subfamilies monophyletic? *Mol. Phylogenet. Evol.* 54: 833–848.
- May, R. M. 1977.** Thresholds and breakpoints in ecosystems with a multiplicity of stable states. *Nature* 269:471–477
- Metcalf, R. L. & W. H. Luckmann. 1994.** Introduction to insect pest management. Chichester, John Wiley & Sons, 672p.
- Michaud, J. P. 2012.** Coccinellids in biological control, p. 488–519. In I. Hodek, A. Honek & H.F. Van Emden (eds.), *Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae)*. Chichester, John Wiley & Sons, 604p.
- Michaud, J.P. 2019.** Problems inherent to augmentation of natural enemies in open agriculture. *Neotrop. Entomol.* 47: 161–170.
- Montes, O. 1970.** Biology and morphology of *Eriopis connexa* Germar 1824 and of *Addict bipunctata* Linnaeus 1758 (Coleoptera). *Publ del Cent. de Estud. Entom. UChile* 10: 43 – 56.

- Obrycki, J.J. & T.J. Kring. 1998.** Predaceous Coccinellidae in biological control. *Annu. Rev. Entomol.*43: 295–321.
- Oliveira, E.E., R.N.C. Guedes, M.R. Tótola & P. Marco Jr. 2007.** Competition between insecticide-susceptible and-resistant populations of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Chemosphere* 69: 17–24.
- 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 carnae* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol.* 103: 823–834.
- Perkins, J. H. 2002.** History, p. 368–372. In D. Pimentel (eds.) *Encyclopedia of pest management*, New York, CRC Press, 931p.
- Peronti, A.L.B., N.M. Martinelli, J.G. Alexandrino, A.L. Massaro Júnior, A.M. Penteado-Dias & L.M. Almeida. 2016.** Natural enemies associated with *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in the state of São Paulo, Brazil. *Fla. Entomol.* 99: 21–25.
- PROMIP 2021.** PROMIP Manejo Integrado de Pragas. Disponível em <https://promip.agr.br/insidiomip/>. Acesso em 20/12/2021.
- Radcliffe, E.B., W.D. Hutchison & R.E. Cancelado. 2009.** *Integrated pest management: concepts, tactics, strategies and case studies*. Cambridge, Cambridge University Press, 552p.
- Rezende, M.Q., J.L. Almeida Campos, L.M.B. Coelho & D.L. Queiroz Santana. 2016.** Coleoptera, Coccinellidae, *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773): new record in Minas Gerais, southeastern Brazil. *Check List* 6: 465–466.
- Rodrigues, A.R.S., A.F. Spindola, J.B. Torres, H.A. Siqueira & F. Colares. 2013.** Response of different populations of seven lady beetle species to lambda-cyhalothrin with record of resistance. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 96: 53–60.
- Rodrigues, A.R.S.; H.A.A. Siqueira & J.B. Torres. 2014.** Enzymes mediating resistance to lambda-cyhalothrin in *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 110: 36–43.
- Rodrigues, A.S., R.N.C. Guedes, H.A.A. Siqueira & J.B. Torres. 2020.** Stability of the resistance to lambda cyhalothrin in the ladybird beetle *Eriopis connexa*. *Entomol. Exp. Appl.* 168: 644–652.
- Santos, D.S., A.R.S. Rodrigues, J.B. Torres & R. Lira. 2016.** Performance of *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) resistant to lambda-cyhalothrin after extended recovery from knockdown. *Neotrop. Entomol.* 45: 718–724.
- Slipinski, A. 2007.** *Australian ladybird beetles (Coleoptera: Coccinellidae): their biology and classification*. Canberra, CSIRO Publishing, 286p.

- Smith, H.S. 1919.** On some phases of insect control by biological method. *J. Econ. Entomol.* 4: 288–292.
- 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.
- Taquet, A., H. Delatte, B. Barrès, C. Simiand, M. Grondin & H. Jourdan-Pineau. 2020.** Insecticide resistance and fitness cost in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) invasive and resident species in La Réunion Island. *Pest Manag. Sci.* 76: 1235–1244.
- Torres, J.B. 2012.** Insecticide resistance in natural enemies - seeking for integration of chemical and biological controls. *J. Biofertil. Biopestic.* 3:1–3.
- Torres, J.B. & A.F. Bueno. 2018.** Conservation biological control using selective insecticides – a valuable tool for IPM. *Biol. Control* 126: 53–64.
- Torres, J.B., C.S. Bastos & D. Pratissoli. 2009.** Controle biológico de pragas com uso de insetos predadores. *Inf. Agropec.* 30: 17–32.
- Torres, J.B., J.C. Zanuncio & M.A. Moura. 2006.** The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval control in *Eucalyptus* in Brazil. *Biocontrol News and Inf.* 27: 1–18.
- Torres, J.B., A.R.S Rodrigues, E.M. Barros & D.S. Santos. 2015.** Lambda-cyhalothrin resistance in the lady beetle *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) confers tolerance to other pyrethroids. *J. Econ. Entomol.* 108: 60–68.
- Van Driesche, R., M. Hoddle & T. Center. 2009.** Control of pests and weeds by natural enemies: an introduction to biological control. Hoboken, Wiley-Blackwell, 484p.
- Weinzierl, R. A. 2009.** Integrating pesticides with biotic and biological control for arthropod, p. 179–191. In E.B. Radcliffe, W.D. Hutchison & R.E. Cancelado (eds), *Integrated pest management: Concepts, tactics, strategies and case studies*. Cambridge, Cambridge University Press, 552p.
- Whitcomb WH. 1981.** The use of predators in insect control, p. 105–123. In D. Pimentel (ed.), *Encyclopedia of pest management*. Vol. II, West Palm Beach, CRC Press, 784p.
- Yu S.J. 2015.** The toxicology and biochemistry of insecticides, 2nd edn. Boca Raton, CRC Press, 380p.
- Zhang, H., A. Chen, T. Shan, W. Dong, X. Shi & X Gao. 2020.** Cross-resistance and Fitness Cost Analysis of Resistance to Thiamethoxam in Melon and Cotton Aphid (Hemiptera: Aphididae). *J. Econ. Entomol.* 113: 1946–1954.

CAPÍTULO 2

STATUS DA RESISTÊNCIA À LAMBDA-CIALOTRINA EM *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) APÓS LIBERAÇÃO, HETEROSE E RE-SELEÇÃO¹

DEIVIDY V. NASCIMENTO²

²Departamento de Agronomia - Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua
Dom Manoel de Medeiros, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

¹Nascimento, D.V. Status da resistência à lambda-cialotrina em *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae) após liberação, heterose e re-seleção A ser submetido.

RESUMO – A exposição de *Eriopis connexa* (Germar) a piretroides tem resultado na seleção de populações resistência (R). A resistência confere à *E. connexa* a capacidade de sobreviver eventuais aplicações de lambda-cialotrina. Contudo, a estabilidade desta resistência após liberação a campo pode depender de fatores como pressão de seleção (i), frequência de acasalamento com indivíduos suscetíveis (S) (ii), e do desempenho reprodutivo devido ao custo adaptativo da resistência (iii). Experimentos foram conduzidos incluindo livre acasalamento entre adultos de ambos os fenótipos (R e S), seguido por pressão de seleção, re-seleção e determinação do nível de resistência, bem como estudos de biologia para medir o desempenho reprodutivo. A porcentagem de sobrevivência na descendência do cruzamento R×S sem pressão de seleção, é reduzida ao longo das gerações, mas ainda apresenta indivíduos sobreviventes após quatro gerações indicando ainda a presença do fenótipo R. Quando os descendentes do cruzamento R×S foram submetidos a pressão de seleção, a sobrevivência foi igual ou superior ao esperado (50%). Fêmeas da geração F1 do cruzamento R×S apresentaram ganho em fecundidade e sobrevivência; porém, o ganho na fecundidade não foi mantido após re-seleção. A população R parental apresenta menor longevidade que as populações S e R×S, mas com produção de ovos concentrada no início da fase adulta, favorecendo o seu desempenho com menor tempo de geração. A manutenção da resistência em populações de *E. connexa*, após a liberação, dependerá da pressão de seleção, e na sua ausência a proporção de indivíduos com fenótipos R reduz, mas não é totalmente perdido na população. Assim, indivíduos com o fenótipo R podem ser re-selecionados, explicado em parte, a ocorrência comum de populações de *E. connexa* resistentes à lambda-cialotrina.

PALAVRAS-CHAVE: Estabilidade da resistência, piretroide, liberação de inimigo natural, tabela de vida, custo adaptativo

STATUS OF LAMBDA-CYHALOTHRIN RESISTANCE IN *Eriopis connexa* (GERMAR)
(COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) AFTER RELEASE, HETEROSIS AND RESELECTION

ABSTRACT – Exposure of *Eriopis connexa* (Germar) to pyrethroids has resulted in its selection for resistance (R). The found resistance in *E. connexa* allows its survival under applications of the pyrethroid lambda-cyhalothrin. However, the stability of this resistance after field release may depend on factors such as selection pressure (i), frequency of mating with susceptible phenotypes (S) (ii), and reproductive performance due to the adaptive cost of resistance (iii). To address these factors, experiments included mass copulations between R and S phenotypes, followed by selection pressure, reselection and resistance level determination. In addition, we measured the reproductive performance of R and S parental and the cross R×S. Percentage survival in R×S offspring reduces over the generations without selection pressure but still shows survival after four generations indicating the presence of the R phenotype in the population. When crossed R×S offspring were submitted to selection pressure, survival was equal or greater than the expected 50%. Fecundity and survival were higher in the first-generation R×S females. The enhancement of fecundity did not maintain after reselection. The parental R population exhibited lower survival than the S and R×S populations, but with egg production concentrated in the initial stage of adulthood, favoring its performance with a shorter generation time. Therefore, resistance in *E. connexa* after release will depend on selection pressure, although in the absence of selection pressure, the R phenotypes was not complete lost. Further, the R phenotypes can be reselected and explain, in part, the common occurrence of lambda-cyhalothrin resistant in *E. connexa*.

KEY WORDS: Resistance stability, pyrethroid, natural enemy release, fertility life table, adaptive cost

Introdução

A joaninha, *Eriopsis connexa* (Germar), é frequentemente encontrada em vários agroecossistemas. A sua ocorrência, quase sempre está associada a infestações de populações de insetos sugadores, com relevância no controle biológico natural de pulgões. Podendo, este controle natural, ser prejudicado pelo uso de inseticidas, em especial aqueles de largo espectro como os piretroides, os quais são aplicados para o controle de desfolhadores e, muitas vezes, responsáveis por surtos de pulgões após a aplicação (Deguine *et al.* 2000, Gaber *et al.* 2015). A conservação de *E. connexa*, bem como de outros inimigos naturais, é importante no controle das populações de pulgões e, conseqüentemente, reduzir a aplicação de inseticidas como benefício direto. Ainda, pode-se indiretamente contribuir para a redução do impacto ambiental e retardar o surgimento de populações resistentes de pulgões a inseticidas. Além de atuar no controle natural de pulgões, *E. connexa* também se alimenta de várias outras pragas como ácaros, moscas-branca, psilídeos, ovos e pequenas larvas de lepidópteros (Gordon 1985, Rodrigues *et al.* 2013, Lira *et al.* 2019).

Por sua vez, os inseticidas piretroides são amplamente recomendados para o controle de pragas desfolhadoras basicamente em todos os agroecossistemas com ocorrência natural de *E. connexa*, apresentando uma vasta disponibilidade no mercado brasileiro (13 ingredientes ativos e 143 formulações, AGROFIT 2021). Entre os piretroides, a lambda-cialotrina destaca-se por estar disponível em 36 formulações comerciais (AGROFIT 2021). A ampla exposição de *E. connexa* à lambda-cialotrina tem acarretado sua seleção para resistência (Rodrigues *et al.* 2013, Torres *et al.* 2015, Costa *et al.* 2018), possibilitando sua sobrevivência às exposições de lambda-cialotrina (Spindola *et al.* 2013), e outros piretroides (Torres *et al.* 2015, Lira *et al.* 2019), favorecendo então sua integração com o controle químico e, assim, o manejo integrado de pragas, em especial de pulgões.

A resistência à lambda-cialotrina da população de *E. connexa* estudada, é conferida pela ação de enzimas detoxificativas (Rodrigues *et al.* 2014, Rodrigues *et al.* 2020), que por sua vez gera um custo para os indivíduos resistentes resultando em menor potencial reprodutivo, comparado aos indivíduos suscetíveis (Ferreira *et al.* 2013, Lira *et al.* 2016, Santos *et al.* 2016, D'Avila *et al.* 2018). Sendo esse custo recuperado na descendência do cruzamento de indivíduos resistente e suscetível, considerado com uma contribuição da heterose (Lira *et al.* 2016).

A manutenção do fenótipo resistente na população após a liberação pode variar, em função de alguns fatores, como: (i) custo adaptativo associado ao fenótipo resistente (McKenzie & Batterham 1994) (ii); dominância dessa característica (Gheorghiu & Taylor 1977) (iii); presença da pressão de seleção (Crow 1957, Georghiou & Taylor 1977), e (iv) a dinâmica de imigração de indivíduos suscetíveis na população (por exemplo, acasalamento entre indivíduos resistentes e suscetíveis) (Dunley & Croft 1992, Queiroz & Sato 2020). Contudo, a ausência da pressão de seleção e a constante imigração de indivíduos com alelos suscetível para a população resistente parecem ser os fatores que resultam em rápida redução da resistência na população. De fato, que a resistência da *E. connexa*, à lambda-cialotrina é basicamente perdida após quatro gerações de cruzamento com indivíduos suscetíveis (Lira *et al.* 2016). Sem pressão de seleção e sem acasalamento com indivíduos suscetível, a resistência é reduzida em $\approx 50\%$ após quatro gerações, mas tornando-se estável, visto que é uma característica que está estável sem pressão a uma razão de resistência de ≈ 39 vezes (Rodrigues *et al.* 2020).

Tendo em vista o conhecimento sobre a resistência de *E. connexa* à lambda-cialotrina, os potenciais fatores associados a redução da resistência após liberação a campo, e a pouca exploração do uso de inimigos naturais resistentes a inseticidas em programas de controle biológico, neste estudo testamos a hipótese de que o fluxo de alelo responsável pela suscetibilidade para a população resistente, devido ao acasalamento com indivíduos suscetível,

após a liberação em massa, irá reduzir a resistência (i), mas que a pressão de seleção com aplicação de lambda-cialotrina irá manter indivíduos resistentes no ambiente. Também, que a população de *E. connexa*, resistente à lambda-cialotrina, ao acasalar com indivíduos suscetíveis, reduz o nível de resistência, mas indivíduos resistentes podem ser re-selecionados com ganho no desempenho (ii), devido a heterose. Assim, os objetivos deste estudo foram submeter de forma massal (escolha livre) o acasalamento entre indivíduos resistentes e suscetíveis à lambda-cialotrina, estudar a resposta da descendência quanto ao fenótipo de resistência, conduzir re-seleção de indivíduos resistentes por cinco gerações avaliando o nível de resistência e o desempenho reprodutivo da descendência.

Material e Métodos

Os Experimentos foram conduzidos empregando cruzamentos ao acaso entre adultos resistentes e suscetíveis de *E. connexa*, para entender o custo adaptativo e como a re-seleção poderia beneficiar o desempenho da espécie, bem como avaliar como o nível de resistência ocorreria na descendência dos cruzamentos com e sem pressão de seleção com lambda-cialotrina, aplicada na dosagem máxima recomendada. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos, do Departamento de Agronomia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE. Criações e experimentação foram realizados em sala climatizada à $25 \pm 1,0$ °C, fotoperíodo de 12:12 h (L:E), e umidade relativa ambiente variando de 60 a 74%.

Criação dos Insetos. As populações de *E. connexa* foram duas: uma resistente à lambda-cialotrina (EcViR) caracterizada por Rodrigues *et al.* (2013, 2014), e uma população padrão de suscetibilidade (EcFM). A população EcViR encontrava-se na 104^a geração de laboratório sob pressão de seleção (F104), já a população suscetível encontrava-se na 1^a geração (F1) sendo

coletada em área de algodão, cultivada com baixo uso de insumos químicos, situada na comunidade do Algodão do Manso, Frei Miguelinho, PE (-7.91917500 S, -35.86266667 O), em 24 de setembro de 2020. As joaninhas foram coletadas manualmente ou com o auxílio de rede de varredura, armazenadas em potes de 80mL e transportadas para o laboratório para estabelecimento da população. A susceptibilidade à lambda-cialotrina da geração F1 (SF1), desta população, foi verificada por meio de bioensaio de dose-mortalidade, conforme descrito no tópico “determinação da curva dose-mortalidade”.

Adultos de ambas as populações, EcViR e EcFM, foram criados separadamente em gaiolas de acrílico transparente com dimensões de 50 × 40 × 50 cm (C × L × A) contendo aberturas laterais circulares de ≈10cm de diâmetro, e fechadas com tecido *voil* para permitir a circulação de ar no seu interior. Folhas de papel toalha foram dispostas no interior das gaiolas como substrato para oviposição. As posturas foram coletadas e transferidas para recipientes transparentes de 80mL de volume tipo coletor universal (J.Prolab®, São José dos Pinhais, PR). Após a eclosão, as larvas foram criadas na densidade de três larvas por recipiente, onde foram mantidas até a fase adulta. No interior dos recipientes foram colocados pedaços de papel toalha de ≈4cm² para absorção de umidade, reduzir o contato e canibalismo entre as larvas, e substrato para a pupação. Tanto as larvas quanto os adultos foram alimentados com ovos de *Ephestia kuehniella* (Zeller), em abundância.

Determinação da Curva Dose-Mortalidade (Exp. #1). Curvas de dose-mortalidade foram calculadas para ambas as populações EcViR e EcFM, no início dos experimentos, com lambda-cialotrina em grau técnico (99,5%; Chem Service, West Chester, PA, EUA), diluída em acetona. A aplicação consistiu na deposição de 0,5µL da dose estipulada para cada população, na parte ventral do abdome dos insetos adultos com 4-5 dias de idade, com o auxílio de uma seringa Hamilton™ (Hamilton Company, Reno, NV, USA) de 25µL de volume, acoplada a um aplicador

de repetição controlada. Foram empregados 120 e 139 adultos de EcViR e EcFM, respectivamente, e sete doses de lambda-cialotrina. Após a aplicação das doses, os adultos foram mantidos em placas de Petri de vidro (10 × 1,5 cm de diam. × A). Ovos de *E. kuehniella* foram oferecidos em abundância no interior das placas como alimento e a mortalidade anotada após 48 h. Sendo consideradas como mortos aqueles indivíduos expressando incapacidade de locomoção quando excitados.

Status de Suscetibilidade Com e Sem Pressão de Seleção após Liberação (Exp. #2). O experimento consistiu em adultos EcViR da geração 104 (RF104) e EcFM na primeira geração (SF1) liberados em massa permitindo chance livre de cópula entre eles (SF1×SF1, RF104×RF104, SF1×RF104+Ins, SF1×RF104-Ins), simulando o encontro dos mesmos em campo. Em seguida, sendo submetidos ou não a pressão de seleção com aplicação de lambda-cialotrina. O experimento foi conduzido por quatro gerações sucessivas com a hipótese do retorno ao status da suscetibilidade da população, em condições sem pressão de seleção (Crow 1957, Lira *et al.* 2016).

A chance de escolha livre de cópula e exposição à aplicação inseticida foi realizada empregando gaiolas de 30 × 100 cm (Diam × A) contendo plantas de algodão. Sendo as gaiolas confeccionadas de folhas de acetato 0,544gr (Promom Indústria Comércio Ltda, Andradina, SP), contendo aberturas na parte superior e duas aberturas laterais retangulares de 15 × 20 cm fechadas com tela anti-afídeo. No interior dessas gaiolas foram confinadas plantas de algodão cultivadas em vasos plásticos de 8L de volume, tendo ≈70 cm de altura e infestadas com o pulgão-do-algodoeiro, *Aphis gossypii* (Glover). Como a liberação constou de muitos insetos e mantidos por dois dias juntos, foi adicionado ≈1g de ovos de *E. kuehniella*, fixados com goma arábica a 10% (p/v diluída em água), entre a 3^a e 4^a folhas do topo das plantas, para garantir abundância de presa. Imediatamente após as liberações das joaninhas, foi realizada a pulverização com o inseticida lambda-cialotrina (Karate Zeon[®] 50 CS, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, SP, Brasil),

empregando a máxima dosagem recomendada do inseticida comercial de 400mL em 150L de água (AGROFIT 2021), mais 0,05% do espalhante adesivo Haiten® (Arysta Lifescience do Brasil, Pirapora, SP). A aplicação foi realizada com um pulverizador manual de 1,25L (Guarany®, Itú, SP), regulado a pressão de $\approx 2,8$ Kgf/cm², até o ponto de escorrimento.

O experimento foi conduzido empregando um fatorial 2×2 representado pelas duas populações resistente (EcViR) e suscetível (EcFM) de *E. connexa* e as duas condições com e sem pressão de seleção, o que resulta em quatro tratamentos: *i*) RF104×SF1 com pressão de seleção ((R×S)+Ins); *ii*) RF104×SF1 sem pressão de seleção ((R×S)-Ins); *iii*) RF104×RF104 com pressão de seleção (R+Ins) e; *iv*) SF1×SF1 com pressão de seleção (S+ins). Os dois tratamentos sem cruzamento (*iii* e *iv*) foram empregados como testemunhas para avaliar a mortalidade com a aplicação inseticida. Adultos sexualmente maduros com 5 dias de idade (Colares *et al.* 2015, Silva *et al.* 2021) foram liberados na proporção 1:1 (EcViR:EcFM), sem distinção de sexo, visto que, a razão sexual de *E. connexa* é de $\approx 50\%$ (Zazycki *et al.* 2015) e permitidos acasalamentos de escolha livre (Andow & Alstad 1998). Nos tratamentos *i* e *ii* foram empregados 140 adultos liberados em duas gaiolas contendo plantas e presa (70 adultos por gaiola). Nos tratamentos *iii* e *iv*, seguiu-se o mesmo procedimento, com 120 insetos (60 adultos por gaiola).

Após 48h, tempo suficiente para acontecer acasalamento e os insetos R se recuperarem do efeito *knockdown* (Santos *et al.* 2016, Lira *et al.* 2016), a mortalidade dos indivíduos foi quantificada. Os insetos sobreviventes dos tratamentos *i* e *ii* foram coletados, criados e suas posturas coletadas para o estabelecimento das respectivas gerações descendentes (F1 a F4). Os acasalamentos foram repetidos de forma semelhante por quatro gerações sucessivas empregando os adultos descendentes da geração anterior mais indivíduos suscetíveis.

O status de suscetibilidade e resistência da descendência foi avaliado na descendência empregando uma amostra de 30 a 40 adultos de cada população submetida ao tratamento tópico com uma dose letal discriminatória para os fenótipos suscetíveis e resistentes. Assim, adultos descendentes de ambos os tratamentos com e sem exposição a dosagem comercial de lambda-cialotrina foram tratados com a DL_{99S} (1,5 mg i.a./mL), com a hipótese de 99% de mortalidade dos indivíduos suscetíveis. As DL_{99S} da população EcViR (F104) e EcFM (F1) são 42,9 e 1,5 mg i.a./mL, respectivamente (Tabela 1). O tratamento consistiu na aplicação do inseticida lambda-cialotrina em grau técnico diluída em acetona e avaliação foram realizados de forma semelhante como descrito no Exp. #1.

Após a quarta geração de liberação e pulverização, curvas dose-mortalidade também foram calculadas para as populações F4-[(R×S)-Ins] e F4-[(R×S)+Ins], empregando a lambda-cialotrina em grau técnico diluída em acetona, conforme descrito no Exp. #1.

Custo Adaptativo após Re-seleção para a Resistência (Exp. #3). O cruzamento de indivíduos resistentes e suscetíveis resultou em elevado ganho de fecundidade da descendência como um possível efeito de heterose e alelos suscetíveis na população (Lira *et al.* 2016). Em contrapartida, fêmeas da população resistente apresentam menor fecundidade que suscetível (Ferreira *et al.* 2013 Rodrigues *et al.* 2020). Desta forma, joaninhas suscetíveis (EcFM) de campo, caracterizadas no Exp. #1, foram criadas em laboratório e a geração F1 foi obtida (SF1). Os indivíduos SF1 foram pareados individualmente com indivíduos resistentes (EcViR), que se encontrava na 104^a geração (RF104), em laboratório, possuindo razão de resistência de 266 vezes (Tabela 1). Após os cruzamentos ♀RF104×♂SF1 e vice-versa ♂RF104×♀SF1, posturas foram coletadas ao acaso e empregadas para estabelecer dois grupos de indivíduos F1(RF104×SF1). Um grupo foi utilizado para o estudo de tabela de fertilidade visando determinar a taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) para mediar o desempenho da população (Exp. #3.1). A taxa intrínseca de

crescimento populacional é um parâmetro matemático que agrega todas as características biológicas da espécie (duração de desenvolvimento, sobrevivência da fase imatura, razão sexual, fecundidade diária, viabilidade de ovos e longevidade dos adultos). O outro grupo foi submetido a cinco gerações sucessivas sob pressão de seleção com lambda-cialotrina visando determinar o quanto se pode recuperar do nível de resistência após a introdução de alelos de suscetibilidade na população resistente, bem como manter o seu desempenho (Exp. #3.2).

Assim, foram estabelecidos três grupos (tratamentos) consistindo em indivíduos SF2 (i), indivíduos resistentes EcViR da 105^a geração (RF105) (ii), e indivíduos F1 do cruzamento (SF1×RF104) (iii) (Exp. #3.1). Cada tratamento foi iniciado com 60 larvas neonatas, primeiro instar. As larvas foram individualizadas em potes de 80-mL e criadas conforme descrito anteriormente até a fase adulta. A duração e sobrevivência da fase imatura e a razão sexual dos adultos foram anotadas. Após a emergência, os adultos foram criados isoladamente por cinco dias para obterem maturidade sexual (Silva *et al.* 2021). Após este período foram estabelecidos 25, 30 e 24 casais, respectivamente, para os tratamentos *i*, *ii* e *iii*. Os casais foram criados em potes de 80-mL contendo um pedaço de papel toalha que serviu como substrato para oviposição, além de reter umidade, e com alimentação abundante consistindo em ovos de *E. kuehniella*. Os casais foram vistoriados diariamente para a coleta e quantificação da oviposição diária, a qual foi monitorada para determinar viabilidade dos ovos, bem como anotar a data de mortalidade da fêmea.

Um segundo grupo de indivíduos foi formado com descendentes do cruzamento (RF104×SF1) e submetidos a pressão seleção, empregando entre 72 a 100 adultos por geração durante quatro gerações. Adultos com 5 a 8 dias de idade de emergência foram tratados com aplicação tópica de lambda-cialotrina, em grau técnico, nas diluições em acetona, 0,05 mg i.a./mL e 0,37 mg i.a./mL correspondentes as DL₅₀ e DL₉₀ da população EcFM (SF1), e 13 mg i.a./mL

correspondente a DL_{50} da população resistente (EcViR) (Tabela 1). A aplicação das doses de lambda-cialotrina, em cada indivíduo adulto, foi feita como descrito previamente. Após 48h da aplicação de lambda-cialotrina, a mortalidade foi anotada e os insetos sobreviventes foram transferidos para gaiola de criação, permitindo o acasalamento livre para originar indivíduos para a próxima geração de seleção. A partir deste primeiro resultado de sobrevivência, apenas dois tratamentos foram mantidos sob pressão de seleção com exposição à DL_{90} da população SF1 (0,37 mg i.a./mL) ou DL_{50} da população resistente (13 mg i.a./mL). Após cinco gerações de re-seleção, os indivíduos descendentes do cruzamento submetidos a pressão de seleção apresentaram sobrevivência consistente similar a população resistente (Tabela 2). Assim, um novo estudo de tabela de vida de fertilidade foi realizado para a determinação da taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m), conforme descrito anteriormente (Exp. #3.2).

Análise Estatística. Os resultados de mortalidade (Exp. #1) das populações de campo na primeira geração de adultos, em laboratório (SF1), e população resistente (RF104), bem como os descendentes após quatro gerações de re-seleção F4-[(R×S)-Ins] e F4-[(R×S)+Ins] do Exp. #2, foram submetidos à análise de Probit, para calcular as doses letais e, seus respectivos intervalos de confiança, a 95% de probabilidade, empregando o Proc Probit do SAS (SAS Institute 2002).

A hipótese de igualdade no status de suscetibilidade com e sem pressão de seleção dos indivíduos após o cruzamento SF1×RF104 foi testada com a mortalidade observada e esperada para os adultos expostos a dosagem comercial de lambda-cialotrina (Exp. #2), mediante o teste de qui-quadrado ($\alpha = 0,05$) através do Proc Freq do SAS (SAS Institute 2002). Em cada geração de adultos submetidos ao acasalamento e, posterior, com e sem pressão de seleção, a mortalidade foi anotada e comparada a mortalidade esperada de 100% para adultos SF1×SF1 com pressão de seleção; 50% de mortalidade para RF104×SF1 com pressão de seleção; 0% para RF104×SF1 e RF104×RF104 sem pressão de seleção durante as quatro gerações de exposição.

As características de imaturos e adultos das joaninhas dos grupos de insetos conduzidos no experimento de desempenho no desenvolvimento e reprodução, Exp. #3.1: SF2, RF105, e do cruzamento SF1×RF105, antes e após cinco gerações de re-seleção, foram empregados para comparação do desempenho e cálculo de parâmetros de crescimento populacional. Os dados de duração e viabilidade de ovo adulto, longevidade de fêmeas, número de ovos por fêmea e viabilidade de ovos foram submetidos a análise de variância não paramétrica pelo Proc NPAR1WAY (Teste de Kruskal-Wallis, KW). Nos casos de significância, as médias foram separadas através do teste de Wilcoxon ($\alpha = 0,05$). Ainda, os parâmetros de desempenho empregados para descrever o potencial de crescimento populacional ($N_t = N_o \cdot \exp^{r_m T}$), sendo T o tempo médio da geração ($T = \sum l_x \cdot m_x \cdot x / \sum l_x \cdot m_x$), e r_m a taxa intrínseca de crescimento populacional ($r_m = \ln R_0 / T$); onde x = idade específica; l_x = sobrevivência específica na idade x ; e m_x = descendentes fêmeas na população, foram calculados empregando o Proc Lifetest do SAS, seguindo o procedimento descrito por Maia *et al* (2000). Intervalos de confiança a 95% de probabilidade para as médias dos parâmetros foram estimados pelo método de Jackknife e empregados para comparação entre eles. O mesmo procedimento foi adotado para esses tratamentos após serem submetidos a cinco gerações de re-seleção para inferir sobre o ganho no desempenho após cruzamento e re-seleção.

Resultados

Determinação da Curva Dose-Mortalidade (Exp. #1). Os bioensaios com tratamento de adultos das populações EcFM (geração SF1 em laboratório de indivíduos recém coletados de campo) e EcViR (da RF104 geração de seleção.), resultaram em valores de DL_{50} e DL_{90} para SF1 de 0,05 e 0,37 mg i.a/mL, respectivamente, e DL_{50} de 13,3 mg i.a/mL para RF104 (Tabela 1). Essas DLs foram empregadas para quantificar o nível de resistência da geração F1 do cruzamento

SF1×RF104, bem como dar continuidade ao processo de seleção dos indivíduos descendentes do cruzamento SF1×RF104.

Status da Suscetibilidade Com e Sem Pressão de Seleção (Exp. #2). Na primeira liberação de adultos e pulverização, o tratamento S+Ins apresentou sobrevivência observada (11,4%) diferente do resultado esperado (0%), para a hipótese proposta ($\chi^2 = 8,48$; $P = 0,0008$) (Fig. 1). Na segunda, terceira e quarta liberações de adultos, a sobrevivência de adultos suscetível (S+Ins) e do cruzamento (S×R)+Ins apresentaram resultados de sobrevivência superior a sobrevivência esperada em todos os casos ($P < 0,0001$; Fig. 1). As sobrevivências observadas de adultos S+Ins e (S×R)+Ins foram de 40% e 81,7%, 48% e 75%, e 28% e 69,3% para a segunda, terceira e quarta geração, respectivamente, enquanto a sobrevivência esperada seria de 0% para S+Ins e de 50% para (S×R)+Ins (Fig. 1), quando expostos a máxima dosagem de lambda-cialotrina.

Os descendentes da primeira geração de adultos submetidos ou não a pressão de seleção com a dosagem comercial de lambda-cialotrina quando tratados com a DL_{99S}, apresentaram sobrevivência conforme a hipótese esperada de 0%, 100%, 50% e 50% para descendentes S+Ins, R+Ins, (R×S)+Ins e (R×S)-Ins (Fig. 2 – Geração F1). Nas gerações subsequentes (F2 a F4), ocorreu redução na sobrevivência comparada à esperada de 50% (χ^2 - P entre 0,012 a 0,003), para os descendentes do cruzamento sem pressão de seleção [(R×S)-Ins] (Fig. 2). Também, houve sobrevivência para indivíduos S+Ins tratados com lambda-cialotrina, enquanto o esperado era de 0% (Fig. 2 – Geração F3).

Após o quarto ciclo de liberações e pulverização, os resultados dos bioensaios de dose-mortalidade para as populações F4-[(R×S)-Ins] e F4-[(R×S)+Ins] resultaram em DL₅₀ de 0,62 e 2,0 mg i.a/mL e DL₉₀ de 5,3 e 9,9 mg i.a/mL, respectivamente (Tabela 1).

Custo Adaptativo após Re-seleção para a Resistência (Exp. #3). Adultos descendentes do cruzamento SF1×RF104 tratados com lambda-cialotrina demonstram a presença de fenótipos

suscetíveis na população (Tabela 2). A sobrevivência observada no primeiro ciclo de seleção da descendência do cruzamento SF1×RF104 foi inferior a sobrevivência esperada de 90% e 50% para a DL₉₀ SF1 e DL₅₀ RF104; porém houve 100% de sobreviventes quando tratados com a DL₅₀ SF1. Desta forma, o nível de resistência nas subseqüentes gerações de descendentes submetidos a re-seleção foi monitorado com a aplicação das DL₉₀ SF1 e DL₅₀ RF104. Os resultados de sobrevivência mostram que a pressão de seleção teve efeito com ganho na resistência, e que a partir da terceira geração, a sobrevivência observada tornou-se similar à esperada com a aplicação das respectivas DLs (Tabela 2).

As características de desenvolvimento e reprodução mostram variações entre os parentais (SF1 e RF105) e a primeira geração de seus descendentes, com exceção para o tempo de desenvolvimento, que foi de 15,8 a 16,1 dias (Tabela 3). As demais características, viabilidade de ovos e longevidade de fêmeas foram inferiores para fêmeas resistente (RF105), comparadas às fêmeas suscetível (SF1) e do cruzamento [F1(SF1×RF104)]. Fêmeas descendentes do cruzamento SF1×RF104 e fêmeas suscetível SF1 apresentaram similar longevidade, sendo de $\approx 2,2$ e 2,0 vezes superior que fêmeas resistentes (RF105). Também, fêmeas do cruzamento e suscetível produziram a maior e a menor quantidade de ovos, respectivamente. Ainda, a produção de ovos das fêmeas resistente foi intermediária sendo similar às fêmeas SF1 e F1(SF1×RF104), apesar de viver $\approx 50\%$ menos (Tabela 3).

Após cinco gerações de pressão de re-seleção sobre adultos do cruzamento inicial, as características de desenvolvimento e reprodução continuaram variando entre os tratamentos (Tabela 3). A pressão de seleção impactou os indivíduos do cruzamento, reduzindo a produção e viabilidade de ovos comparado as fêmeas descendentes do cruzamento antes da pressão de

seleção havendo uma redução de $\approx 1,6$ e $2,2$ vezes, respectivamente. Por sua vez, a longevidade das fêmeas não diferiu estatisticamente entre esses dois momentos.

O desenvolvimento, sobrevivência e reprodução dos descendentes do cruzamento de indivíduos suscetível e resistente na geração F1 e, após cinco gerações de re-seleção com lambda-cialotrina, foram resumidos nos parâmetros que representam o desempenho em crescimento populacional (T e r_m) (Tabela 4). A população resistente à lambda-cialotrina completou geração em menor tempo (T), resultando em maior taxa de crescimento populacional (r_m), seguido pela população formada do cruzamento e suscetível respectivamente. Após cinco gerações de re-seleção, a população resistente (RF110) continuou apresentando menor tempo de geração, mas com todas as populações apresentando a mesma taxa de crescimento populacional (r_m) (Tabela 4).

O crescimento populacional de uma população está diretamente relacionado a produção concentrada de descendentes no início da fase adulta, o que resulta em menor tempo para completar geração ($N_t = N_o * \exp^{r_m T}$). Fêmeas resistente viveram aproximadamente 50% menos que fêmeas suscetível e fêmeas do cruzamento, tanto na primeira geração de descendentes do cruzamento ($\chi^2 = 71,21$; GL = 2; $P < 0,0001$; Fig. 3 superior), como após as cinco gerações de re-seleção da descendência do cruzamento ($\chi^2 = 8,73$; GL=2; $P < 0,0127$; Fig. 3 inferior). Assim, o período que corresponde aproximadamente o tempo médio de geração das fêmeas suscetíveis como padrão (durações das fases imaturas + 50% da fase adulta; Fig. 3 – linha vertical pontilhada definida em ambas as gerações), as fêmeas resistentes neste mesmo período concentraram a deposição de aproximadamente todos os seus ovos, enquanto fêmeas das populações suscetível e do cruzamento estenderam a oviposição seguindo o padrão de maior sobrevivência, resultando em maior tempo médio de geração. Na quinta geração da descendência do cruzamento e sob pressão de seleção, as fêmeas desta população e população suscetível continuaram com maior sobrevivência, mas concentraram a oviposição na parte inicial da fase adulta, antes da linha de

50% de sobrevivência da fase adulta (Fig. 3 – linha vertical pontilhada), o que resultou em similar taxa de crescimento populacional para todas as três populações. Desta maneira, todas as três populações apresentaram o mesmo desempenho na taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m , Tabela 4).

Discussão

Inimigos naturais resistentes a inseticidas podem oferecer uma importante contribuição no controle de pragas, em especial, nos agroecossistemas que demandam aplicações de inseticidas. O estudo de estabilidade da resistência é de importância para a utilização do inimigo natural resistente no MIP, visto que a estabilidade da resistência nos inimigos naturais seja pela pressão de seleção ou pela herança autossômica da resistência, após cruzamento com indivíduos selvagem e suscetível, permite sua manutenção na área, após uma eventual aplicação de inseticidas (Lira *et al.* 2016, Mansoor *et al.* 2017, Rodrigues *et al.* 2020). A conservação desses inimigos naturais resistentes auxiliará no controle de pragas secundárias ou indivíduos remanescentes de uma aplicação inseticida, evitando um possível surto populacional e/ou o ressurgimento de pragas (Gaber *et al.* 2015), bem como retardar a seleção de pragas resistente por consumir aqueles indivíduos sobreviventes do controle (Lira *et al.* 2019).

Os resultados obtidos mostram que após quatro gerações de livre acasalamento, entre indivíduos resistentes e suscetíveis de *E. connexa*, a pressão de seleção foi responsável por manter indivíduos resistentes na população resultando em sobrevivência igual ou acima de 50% na descendência, como esperado. Entretanto havendo uma redução de 6 vezes da DL_{50} da população, quando comparado com a população resistente, antes da liberação. Já na ausência da pressão de seleção, a presença de indivíduos suscetíveis tornou-se mais frequente, corroborando à hipótese de diluição da resistência (Crow 1957, Dunley & Croft 1992), sendo essa redução de,

aproximadamente, 21,5 vezes da DL_{50} comparada a população resistente antes da liberação. Entretanto, a frequência de indivíduos resistentes não foi totalmente eliminada da população sem pressão de seleção (R×S)-Ins, como esperado. A livre escolha de acasalamento possivelmente permitiu cópulas entre indivíduos resistentes ou com indivíduos heterozigotos. Após quatro gerações sem pressão de seleção, os descendentes sem pressão de seleção ainda exibiam sobrevivência de 26,6% a aplicação da dosagem recomendada de lambda-cialotrina (Fig. 2).

A manutenção de alta sobrevivência, mantida com pressão de seleção, é explicada pelo fato de que a resistência à lambda-cialotrina nesta população de *E. connexa* já está estabilizada (Rodrigues *et al.* 2020). Também, quando a população resistente teve cruzamento com indivíduos suscetíveis e sem pressão de seleção [(R×S)-Ins], o fenótipo para resistência permaneceu na população, tendo em vista que a resistência de *E. connexa* à lambda-cialotrina possui caráter de dominância e herdada de forma autossômica (Rodrigues *et al.* 2013). Ainda, mesmo sendo o ambiente pulverizado (plantas e espaço dentro da gaiola), há chances de os adultos escaparem para áreas não contaminadas com o inseticida ou serem expostas a concentrações subletais, o que também pode ocorrer em campo. Por exemplo, indivíduos da população suscetível sobreviveram (de 11 a 48%) a aplicação da dosagem recomendada de lambda-cialotrina nas plantas onde foram liberadas (S+Ins, Fig. 1), bem como teve sobrevivência variando de 0% a 14,5% (S+Ins, Fig. 2), quando tratados de forma tópica com a DL_{99} para a população suscetível (1,5 mg i.a. de lambda-cialotrina/mL, em grau técnico). Assim, esses resultados ajudam a explicar a frequência de populações de *E. connexa* sendo selecionadas para a resistência à lambda-cialotrina, em campo (Rodrigues *et al.* 2013, Costa *et al.* 2018).

Apesar dos resultados obtidos, as condições de campo diferem das condições controladas, mesmo adotando gaiolas, plantas e dosagem recomendada do inseticida. Mas, também, vale salientar que a liberação de *E. connexa* será feita em áreas onde a população natural e suscetível

não se estabeleceu por variados fatores como a aplicação de inseticidas não seletivos, pouco tempo para colonização da lavoura pelo predador, e outros. Desta maneira, na ausência ou baixa população do fenótipo suscetível para cruzamento na área de liberação, o fenótipo resistente terá predominância de acasalamentos com um parceiro também resistente, prolongando o status de resistência da população no ambiente. Há outras várias situações naturais como a presença de áreas tratadas e não tratadas com piretroides, disponibilidade de alimento não presa (pólen, néctar) e presas alternativas, que irão beneficiar um fenótipo resistente ou suscetível, quanto ao desempenho reprodutivo. Assim, os resultados serão dependentes do ambiente da liberação, entre outros fatores para os quais não temos como simular experimentalmente.

Na produção em grande escala de inimigos naturais para liberação em campo, é essencial que as boas características sejam mantidas semelhantes aos indivíduos encontrados na natureza. Entretanto, em criações contínuas de laboratório é esperado obter uma população mais homogênea, acarretando redução de desempenho quando associada a seleção de genes deletérios favorecidos pela consanguinidade (Hoekstra 2003, Pekkala *et al.* 2014). Esse custo pode ser intensificado em populações de insetos resistente (Alam *et al.* 2020), pois além da redução de variabilidade tem o custo da resistência, o que pode prejudicar tanto a produção quanto o desempenho dos inimigos naturais após a liberação.

Os resultados de biologia e re-seleção demonstram que descendentes do cruzamento entre indivíduos R e S possuem recuperação na produção de descendentes, corroborando um efeito de heterose como observado por Lira *et al.* (2016). Contudo, a maior produção de descendentes não foi mantida após gerações de subsequente pressão de seleção. A resistência de insetos a inseticidas usualmente está associada a um “*trade-off*”, em que o inseto resistente perde algo em prol de energia para metabolizar compostos tóxicos e garantir a sua sobrevivência (Li *et al.* 2017, Homem *et al.* 2020). Na população de *E. connexa* utilizada no presente trabalho, o mecanismo metabólico

de resistência (maior produção de enzimas detoxificantes) (Rodrigues *et al.* 2014), foi associado a menor fecundidade por Rodrigues *et al.* (2020), o que justifica resultados anteriores (Ferreira *et al.* 2013, Lira *et al.* 2016) de menor fecundidade para a população resistente. Esses resultados rejeitam a nossa hipótese de que o aumento de heterogeneidade na população acasalando indivíduos resistentes com indivíduos suscetíveis, com posterior re-seleção poderia minimizar o custo da resistência na presença de novos alelos. Diferentemente da fecundidade, a sobrevivência das fêmeas descendentes do cruzamento após as gerações de re-seleção foi similar às fêmeas suscetíveis, e superiores a população resistente.

A partir dos resultados deste estudo podemos concluir que a manutenção da resistência em *E. connexa* à lambda-cialotrina, após a liberação de indivíduos resistente a campo, dependerá da manutenção da pressão de seleção e frequência de cópulas com indivíduos selvagens e suscetíveis. Como não se espera uma pressão de seleção continuada através de aplicação inseticida, a resistência será diluída ao longo das gerações, mas não será totalmente perdida, podendo ser re-selecionada. Ainda, em um cenário de liberação em áreas sem pressão de seleção, mas também sem a presença de indivíduos suscetíveis, a qual seria a razão da liberação inoculativa ou inundativa, haveria manutenção da resistência na população devido a estabilidade da resistência já atingida nesta população (Rodrigues *et al.* 2020), mesmo havendo um custo de menor fecundidade. Ainda, fêmeas resistentes apresentaram um padrão de produção de descendentes consistente na fase inicial da fase adulta similar à fêmea suscetível. Portanto, a produção de descendentes por fêmeas resistente parece ser mais limitada pela sua sobrevivência, que pela oviposição diária. Assim, uma menor sobrevivência torna-se um forte indicativo do custo metabólico da resistência em *E. connexa* e, pode ser recuperada após cruzamento e re-seleção. A produção de descendentes em menor tempo, resulta em crescimento populacional similar a população suscetível e dos descendentes do cruzamento.

Os resultados também indicam uma menor variabilidade na produção e viabilidade de ovos da população resistente relativo aos resultados prévios com esta mesma população resistente (Ferreira *et al.* 2013, Santos *et al.* 2016). A melhoria de desempenho e a aparente redução no custo da resistência pode ser explicado pela seleção de “*fitness modifiers (modifiers genes)*” ao longo de muitas gerações (Balasubramani *et al.* 2008, Alam *et al.* 2020), como realizado com a população resistente de *E. connexa*. Ao longo das gerações de seleção, a exposição dos insetos foi feita a DL₅₀ crescente de lambda-cialotrina: 0.23 mg i.a./mL na geração RF9 (Ferreira *et al.* 2013); 0,35 mg i.a./mL na geração RF23 (Santos *et al.* 2016); 5,68 mg de i.a./mL na geração R-F70 (Rodrigues *et al.* 2020), e sendo atualmente usada neste estudo a DL₅₀ de 13 mg i.a./mL, geração RF105. Resistência a uma dose pode exigir diferentes níveis de atividade enzimática (Rodrigues *et al.* 2020) e, conseqüentemente, a dose aplicada pode associar com a resposta biológica da espécie. Assim, diferenças ao longo das gerações sob diferentes doses é passível de ocorrer. A atuação desses “*genes modifiers*”, também, é sustentada pelos resultados de Rodrigues *et al.* (2020), em que após quatro gerações, sem pressão de seleção, a resistência se tornou estável, visto que quando há a atuação desses modificadores o retorno da suscetibilidade pode ocorrer de forma mais lenta (Cown 1957). Testes moleculares para identificação de expressão de genes associados a fecundidade e a longevidade da espécie, poderão melhor esclarecer o custo da resistência em *E. connexa*, os quais estão em andamento.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)” – Finance Code 001 pela bolsa de estudo e custeio através do Programa PROEX.

Literatura Citada

- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) 2021.** Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em: 20/12/2021.
- Alam, M., R.M. Shah, S.A. Shad & M. Binyameen. 2020.** Fitness cost, realized heritability and stability of resistance to spiromesifen in house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 168:104648.
- Andow, D. A. & D. N. Alstad. 1998.** F2 screen for rare resistance alleles. *J. Econ. Entomol.* 91: 572–578.
- 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.
- Ceura, L.M.M. 2003.** Efecto de la fragmentación, pérdida de hábitat y aislamiento de alfalfa sobre la abundancia y dispersión de *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Tesis Pregrado*, UCHILE, Santiago, Chile, 63p.
- Costa, P.M.G., J.B. Torres, V.M. Rondelli & R. Lira. 2018.** Field-evolved resistance to λ -cyhalothrin in the lady beetle *Eriopsis connexa*. *Bull. Entomol. Res.* 108: 380–387.
- Colares, F., J.P. Michaud, J.B. Torres & C.S. Silva-Torres. 2015.** Polyandry and male mating history affect the reproductive performance of *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 108: 736–742.
- Crow, J.F. 1957.** Genetics of insecticide resistance to chemicals. *Annu. Rev. Entomol.* 2: 227–246.
- D’ávila, V.A., W.F. Barbosa, L.C. Reis, B.S.A. Gallardo, J.B. Torres & R.N.C. Guedes. 2018.** Lambda-cyhalothrin exposure, mating behavior and reproductive output of pyrethroid-susceptible and resistant lady beetles (*Eriopsis connexa*). *Crop Prot.* 107:41–47.
- Deguine, J.P., E. Gozé & F. Leclant. 2000.** The consequences of late outbreaks of the aphid *Aphis gossypii* in cotton growing in Central Africa: towards a possible method for the prevention of cotton stickness. *Int. J. Pest Manage.* 46: 86–89.
- Dunley, J. E. & B.A. Croft. 1992.** Dispersal and gene flow of pesticide resistance traits in phytoseiid and tetranychid mites. *Exp. Appl. Acarol.* 14: 313–325.
- Ferreira, E.S., A.R. Rodrigues, C.S. Silva-Torres & J.B. Torres. 2013.** Life-history costs associated with resistance to lambda-cyhalothrin in the predatory ladybird beetle *Eriopsis connexa*. *Agric. For. Entomol.* 15: 168–177.

- Gaber, A.S, A.A. Abd-Ella, G.H. Abou-Elhagag & Y.A. Abdel-Rahman 2015.** Field efficiency and selectivity effects of selected insecticides on cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididea) and its predators. *J. Phytopathol. Pest Manag.* 2: 22–35.
- Georghiou, G. P. & C.E. Taylor. 1977.** Genetic and Biological Influences in the Evolution of Insecticide Resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 319–323.
- Gordon, R. D. 1985.** The Coccinellidae (Coleoptera) of America north of Mexico. *J. New York Entomol. S.* 93: 1–12.
- Hoekstra, R. F. 2003.** Adaptive recovery after fitness reduction: the role of population size, p. 89-92. In J.C. van Lenteren (eds.), *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures.* Wallingford, CABI Publishing, 327 p.
- Homem, R. A., B. Buttery, E.E. Richardson, Y. Tan, L.M. Field, M.S. Williamson & T.E. Davies. 2020.** Evolutionary trade-offs of insecticide resistance—the fitness costs associated with target-site mutations in the nAChR of *Drosophila melanogaster*. *Mol. Ecol.* 29: 2661–2675.
- Khan Pathan, A., 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.
- Li, X., Y. Wan, G. Yuan, S. Hussain, B. Xu, W. Xie, S. Wang, Y. Zhang & Q. Wu. 2017.** Fitness trade-off associated with spinosad resistance in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *J. Econ. Entomol.* 110: 1755–1763.
- Lira, R., A.R.S. Rodrigues & J.B. Torres. 2016.** Fitness advantage in heterozygous ladybird beetle *Eriopis connexa* (Germar) resistant to lambda-cyhalothrin. *Neotrop. Entomol.* 45: 573–579.
- Lira, R., D.V. Nascimento, J.B. Torres & H.A.A. Siqueira. 2019.** Predation on diamondback moth larvae and aphid by resistant and susceptible lady beetle, *Eriopis connexa*. *Neotrop. Entomol.* 48: 909–918.
- Mansoor, M. M. & S.A. Shad. 2020.** Inheritance of polygenic but stable pyriproxyfen resistance in a bio-control agent *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae): cross-resistance and realized heritability. *Pest. Manag. Sci.* 76: 4009–4017.
- Mansoor, M. M., A.B.M. Raza, N. Abbas, M.A. Aqueel & M. Afzal. 2017.** Resistance of green lacewing, *Chrysoperla carnea* Stephens to nitenpyram: cross-resistance patterns, mechanism, stability, and realized heritability. *Pestic. Biochem. Physiol.* 135: 59–63.
- McKenzie, J. A., & P. Batterham. 1994.** The genetic, molecular and phenotypic consequences of selection for insecticide resistance. *Trends. Ecol. Evol.* 9: 166–169.

- Pekkala, N., K.E. Knott, J.S. Kotiaho, K. Nissinen & M. Puurtinen. 2014.** The effect of inbreeding rate on fitness, inbreeding depression and heterosis over a range of inbreeding coefficients. *Evol. Appl.* 7: 1107–1119.
- Queiroz, M.C.V. & M.E. Sato. 2016** Pyrethroid resistance in *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae): cross-resistance, stability and effect of synergists. *Exp. Appl. Acarol.* 68: 71–82.
- Rodrigues, A.R.S., A.F. Spindola, J.B. Torres, H.A. Siqueira & F. Colares. 2013.** Response of different populations of seven lady beetle species to lambda-cyhalothrin with record of resistance. *Ecotoxicol. Environ Saf.* 96: 53–60.
- Rodrigues, A.R.S., H.A.A. Siqueira & J.B. Torres. 2014.** Enzymes mediating resistance to lambda-cyhalothrin in *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 110: 36–43.
- Rodrigues, A.S., R.N.C. Guedes, H.A.A. Siqueira & J.B. Torres. 2020.** Stability of the resistance to lambda cyhalothrin in the ladybird beetle *Eriopis connexa*. *Entomol. Exp. Appl.* 168: 644–652.
- Santos, D.S., A.R.S. Rodrigues, J.B. Torres & R. Lira. 2016.** Performance of *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) resistant to lambda-cyhalothrin after extended recovery from knockdown. *Neotrop. Entomol.* 45:718–724.
- Silva, A.C., C.S. Silva-Torres, D.V. Nascimento & J.B. Torres. 2021.** Sexual maturity, lack of partner choice and sperm precedence in the promiscuous ladybird beetle *Eriopis connexa* (Germar): Who is my father? *Behav. Process.*192: 104500.
- Spíndola, A.F., C.S.A. Silva-Torres, A.R.S. Rodrigues, & J.B. Torres. 2013.** Survival and behavioural responses of the predatory ladybird beetle, *Eriopis connexa* populations susceptible and resistant to a pyrethroid insecticide. *Bull. Entomol. Res.* 103: 485–494.
- Tabashnik, B.E., F.R. Groeters, N. Finson & M.W. Johnson. 1994.** Instability of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Biocontrol Sci. Techn.* 4: 419–426.
- Torres, J.B. 2012.** Insecticide resistance in natural enemies - seeking for integration of chemical and biological controls. *J. Biofertil. Biopestic.* 3:1–3.
- Torres, J.B., A.R.S Rodrigues, E.M. Barros & D.S. Santos. 2015.** Lambda-cyhalothrin resistance in the lady beetle *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) confers tolerance to other pyrethroids. *J. Econ. Entomol.* 108: 60–68.
- Zazycki, L. C. F., R.E.S. Semedo, A. Silva, A.Z. Bisognin, O. Bernardi, M.S. Garcia & D.E. Nava. 2015.** Biology and fertility life table of *Eriopis connexa*, *Harmonia axyridis* and *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae). *Braz. J. Biol.* 75: 969–973.

Tabela 1. Suscetibilidade de adultos da joaninha predadora, *Eriopis connexa*, suscetível (EcFM) ou resistente (EcViR) à lambda-cialotrina e dos descendentes do cruzamento desses com e com pressão de seleção, empregando a lambda-cialotrina em grau técnico, via aplicação tópica.

Populações	n (GL) ¹	Inclinação (± EP ²)	DL ₅₀ (LC _{95%}) ³	DL ₉₀ (LC _{95%}) ³	DL ₉₉ (LC _{95%}) ³	χ^2 , P
Geração parental						
EcFM (SF1)	139 (5)	1,43 (± 0,25)	0,05 (0,02 - 0,07)	0,37 (0,23 - 0,83)	1,5 (0,69 - 9,77)	0,93 ^{0,96}
EcViR (RF104)	120 (5)	4,59 (± 0,89)	13,3 (11,7 - 15,4)	26,2 (20,5 - 39,6)	42,9 (30,3 - 91,3)	3,48 ^{0,62}
Após quatro gerações com (+Ins) e sem (-Ins) pressão de seleção						
F4- [(R×S)-Ins]	186 (6)	1,37 (± 0,22)	0,62 (0,42 - 0,87)	5,3 (3,08 - 14,23)	30,7 (12,0 - 178,3)	2,74 ^{0,60}
F4- [(R×S)+Ins]	151 (7)	2,0 (± 0,33)	2,2 (1,1 - 2,9)	9,9 (6,5 - 21,2)	32,9 (16,6 - 123,8)	3,71 ^{0,59}

¹Número de adultos utilizados nos bioensaios (graus de liberdade) para determinação das curvas;

²EP, erro padrão; ³DL, dose letal (mg de i.a./mL), LC, limite de confiança a 95% de probabilidade; teste de qui-quadrado e valor de P, para ajuste do modelo de Probit.

Tabela 2. Porcentagem média de sobrevivência (IC a 95% de probabilidade) de adultos de *Eriopsis connexa* oriundos do cruzamento de EcFM×EcViR e submetidos ao processo de re-seleção da descendência, com aplicação tópica de lambda-cialotrina nas doses letais (DLs, mg i.a./mL), previamente determinadas, ao longo de cinco gerações.

	04.Jan.2020	03.Fev.2020	11.Mar.2020	16.Abr.2020	25.Mai.2020
Doses letais ¹	F1	F2	F3	F4	F5
DL ₅₀ EcFM (SF1) (0,05 mg)	100 (15)	-	-	-	-
DL ₉₀ EcFM (SF1) (0,37 mg)	74,4 (66,2-85,4)*	82,7 (69,6-95,7)	87,4 (79,1-95,3)	91,4 (87,1-95,8)	88,0 (82,6-93,4)
DL ₅₀ EcViR(RF104) (13 mg)	22,8 (10,3-35,4)*	30,7 (19,2-42,2)*	46,4 (40,7-52,1)	47,6 (40,4-54,7)	50,7 (36,8-64,6)

¹Asteriscos (*) indicam diferença entre a sobrevivência observada e a sobrevivência esperada de 90% e 50% correspondentes aos tratamentos com as DL₉₀EcFM (F1) e DL₅₀EcViR(F104), pelo intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

Tabela 3. Características de *Eriopsis connexa* na primeira geração após coleta de campo suscetível (EcFM) ou resistente (EcViR) à lambda-cialotrina e para a primeira (F1) e quinta (F5) geração de descendentes do cruzamento desses (EcFM×EcViR).

Características ¹	EcFM F1	EcViR F105	EcFM×EcViR F1	Estatística
Primeira geração após acasalamento				
Período ovo a adulto (dias)	16,0 a (15,7 - 16,2)	16,1 a (15,9 - 16,3)	15,8 a (15,6 - 16,1)	$H_2 = 5,02^{0,0811}$
No. de ovos/fêmea	706,9 b (400,0 - 749,4)	862,0 ab (673,7 - 998,6)	1143,4 a (788,0 - 1386,2)	$F_{2,76} = 4,94^{0,0096}$
Viabilidade de ovos (%)	53,0 ab (45,6 - 60,4)	46,7 b (39,4 - 53,9)	67,4 a (59,4 - 75,4)	$H_2 = 9,71^{0,0078}$
Longevidade das fêmeas (dias)	163,4 a (143 - 183,8)	81,7 b (72,2 - 91,2)	177,4 a (157,8 - 196,7)	$H_2 = 42,50^{0,001}$
Após pressão de seleção por cinco gerações				
	EcFM F1	EcViR F105	EcFM×EcViR F1	
Período ovo a adulto (dias)	17,8 b (17,5 - 18,0)	19,3 a (19,0 - 19,6)	18,2 ab (17,8 - 18,6)	$H_2 = 52,14^{0,001}$
No. de ovos/fêmea	967,6 a (560,1 - 1375)	504 a (352,9 - 655,0)	674,6 a (460,6 - 888,6)	$F_{2,34} = 2,56^{0,0922}$
Viabilidade de ovos (%)	27,7 ab (18,3 - 37,0)	15,7 b (11,9 - 19,4)	29,4 a (22,5 - 36,5)	$H_2 = 8,35^{0,0153}$
Longevidade das fêmeas (dias)	132,0 ab (95,8 - 168,2)	95,1 b (80,4 - 109,8)	141 a (112,3 - 171,2)	$H_2 = 4,64^{0,0978}$

¹Médias (Intervalo de Confiança a 95% de probabilidade) seguidas de mesmas letras, na linha, não diferem estatisticamente ao nível de 5% probabilidade.

Tabela 4. Tempo médio de geração (T) e taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) para as populações de *Eriopsis connexa* suscetível (EcFM) e resistente (EcViR) à lambda-cialotrina na primeira e quinta geração, e para a primeira (F1) e quinta (F5) geração de descendentes do cruzamento (EcFM×EcViR) submetidos a pressão de seleção.

Parâmetros ¹	EcFM	EcViR	EcFM×EcViR
	F1	F105	F1
T (dias)	66,7 a (51,69 - 81,85)	38,6 b (36,47 - 40,81)	55,9 a (50,74 - 61,19)
r_m (♀/♀*dia)	0,076 c (0,058 - 0,094)	0,137 a (0,130 - 0,144)	0,105 b (0,096 - 0,115)
	EcFM	EcViR	EcFM×EcViR
	F5	F110	F5
T (dias)	42,9 a (38,1 - 47,7)	35,5 b (33,8 - 37,2)	44,2 a (39,9 - 48,5)
r_m (♀/♀*dia)	0,118 a (0,103 - 0,133)	0,110 a (0,102 - 0,118)	0,104 a (0,095 - 0,113)

¹Médias [IC a 95% de probabilidade estimado pelo método de Jackknife (Maia *et al.* 2000)]

seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem estatisticamente devido a sobreposição do intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

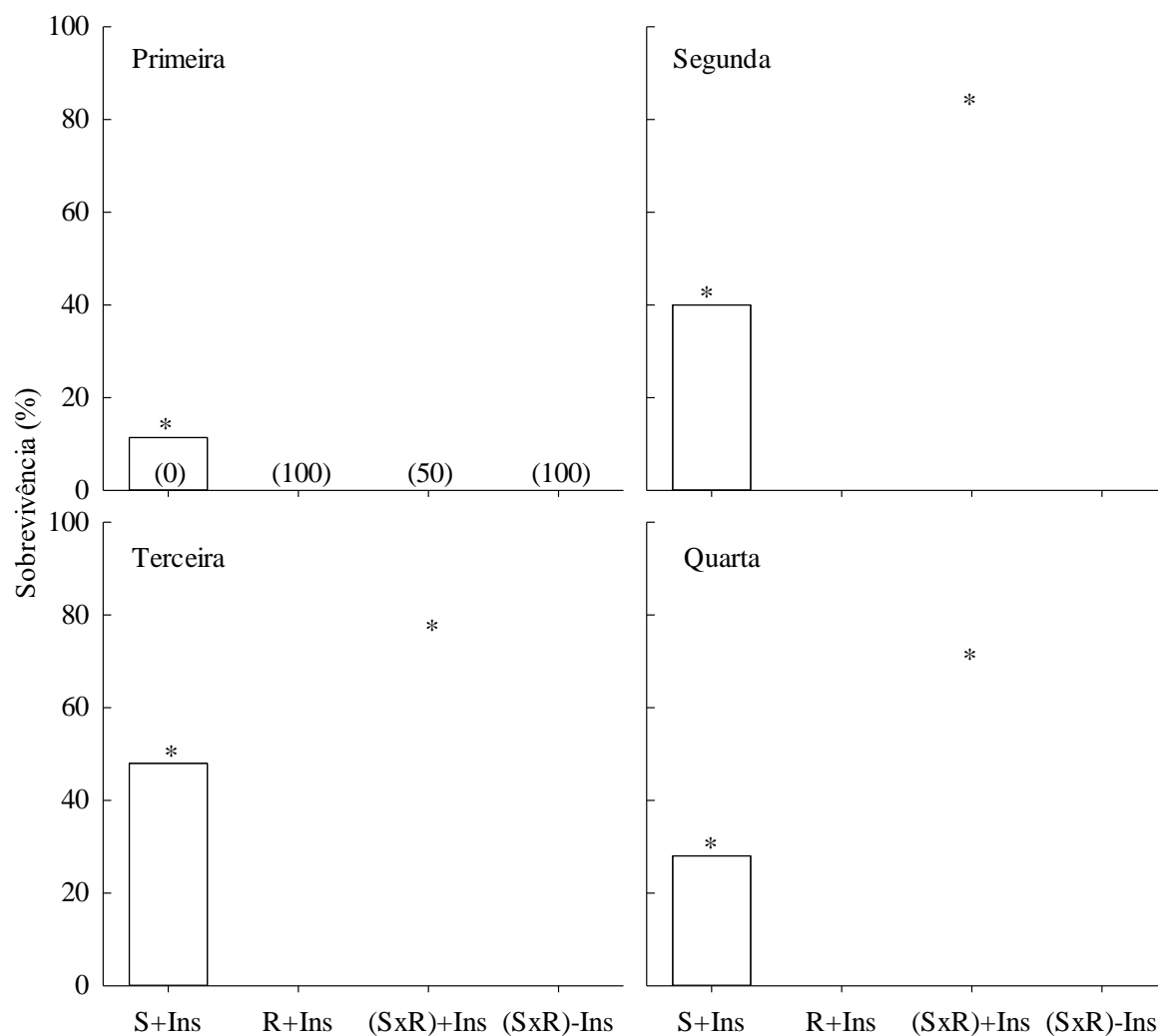


Figura 1. Sobrevivência (%) observada para adultos de *Eriopsis connexa* resistente (EcViR = R) e suscetível (EcFM = S) e respectivas gerações de acasalamentos quando confinados em plantas e pulverizados (+Ins) ou não (-Ins) com lambda-cialotrina na máxima dosagem recomendada. Asteriscos (*) indicam diferença entre sobrevivência observada (barras) e esperada (valores entre parênteses no primeiro gráfico) pelo teste de qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

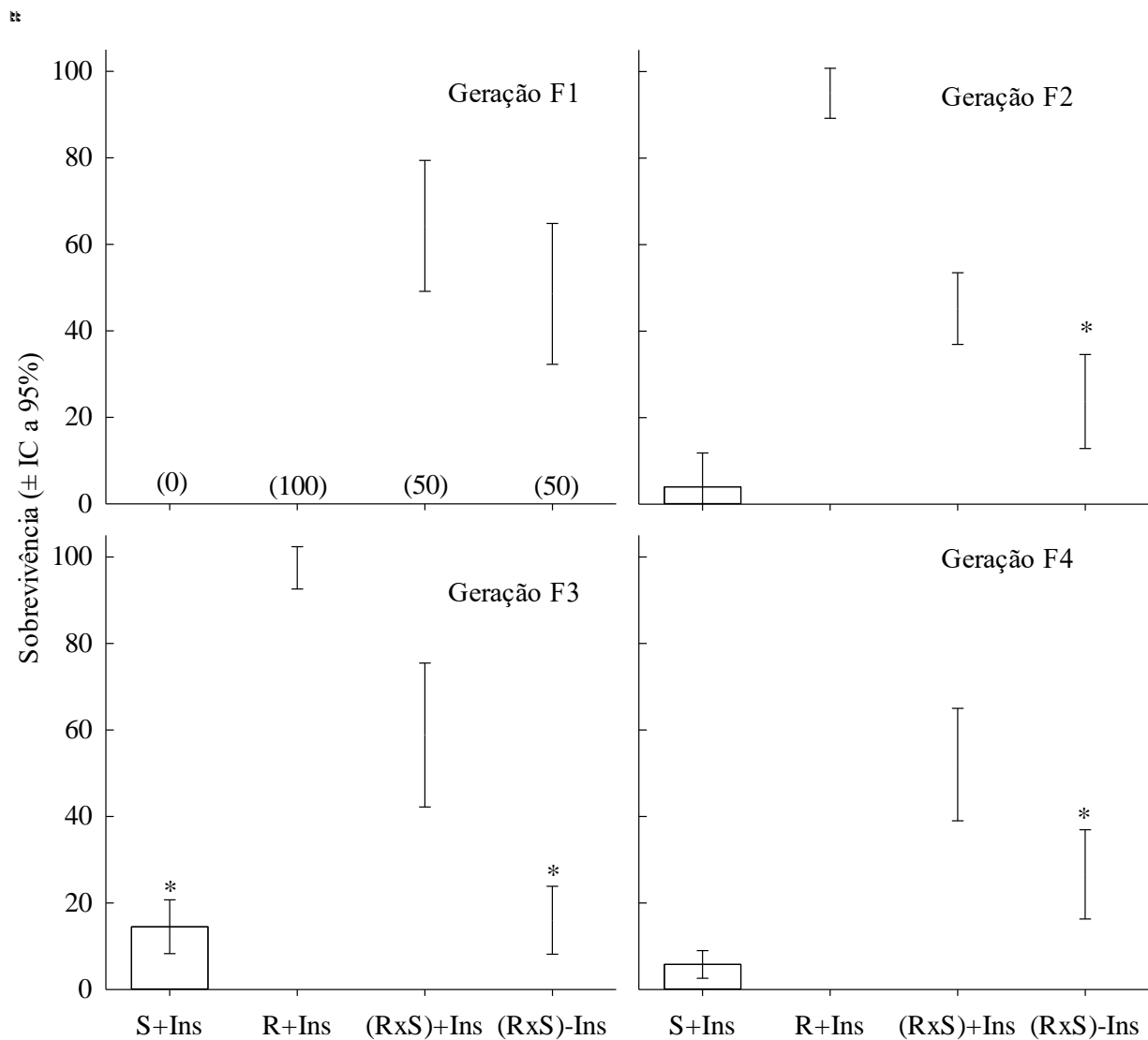


Figura 2. Sobrevivência (%) dos descendentes de *Eriopsis connexa* da primeira à quarta geração oriundos de parentais com livre acasalamento entre resistente (EcViR = R) e suscetível (EcFM =S) e submetidos (+Ins) ou não (-Ins) a pressão de seleção. Descendentes submetidos ao tratamento tópico com a DL₉₉ para a população S (1,5 mg/mL de i.a. de lambda-cialotrina). Nota: Asteriscos (*) indicam diferença entre a sobrevivência observada (barras) e esperada para hipótese testada (valores entre parênteses no primeiro gráfico) pelo teste de qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

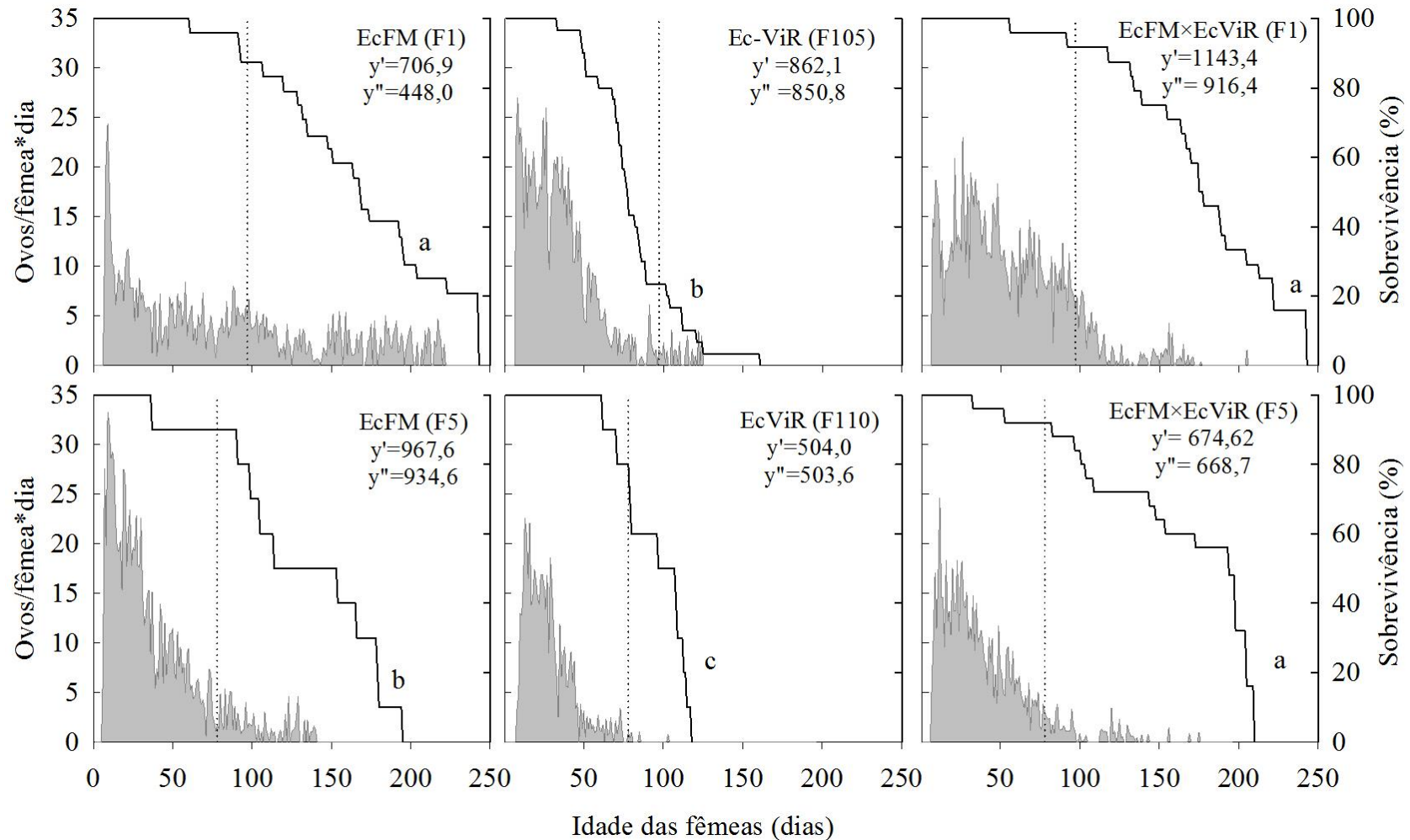


Figura 3. Oviposição média diária (Y1) e sobrevivência (Y2) para fêmeas de *Eriopsis connexa* suscetível (EcFM), resistente (EcViR) e do cruzamento desses na primeira geração sem pressão de seleção (F1) e na quinta geração (F5) após 5 gerações de pressão de seleção. Nota: Linhas pontilhadas vertical indicam 50% de sobrevivência das fêmeas S e a produção de ovos neste período (y'') para todos os grupos, enquanto y' representa a média total de ovos produzidos. Letras indicam diferença entre as curvas de sobrevivência por pares de comparação pelo teste de Log-Rank ($\alpha = 0,05$).

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os piretroides são inseticidas amplamente utilizados pelo fato de incluírem vários ingredientes ativos relativamente de baixo custo, baixa toxicidade para mamíferos, de amplo espectro, e com registro para recomendação em várias culturas. Contudo, a aplicação desses inseticidas usualmente resulta em ressurgência e surtos populacionais de pragas secundárias, devido ao impacto negativo causado sobre os inimigos naturais. Este fenômeno ocasiona o que se conhece como “*treadmill*” no controle de pragas (o uso de certo inseticida resulta na continuidade do uso de inseticidas) ou, popularmente, “uma bola de neve”.

A lambda-cialotrina, é um dos piretroides mais disponível no Brasil em formulação comercial, sendo recomendado para o controle de insetos desfolhadores (lepidópteros e coleópteros) em diversas culturas como brássicas, algodão, milho, tomate, soja, melão, entre outras. A joaninha *E. connexa* está presente em muitas dessas culturas e, portanto, também sob pressão de seleção para resistência a esse inseticida. Por sua vez, a resistência de inimigos naturais a inseticida, abre oportunidade para a integração entre o controle químico e o biológico, principalmente quando o caso é a utilização de inseticidas não seletivos, como piretroides. Os piretroides, apesar de serem não seletivos, não apresentam controle sobre pulgões, e de fato são responsáveis por surtos de pulgões após sua aplicação. Nesse contexto, a resistência da joaninha *E. connexa* ao inseticida lambda-cialotrina permitirá a conservação desse inimigo após a aplicação não só desse inseticida, mas também de outros piretroides, e conseqüentemente, atuar no controle do pulgão, e além disso auxiliar no controle de eventuais pragas remanescentes evitando ressurgência e retardando o desenvolvimento de resistência.

Para melhor utilização desta característica de resistência, no manejo integrado de pragas, é necessário conhecimento de como ela irá ocorrer após liberações inoculativas ou inundativa de *E. connexa* resistentes. Após a liberação é esperado o acasalamento dos indivíduos resistentes com indivíduos suscetíveis de campo. Assim, estudamos a estabilidade da resistência empregando acasalamento a livre escolha de indivíduos R e S, sendo submetidos ou não a pressão de seleção simulada com aplicação de dosagem recomendada da lambda-cialotrina, com a descendência testada para a sobrevivência. Os resultados mostram que sem pressão de seleção e com chance livre de acasalamento com indivíduos suscetíveis, a proporção de indivíduos resistentes é reduzida ao longo das gerações, mas a característica da resistência não é totalmente perdida na população. Ainda, que esses indivíduos podem ser re-selecionados com retorno da pressão de seleção. Em havendo pressão de seleção, mesmo com a chance de acasalamento com indivíduos suscetíveis, a sobrevivência manteve-se igual ou superior ao resultado esperado de 50%. Essas informações são relevantes visto que não se deseja contínua aplicação de inseticidas para exercer pressão de seleção. A rotação com outros inseticidas de diferente modo de ação é necessária, a qual pode ser feita com inseticidas seletivos voltado ao controle de desfolhadores como aqueles do grupo das diamidas, espinosinas e biológicos

Em áreas sem a presença da joaninha e, assim, necessitando liberação inoculativa ou inundativa, não haverá acasalamento com indivíduos suscetíveis. A resistência, então, será mantida na população devido aos acasalamentos entre indivíduos resistentes. No entanto, mesmo sem pressão de seleção o nível de resistência na população reduz em $\approx 50\%$ entre a primeira e quarta geração, mas se mantendo estável posteriormente, a uma razão de resistência de 39 vezes (Rodrigues *et al.* 2020), o suficiente para sobreviver qualquer aplicação de lambda-cialotrina.

A resistência em *E. connexa* à lambda-cialotrina tem um custo adaptativo, o qual é minimizado com a heterose obtida pelo cruzamento entre os insetos resistentes e suscetíveis. Fato

observado para os descendentes de primeira geração. Contudo, este desempenho quanto a fecundidade não foi mantida quando os indivíduos foram submetidos a re-seleção, demonstrando o impacto do aumento na produção de enzimas α - e β -esterases sobre a fecundidade de *E. connexa*. Contudo, a re-seleção não reduziu, neste estudo a longevidade das fêmeas após quatro gerações. Interessante, porque se observarmos a população parental resistente, há uma menor longevidade comparada as fêmeas suscetíveis. Mas, que a produção de ovos considerando o mesmo período de vida adulta, a fêmeas resistente é quase ou tão fecunda quanto a suscetível. Esta mesma ou menor produção de descendentes, mas em menor tempo resulta em melhor desempenho no crescimento populacional por completarem maior número de gerações no tempo. Isto pode ser resumido como “*vive-se menos, mas desempenha melhor*”.

Ainda, ao longo de muitas gerações de laboratório sob pressão de seleção, pode estar ocorrendo a seleção de “*genes modifiers*”, que pode alterar certas características biológicas da espécie. Assim, resultados de fecundidade e longevidade obtido nas gerações iniciais de pressão de seleção desta população de *E. connexa*, podem diferir no estágio atual de manutenção desta população (mais de 100 gerações). Entretanto, se faz necessário estudo de base molecular, os quais não foram o escopo do presente trabalho, para a comprovação dessa hipótese.