

SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO, *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), A INSETICIDAS

por

GUILHERME GOMES ROLIM

(Sob Orientação do Professor Jorge Braz Torres - UFRPE)

RESUMO

O cultivo do algodoeiro nos Cerrados é um exemplo de agricultura em larga escala, onde se adota tecnologias de última geração e obtém-se alta produtividade. Por ser uma cultura de ciclo relativamente longo e cultivada durante o verão sob clima tropical, a incidência de artrópodes pragas influencia as decisões para minizar perdas de produtividade. Entre o complexo de artrópodes pragas, destaca-se o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), o qual pode ocasionar perdas significativas se não controlado corretamente. Em função da biologia e comportamento do bicudo-do-algodoeiro, o foco de controle são os adultos com uso de inseticidas de largo espectro como organofosforados e piretroides. Contudo, este tipo de controle tem sido questionado tanto pela eficácia de piretroides e a necessidade de utilizar inseticidas de menor impacto sobre a entomofauna. Neste estudo, foi determinada a suscetibilidade de diferentes populações do bicudo-do-algodoeiro aos inseticidas beta-ciflutrina, malationa, lufenurom, piriproxifem, metoxifenoazida espinetoram e espinosade. A baixa eficácia da beta-ciflutrina para cinco populações do bicudo-do-algodoeiro coletadas em lavouras do Cerrado foi confirmada com razões de resistência de até 437 vezes, enquanto duas populações do

Semiárido foram suscetíveis. Por outro lado, todas as populações foram suscetíveis à malationa. No estudo com lufenurom, piriproxifem e metoxifenoazida, apenas o lufenurom reduziu a viabilidade de ovos, independente se as fêmeas foram expostas antes ou após a cópula e machos tratados ou não. Ambas as espinosinas ocasionaram mortalidade similar a malataiona, porém com efeito residual superior. O espinetoram foi mais tóxico ao bicudo-do-algodoeiro que o espinosade. A partir dos resultados, pode-se concluir que: a beta-ciflutrina não deve ser usada contra essas populações do bicudo-do-algodoeiro (i); entre os IGRs, apenas o lufenurom ocasiona efeito sobre viabilidade de ovos (ii); e ambas as espinosinas possuem potencial no controle do bicudo-do-algodoeiro.

PALAVRAS-CHAVE: Suscetibilidade, espinosinas, lufenurom, metoxifenoazida, piriproxifem, beta-ciflutrina.

SUSCEPTIBILITY AND RESISTANCE OF BOLL WEEVIL, *Anthonomus grandis* BOH.

(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) TO INSECTICIDES

por

GUILHERME GOMES ROLIM

(Under the Direction of Professor Jorge Braz Torres - UFRPE)

ABSTRACT

Cotton in the Cerrados is an example of large-scale agriculture with adoption of technologies resulting in high yields and quality. However, characteristics of cotton ecosystem such as long phenology and cultivation during summer under a tropical weather results in the occurrence of multiple arthropod pests, which contribute to the most farming decisions. Within the pest complex, infestations of the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), cause significant yield losses whether not properly managed. As consequence of pest status, boll weevil control has relied on broad-spectrum insecticide against the adults. However, this addiction on broad-spectrum insecticides has been questioned, in especial, the lack of efficacy of pyrethroids and options of low impact insecticides to control boll weevil. In this study was tested the susceptibility of different populations of boll weevil to the pyrethroid beta-cyfluthrin, widely recommended compared to malathion. Furthermore, the impact of three insect growth regulators (IGRs) lufenuron, pyriproxifen, and methoxyfenozide on adult survival and reproduction, and the toxicity of the spinosyns (spinetoram and spinosad) to adult weevils. The low susceptibility of boll weevil to beta-cyfluthrin was verified for five populations from Cerrado resulting in resistance ratios up to 437-fold; while, two weevil populations from Semiarid were

susceptible. Nonetheless, all populations still susceptible to malathion. Among the IGRs and life history characteristics evaluated, only the egg viability was reduced for females contaminated with lufenuron, irrespective of females exposure before or after mating and male exposure. Both spinosyns were toxic to adult weevils with spinetoram exhibiting lower LCs compared to spinosad; produced mortality similar to malathion, and longer residual of control than malathion. About these data, we can conclude that: beta-cyfluthrin should be avoided to control boll weevil (i); among the IGRs, only lufenuron reduced egg viability (ii); and both spinosyns have potential to boll weevil control.

KEY WORDS: Susceptibility, spinosyns, lufenuron, methoxyfenozide, pyriproxyfen, beta-cyfluthrin.

SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO, *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A INSETICIDAS

por

GUILHERME GOMES ROLIM

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

RECIFE - PE

Fevereiro – 2018

SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO, *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A INSETICIDAS

por

GUILHERME GOMES ROLIM

Comitê de Orientação:

Jorge Braz Torres - UFRPE

Marcos Gino Fernandes - UFGD

SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO, *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A INSETICIDAS

por

GUILHERME GOMES ROLIM

Orientador: _____
Jorge Braz Torres – UFRPE

Examinadores: _____
Marcos Gino Fernandes – UFGD

Paulo Roberto Ramos Barbosa – PNPd/CAPES

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira – UFRPE

José Vargas de Oliveira – UFRPE

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULOS

1	INTRODUÇÃO	1
	LITERATURA CITADA.....	7
2	RESISTÊNCIA DE <i>Anthonomus grandis</i> BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A BETA-CIFLUTRINA	12
	RESUMO	13
	ABSTRACT	14
	INTRODUÇÃO	15
	MATERIAL E MÉTODOS	17
	RESULTADOS	22
	DISCUSSÃO	24
	AGRADECIMENTOS.....	28
	LITERATURA CITADA.....	28
3	AÇÃO DE INSETICIDAS REGULADORES DE CRESCIMENTO SOBRE ADULTOS DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO <i>Anthonomus grandis</i> BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)	36
	RESUMO	37
	ABSTRACT	38
	INTRODUÇÃO	39
	MATERIAL E MÉTODOS	41
	RESULTADOS.....	46

DISCUSSÃO.....	49
AGRADECIMENTOS.....	52
LITERATURA CITADA.....	52
4 SUSCETIBILIDADE DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO <i>Anthonomus grandis</i>	
BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A DUAS ESPINOSINAS	58
RESUMO	59
ABSTRACT	60
INTRODUÇÃO	61
MATERIAL E MÉTODOS	63
RESULTADOS.....	67
DISCUSSÃO.....	69
AGRADECIMENTOS.....	75
LITERATURA CITADA.....	75
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
APÊNDICE	86

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O algodoeiro, *Gossypium hirsutum* L. (Malvaceae) é considerado uma das culturas mais importantes do Brasil, quer pela multiplicidade dos produtos originados, quer pela posição de destaque no setor socioeconômico, uma vez que o país é o quinto maior produtor e exportador mundial de algodão e o terceiro maior consumidor desta fibra (ABRAPA 2015). No Brasil, a cotonicultura é predominantemente realizada nas áreas de Cerrado do Centro-Oeste e do Nordeste, sendo responsáveis por 96% dos 3,8 milhões de toneladas estimadas para a safra 2016/2017 (CONAB 2017). Nessas áreas, a cultura do algodoeiro é considerada avançada pelos altos níveis tecnológicos adotados e pelas altas produtividades e qualidade de fibra produzida.

Apesar das condições edafoclimáticas favoráveis e do retorno econômico obtido com os produtos gerados, a expansão da cotonicultura tem sido limitada devido à diversidade de artrópodes que se alimentam e/ou hospedam no algodoeiro no Brasil (Degrande 1998, Sujii *et al.* 2006). O algodoeiro é relatado como hospedeiro de 300 a 600 espécies de artrópodes (Sujii *et al.* 2006). No Brasil, cerca de 30 espécies são capazes de ocasionar prejuízos significativos à produção do algodão (Degrande 1998, Silvie *et al.* 2013). Dentre estas destacam-se por frequentemente atingirem o nível de controle e ocasionarem perdas de produtividade dependendo da região de cultivo: o pulgão, *Aphis gossypii* Glover; mosca-branca, *Bemisia tabaci* Gen.; complexo de lagartas desfolhadoras, *Alabama argillaceae* Hüb., *Chrysodeixis includens* Walker, *Spodoptera* spp. e *Helicoverpa* spp.; lagartas desfolhadoras que atacam estruturas reprodutivas como *Chloridea (Heliothis) virescens* F.; *Helicoverpa zea* Bod., *Helicoverpa armigera* Hüb. e várias espécies de *Spodoptera*; lagarta-rosada, *Pectinophora gossypiella* Saund.; os ácaros,

Tetranychus urticae Koch, *Tetranychus gloveri* Koch e *Polyphagotarsonemus latus* Banks, e o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Torres *et al.* 2015, Silvie *et al.* 2013). Apesar deste complexo de espécies de artrópodes pragas, o bicudo-do-algodoeiro é a praga-chave mais importante da cotonicultura brasileira (Degrande 2002, BÉlot *et al.* 2016).

Desde o primeiro relato no Brasil, em 1983 (Barbosa 1983), o bicudo-do-algodoeiro continua sendo um dos principais entraves à expansão da cotonicultura nacional (Azambuja & Degrande 2014). Seu elevado potencial como praga é decorrente do ataque às estruturas reprodutivas do algodoeiro, ocasionando queda acentuada de botões florais e abertura irregular dos capulhos (capulhos carimãs). Mesmo não havendo a queda precoce de maçãs, atacadas na fase intermediária de desenvolvimento, ocorre abertura irregular do capulho tornando-o impróprio para a colheita mecanizada da pluma, gerando perdas de produção (Showler 2012). No Semiárido de Pernambuco e da Paraíba, o bicudo-do-algodoeiro causa redução de 54 a 87% na produtividade do algodão herbáceo (Almeida *et al.* 2008). Isso também ocorre em áreas comerciais do Mato Grosso e Bahia, onde têm sido registradas perdas de 80 a 95% em áreas não manejadas (BÉlot *et al.* 2016).

Além das injúrias diretas ocasionadas pela a oviposição e o desenvolvimento da larva no interior das estruturas reprodutivas torna as fases imaturas do bicudo protegidas, assim dificultando seu controle. Deste modo, as táticas de controle são direcionadas à fase adulta (Dias *et al.* 2004, Showler 2012), geralmente demandando sucessivas aplicações de inseticidas em curtos intervalos de tempo. No Cerrado, há relatos de 15 a 26 aplicações contra o bicudo-do-algodoeiro na mesma safra, como registrado em algumas regiões no estado de Mato Grosso na safra 2014/2015 (Miranda & Rodrigues 2015). Este grande número de aplicações eleva os custos de produção, como ocorrido na safra brasileira 2015/2016, quando as perdas somadas aos custos de controle atingiram um valor médio de US\$ 360/ha (BÉlot *et al.* 2016).

No Brasil existem atualmente mais de 90 marcas comerciais de inseticidas registradas para uso contra o bicud-do-algodoeiro, sendo representadas por 23 ingredientes ativos (AGROFIT 2018). Apesar deste número considerável de registros, poucos ingredientes ativos oferecem controle satisfatório desta praga, destacando-se aqueles inseticidas considerados de largo espectro e alta toxicidade. Assim, um dos problemas enfrentados no manejo de pragas do algodoeiro é o limitado número de inseticidas disponíveis no mercado que oferecem satisfatório nível de controle do bicud-do-algodoeiro, sendo agravado pela proibição de alguns inseticidas eficazes como o endosulfam (clorociclodieno) e a parationa metílica (organofosforado) (ANVISA 2009, ANVISA 2015).

A falta de produtos eficazes e seletivos, vem fazendo com que os produtores recorrem à utilização cada vez mais frequente de organofosforados e piretroides, que juntos respondem por quase 80% dos inseticidas e/ou misturas registradas para o controle do bicudo-do-algodoeiro no Brasil (AGROFIT 2018). Por representar um custo médio por hectare aproximadamente três vezes menor que as aplicações de malationa ou tiametoxam, os piretroides tornam-se a principal opção entre os produtores. Contudo, alguns desses piretroides são relatados com baixa eficiência, tanto em condições de laboratório, como em testes de campo (Soria *et al.* 2013, Barros *et al.* 2015, Crosariol Netto *et al.* 2017).

A baixa eficiência de inseticidas no campo pode estar relacionada à resistência como, já registradas populações de bicudo-do-algodoeiro resistentes a organoclorados (Roussel & Clower 1957). Embora não haja registros de populações desta praga resistentes a piretroides, casos de alta tolerância foram constatados em populações no Mississippi e Arkansas (Kanga *et al.* 1995), sendo possível que essas populações, mantidas sob pressão de seleção por mais de 20 anos desde o último estudo realizado tenham hoje maior frequência de insetos resistentes. Por isso, estudos de

monitoramento da suscetibilidade do bicudo-do-algodoeiro aos principais inseticidas são importantes, pois podem fornecer informações para melhor uso e manutenção da sua eficácia.

O elevado número de aplicações direcionadas para o controle do bicudo-do-algodoeiro, além de onerar os custos de produção (Bélot *et al.* 2016), dificulta o manejo integrado de pragas (MIP). Isto porque a maioria dos inseticidas atualmente utilizados é neurotóxico de amplo espectro (Fonseca *et al.* 2011, AGROFIT 2018). O uso excessivo desses inseticidas geralmente é responsável pela seleção de populações de pragas resistentes, ressurgência e surtos de pragas secundárias como aumento das infestações de *T. urticae*, em algodoeiro (Barros *et al.* 2007). Muitos desses problemas decorrem do efeito negativo dos inseticidas sobre determinados grupos de inimigos naturais responsáveis pela regulação populacional de pragas (Eveleens *et al.* 1973, Ruberson *et al.* 1994, Hardin *et al.* 1995, Kidd *et al.* 1996, Wilson *et al.* 1998, Godfrey *et al.* 2000, Hagerty *et al.* 2005). Assim, a grande dependência pelo controle químico no MIP algodoeiro, em especial, para o bicudo-do-algodoeiro, enseja estudos que indiquem inseticidas eficientes e que causem menor impacto aos inimigos naturais.

Uma opção dentro do controle químico é a utilização de inseticidas de baixo impacto à fauna benéfica, como encontrado nos inseticidas reguladores de crescimento (IGRs) e as espinosinas (Srivastava *et al.* 2008, Mansur *et al.* 2010). Os inseticidas desses grupos possuem várias vantagens ecotoxicológicas em relação aos organofosforados e piretroides, incluindo modos de ação específicos, que lhes conferem menor toxicidade a vertebrados e organismos não alvos (Grenier & Grenier 1993, Ávila & Nakano 1999, Cleveland *et al.* 2001), além de apresentar potencial para rotação do modo de ação.

Os IGRs possuem ingredientes ativos que afetam etapas importantes do crescimento e/ou desenvolvimento dos insetos. Aqueles empregados no presente estudo, por exemplo, interferem no processo de muda e na metamorfose dos insetos atuando como análogos do hormônio juvenil

(piriproxifem), agonista de ecdisteroides (metoxifenoazida) ou inibidores da síntese de quitina (lufenurom) (Smet & Loof 1990, Oberlander *et al.* 1991, Oberlander *et al.* 1997).

Além do efeito larvívico, os IGRs podem ocasionar efeito quimioesterilizante reduzindo a fecundidade e viabilidade de ovos. Adultos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) oriundos de lagartas alimentadas em dieta artificial contendo a metoxifenoazida (0,10 mL/L) exibiram redução de 84% na fecundidade e 82,2% na viabilidade de ovos (Romano 2002). A esterilização, também, foi observada em *Rhizopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) tratados com flufenoxurom (inibidor da síntese de quitina), em *Ctenocephalides felis* (Bouche) (Siphonaptera: Pulicidae) tratados com piriproxifem (análogo do HJ) via ingestão (Dhadialla *et al.* 1988, Elek & Longstaff 1994, Meola *et al.* 2000) e em *Tenuisvalvae notata* (Muls.) (Coleoptera: Coccinellidae) via exposição de adultos ao resíduo seco (Barbosa *et al.* 2018).

Redução da viabilidade de ovos de até 98% foi observada para fêmeas do bicudo-do-algodoeiro expostas através de contato e ingestão ao diflubenzurom, um inibidor da síntese de quitina (Gody & Nakano 2011). Este resultado pode estar associado à desorganização das células do epitélio folicular dos ovários e à redução quantitativa de vitelo dos oócitos, como encontrado em fêmeas deste inseto expostas via contato e ingestão ao lufenurom (Costa *et al.* 2017).

Além dos IGRs, as espinosinas representam um grupo de inseticidas considerados de baixo impacto, à fauna benéfica, tanto que sua recomendação é facultada tanto para cultivos convencionais como para cultivos orgânicos (EGTOP 2016, Snyder 2015). O ingrediente ativo, da espinosina resulta do processo de fermentação da bactéria de solo, *Saccharopolyspora spinosa* (Mertz & Yao) (Bactéria: Actinobacteridae) (Mertz & Yao 1990). A espinosina (espinosade) é altamente ativa quando ingerida ou absorvida através do tegumento via contato tóxico ou residual, capaz de controlar rapidamente uma gama de pragas, como lagartas, minadores de folhas, trips e coleópteros (Sparks *et al.* 1995, Bret *et al.* 1997, Williams *et al.* 2004, Dripps *et al.* 2011). Seu

principal modo de ação está relacionado com os receptores nicotínicos, atuando especificamente como moduladores alostéricos (Salgado 1998). Também, há evidências sugerindo impacto adicional sobre a fisiologia de receptores do ácido γ -amino butírico (GABA) (Watson 2001).

Artrópodes expostos ao espinosade geralmente apresentam contrações musculares obrigatórias e tremores, decorrentes da ativação contínua de neurônios motores (Salgado 1998). As contrações induzidas são prolongadas e levam à paralisia, interrupção da atividade alimentar e finalmente, à morte do indivíduo exposto (Salgado 1998). O espinosade foi o primeiro inseticida à base de espinosina constituído pela mistura de dois compostos tetracíclicos (espinosinas A e D) (Thompson *et al.* 2000).

Na última década, graças à sinergia das tecnologias de microbiologia, química sintética e redes neurais artificiais (Sparks *et al.* 2008), análogos semissintéticos de espinosinas têm sido elaborados. Este é o caso do espinetoram, a primeira espinosina semissintética composta por novas espinosinas (J e L) sendo em muitos casos mais eficiente que o seu predecessor, o espinosade, sem perder o baixo impacto sobre a entomofauna benéfica (Dripps *et al.* 2008). Na cotonicultura brasileira as espinosinas são recomendadas para o controle de lepidópteros desfolhadores (AGROFIT 2018). Porém, o espinosade já é citado como eficiente para o bicudo-do-algodoeiro, quando usado em forma de isca tóxica (Lopez *et al.* 2012).

Desta forma, objetivou-se com o presente trabalho realizar o levantamento da suscetibilidade de populações de *A. grandis* ao piretroide beta-ciflutrina e ao organofosforado malationa, além de determinar a toxicidade de três IGRs (lufenurom, piriproxifem e metoxifenoazida) e de duas espinosinas (espinosade e espinetoram) para o bicudo-do-algodoeiro. Enquanto os inseticidas neurotóxicos beta-ciflutrina e malationa são considerados de amplo espectro, os IGRs e as espinosinas são tidos como de baixo impacto sobre a entomofauna benéfica, logo mais compatíveis com o MIP do algodoeiro.

Literatura Citada

- ABRAPA (Associação Brasileira dos Produtores de Algodão). 2015.** Disponível em:< <http://www.abrapa.com.br/Paginas/default.aspx>>, acessado em: 08/05/2017.
- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) 2018.** Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em: 10/01/2018.
- Almeida, R.P., C.A.D. Silva & F.S. Ramalho. 2008.** Manejo integrado de pragas do algodoeiro no Brasil, p. 1035-1098. In N.E.M. Beltrão & D.M.P. Azevedo (eds.), O agronegócio do algodão no Brasil. Brasília, Embrapa, 1309p.
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). 2009.** Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B27695-1-0%5D.PDF>. Acessado em 02/08/2016.
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). 2015.** Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B27695-1-0%5D.PDF>. Acessado em 02/08/2016.
- Ávila, C.J. & O. Nakano. 1999.** Efeito do Regulador de crescimento lufenuron na reprodução de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae). An. Soc. Entomol. Brasil 28: 293-299.
- Azambuja, R. & P.E. Degrande. 2014.** Thirty years of cotton boll weevil in Brazil. Arq. Inst. Biol 1: 1-34.
- Barbosa, S., R. Braga Sobrinho, M.J. Lukefahr & G.O. Beingolea. 1983.** Relatório sobre a ocorrência do bicudo do algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman, “Boll weevil”, no Brasil e recomendações sobre sua erradicação. Campina Grande, EMBRAPA-CNPA, 12p.
- Barros, E.M., J.N. Crosariol, E.A. Souza & O. Martins. 2015.** Eficiência de diferentes inseticidas no controle do bicudo-do-algodoeiro no estado do Mato Grosso. In X Congresso Brasileiro do Algodão. Foz do Iguaçu, RS. CD-Room.
- Barros, R., P.E. Degrande, M.F. Soria & J.S.F. Ribeiro. 2007.** Desequilíbrio biológico do ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch 1836 (Acari: Tetranychidae) após aplicações de inseticidas em algodoeiro. Arq. Inst. Biol. 74:171-174.
- Bélot, J.L., E.M. Barros & J.E. Miranda. 2016.** Riscos e oportunidades: O bicudo-do-algodoeiro, p. 77-118. In AMPA (eds.), Desafios do cerrado. Cuiabá, Associação Mato-grossense dos Produtores de Algodão, 283p.
- Bret, B.L., L.L. Larson, J.R. Schoonover, T.C. Sparks & G.D. Thompson. 1997.** Biological properties of spinosad. Down to Earth 52: 6-13.

- Cleveland J., T.J. Montville, I.F. Nies, & M.I. Chikindas. 2001.** Bacteriocins: Safe natural antimicrobials or food preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 71: 1-20.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2017.** Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Brasília, Conab 58p.
- Costa, H.N., F.M. Cunha, G.S. Cruz, C.G. D'Assunção, G.G. Rolim, M.E.G. Barros, M.O. Breda, A.A. C. Teixeira, V. Teixeira-Wanderley. 2017.** Lufenuron impact upon *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) midgut and its reflection in gametogenesis. *Pestic. Biochem. Physiol.* 137: 71-80.
- Crosariol. J.N., G.G. Rolim & L.S. Arruda. 2017.** Mortalidade do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro após contato em resíduo seco de diferentes inseticidas utilizados na cultura do algodoeiro-Safra 2016/2017. Cuiabá, IMAmt, 9p. (Circular Técnica, 31).
- Degrande, P.E. 1998.** Guia prático de controle de pragas do algodoeiro. Dourados, UFMS, 60p.
- Degrande, P.E. 2002.** Manejo de praga em algodão. *Rev. Cult. Grandes Culturas* 42: 14-16.
- Dhadialla, T.S., G.R. Carlson, & D.P. Le. 1998.** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu. Rev. Entomol.* 43: 545-569.
- Dripps, J., B. Olson, T. Sparks & G. Crouse. 2008.** Spinetoram: how artificial intelligence combined natural fermentation with synthetic chemistry to produce a new spinosyn insecticide. *Plant Health Progress.* Disponível em: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/perspective/2008/spinetoram/>. Acessado em: 20/06/2017.
- Elek, J.A. & B.C. Longstaff. 1994.** Effect of chitin-synthesis inhibitors on stored-products beetles. *Pestic. Sci.* 40: 225-230.
- Eveleens, K.G., R. van den Bosch & L.E. Ehler. 1973.** Secondary outbreak induction of beet armyworm by experimental insecticide applications in cotton in California. *Environ. Entomol.* 2: 497-503.
- Fonseca, P.R.B., I.S. Lima Júnior, M.F. Soria, C. Kodama & P.E. Degrande. 2011.** Inseticidas neonicotinoides no controle do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae) e a falha de controle do endossulfan. *Arq. Inst. Biol.* 78: 545-551.
- Godfrey, L., J.A. Rosenheim & P.B. Goodell. 2000.** Cotton aphid emerges as major pest in SJV cotton. *Calif. Agric.* 54: 26-29.
- Godoy, M.S. & O. Nakano. 2011.** Efeitos de inseticidas sobre a reprodução e sobrevivência do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) em condições de laboratório. *Rev. Verde* 6: 12-22.
- Grenier, S. & A.M. Grenier. 1993.** Fenoxycarb, a fairly new insect growth regulator: a review of its effects on insects. *Ann. Appl. Biol.* 122: 369-403.

- Hagerty, A.M., A.L. Kilpatrick, S.G. Turnipseed & M.J. Sullivan. 2005.** Predaceous arthropods and lepidopteran pests on conventional, Bollgard, and Bollgard II cotton under untreated and disrupted conditions. *Environ. Entomol.* 34: 105-114.
- Hardin, M.R., B. Benrey, M. Coll, W.O. Lamp, G.K. Roderick & P. Barbosa. 1995.** Arthropod pest resurgence: an overview of potential mechanisms. *Crop Prot.* 14: 3-18.
- Kanga, L.H.B, F.W. Plapp, Jr., M.L. Wall, M.A. Karner, R.L. Huffman, T.W. Fuchs, G.W. Elzen & J.L. Martinez-Carrillo. 1995.** Monitoring tolerance to insecticides in boll weevil populations (Coleoptera: Curculionidae) from Texas, Arkansas, Oklahoma, Mississippi, and Mexico. *J. Econ. Entomol.* 88:198-204.
- Kidd, P.W., D.R. Rummel & H.G. Thorvilson. 1996.** Effect of cyhalothrin on field populations of the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover, in the Texas High Plains. *Southwest. Entomol.* 21: 293-301.
- Mansur, J.F., J. Figueira-Mansur, A.M. Santos, H. Santos-Junior, I.B. Ramos, M.N. Medeiros, E.A. Machado, C.R. Kaiser, S. Muthukrisnan, H. Masuda, A.M.H. Vasconcellos, A.C.A. Melo & M.F. Moreira. 2010.** The effect of lufenuron, a chitin synthesis inhibitor, on oogenesis of *Rhodnius prolixus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 98: 59-67.
- Mertz, F.P. & R.C. Yao. 1990.** *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar rum still. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 40: 34-39.
- Miranda, J.E. & S.M.M. Rodrigues. 2015.** História do bicudo no Brasil, p. 11-45. In J.L. Bélot (eds.), *O bicudo-do-algodoeiro (Anthonomus grandis Boh., 1843) nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle*. Cuiabá, Instituto Mato-grossense do Algodão, 250p.
- Oberlander, H., D.L. Silhacek, E. Leach, I. Ishaaya & E. Shaaya. 1991.** Benzoylphenyl urea inhibits chitin synthesis without interfering with amino sugar uptake in imaginal wing discs of *Plodia interpunctella*, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 18: 219-227.
- Oberlander, H., D.L. Silhacek, E. Shaaya & I. Ishaaya. 1997.** Current status and future perspectives of the use of insect growth regulators for the control of stored product insects, *J. Stored Prod. Res.* 33: 1-6.
- Romano, F.C.B. 2002.** Esterilização da mariposa *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) através do uso de iscas com diferentes inseticidas. Dissertação de Mestrado, Esalq, Piracicaba, 61p.
- Roussel, J.S. & D.F. Clower. 1957.** Resistance to the chlorinated hydrocarbon insecticides in the boll weevil. *J. Econ. Entomol.* 50: 463-468.
- Ruberson, J.R., G.A. Herzog, W.R. Lambert & W.J. Lewis. 1994.** Management of the beet armyworm in cotton: role of natural enemies. *Fla. Entomol.* 77: 440-453.
- Salgado, V.L. 1998.** Studies on the mode of action of spinosad: Insect symptoms and physiological correlates. *Pestic. Biochem. Physiol.* 60: 91-102.

- Showler, A.T. 2012.** The conundrum of chemical boll weevil control in subtropical regions, p. 437-448 In F. Perveen (ed.), Insecticides: pest engineering. Croatia: InTech, 538p.
- Silvie, P.J., D. Thomazoni, M.F. Soria, P.E. Saran & J.L. Bélot. 2013.** Pragas e seus danos em algodoeiro. Primavera do Leste, Instituto Mato-grossense do Algodão, 184p.
- Smet, H., M. Rans & A. De Loof, 1990.** Comparative effectiveness of insect growth regulators with juvenile hormone, anti-juvenile hormone and chitin synthesis inhibiting activity against several stored food insect pests, p 649-657. In F. Fleurat-Lessard & P. Ducon, P. (eds.), Proceedings 5th International Working Conference on Stored Product Protection, France, 2065p.
- Soria, M.F., D. Thomazoni, B.B. Batista, P.E. Degrande. 2013.** Controle químico do bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) com inseticidas alternativos ao endossulfan, organofosforados e piretroides SC. In IX Congresso Brasileiro de Algodão, Brasília, DF. CD-Room.
- Sparks T.C, G.D. Crouse, J.E. Dripps, P. Anzeveno, J. Martynow & C.V. DeAmicis. 2008.** Neural network-based QSAR and insecticide discovery: spinetoram. J. Comput. Aided. Mol. Des. 22: 393-401.
- Sparks, T.C., G.D. Thompson, L.L. Larson, H.A. Kirst, O.K. Jantz, T.V. Worden, M.B. Hertlein & J.D. Busacca. 1995.** Biological characteristics of the spinosyns: new naturally derived insect control agents, p. 903-907. In Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, San Antonio, TX., 1830p.
- Srivastava, M., L. Bosco, J. Funderburk, S. Olson & A. Weiss. 2008.** Spinetoram is compatible with the key natural enemy of *Frankliniella* species thrips in pepper. Plant Health Progress. Disponível em: <https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2008/pepper/>. Acessado em: 20/06/2017.
- Sujii, E.R., G.L. Lövei, M. Sétamou, P. Silvie, M.G. Fernandes, G.S.J. Dubois, and R.P. Almeida. 2006.** Non-target and biodiversity impacts on non-target herbivorous pests, p. 133-154. In A. Hilbeck, D.A. Andow, and E.M.G. Fontes (eds.), Environmental risk assessment of genetically modified organisms volume 2: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil. Wallingford, CABI Publishing, 272p.
- Thompson G.D., R. Dutton & T.C. Sparks. 2000.** Spinosad-a case study: an example from a natural products discovery programme. Pest Manag. Sci. 56: 696-702.
- Torres, J.B., L.M. Vivan, C.S. Bastos & E.M. Barros. 2015.** Controle cultural como método de convivência com as pragas do algodoeiro, p 117-142. In J.L. Bélot (eds.), O bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boh., 1843) nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle. Cuiabá, Associação Mato-grossense dos Produtores de Algodão, 254p.
- Watson, G.B. 2001.** Actions of insecticidal spinosyns on geaminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. Pestic. Biochem. Phys. 71: 20-28.

Wilson, L.J., L.R. Bauer & D.A. Lally. 1988. Effect of early season insecticide use on predators and outbreaks of spider mites (Acari: Tetranychidae) in cotton *Bulletin of Entomological Research* 88: 477-488.

CAPÍTULO 2

RESISTÊNCIA DE *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A BETA-CIFLUTRINA¹

GUILHERME G. ROLIM

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

Rolim G.G. Resistência de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) a beta-ciflutrina. A ser submetido.

RESUMO – A resistência de artrópodes praga a inseticidas é uma característica hereditária e um dos principais problemas para o manejo integrado de pragas na atualidade. O monitoramento da suscetibilidade da espécie visa caracterizar o risco de resistência e subsidiar recomendações para mitigar o aumento da frequência de resistência e falhas de controle. Neste estudo, determinou-se a suscetibilidade de adultos de sete populações do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), coletados em lavouras do Semiárido e do Cerrado, a malationa e a beta-ciflutrina, que representam inseticidas amplamente empregadas no controle desta e de outras pragas do algodoeiro. Inicialmente, a mortalidade de adultos de campo foi determinada através do método de imersão de folhas a dose comercial de ambos os inseticidas. Os resultados variaram de 0 a 82% de mortalidade de adultos expostos à beta-ciflutrina e 100% de mortalidade com a malationa. A partir destes resultados, curvas concentrações-mortalidade foram determinadas para estimar concentrações letais (CLs) para as sete populações a ambos os inseticidas. Os valores de CLs corroboram as mortalidades obtidas com a dosagem de campo, que não caracteriza resistência a malationa; porém, resistência a beta-ciflutrina. As duas populações do Semiárido foram sensíveis, enquanto as cinco populações do Cerrado demonstraram razões de resistência variando de 62,7 a 439,7 vezes à beta-ciflutrina. Ainda, que a resistência não é mediada por alfa- e beta-esterases necessitando futuros estudos para esclarecimento. Logo, não se recomenda o uso de beta-ciflutrina nas áreas dessas populações, bem como uso cuidadoso de outros piretroides, para o controle do bicudo-do-algodoeiro.

PALAVRAS-CHAVE: Bicudo-do-algodoeiro, piretroide, organofosforado, pragas do algodão

RESISTANCE OF *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONEDAE) TO
BETA-CYFLUTHRIN

ABSTRACT – Insecticide resistance in arthropods is an inherited trait that has become a major issue to pest management. Monitoring the susceptibility of key pest species aims to determine the risk of resistance selection, and to subsidize recommendations to mitigate the problem and control failures. The susceptibility of seven populations of boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), originated from cotton fields located in the Semiarid and Cerrado areas was determined to malathion and beta-cyfluthrin, which represent widely recommended insecticides to spray cotton fields to control boll weevil and other pest species. The mortality response of wild weevils to recommended field rates treated with both insecticides was determined using the leaf dipping method. The results show variation from 0-82% and 100% mortality of adults exposed to beta-cyfluthrin and malathion, respectively. Thus, bioassays of concentration-mortality were carried out and lethal concentrations (LCs) curves were estimated for adult of all seven populations. The LC-values corroborate to the mortality outcome using the field rate of both insecticides: lack of resistance to malathion, and high levels of resistance to beta-cyfluthrin. Both populations collected in the Semiarid areas were susceptible; while, the five populations from Cerrado areas exhibited resistance ratios 62.7 to 439.7-fold to beta-cyfluthrin. In addition, the resistance to beta-cyfluthrin was not mediated by either alpha- or beta-esterases requiring further studies to elucidate the causes. Therefore, it is recommended careful during recommendation of beta-cyfluthrin and other related pyrethroids to spray cotton fields against boll weevil in the Cerrado.

KEY WORDS: Boll weevil, pyrethroid, organophosphate, cotton pest

Introdução

O manejo de pragas do algodoeiro é realizado adotando todos os métodos de controle desde o controle cultural até o uso de plantas geneticamente modificadas (King *et al.* 1996, Torres *et al.* 2009, Torres *et al.* 2015, Bélot *et al.* 2016). Contudo, é amplamente dependente de medidas curativas de controle como as aplicações de inseticidas. No Brasil, o algodoeiro é predominantemente cultivado em grandes áreas no Cerrado (com lavouras contínuas de até 40.000 hectares) e por pequenos produtores no Semiárido (com lavouras entre 0,5 a 5ha). Independente da região, as condições favoráveis de clima beneficiam a incidência de vários artrópodes herbívoros, com muito dos quais atingindo status de praga. Dentre eles, o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), determina a maioria das práticas de manejo de pragas para esta cultura e, quando não adotadas corretamente, o produtor está sujeito a ter perdas significativas de produtividade. Com base na área cultivada em 2015/2016 e produtividade obtida, os valores relativos às perdas e gastos com o controle do bicudo-do-algodoeiro foram estimados em 374 milhões de dólares, sendo que, apenas, para o controle desta praga, foram estimados gastos de 182 milhões de dólares anuais (Bélot *et al.* 2016).

O comportamento de ovipositar e completar o desenvolvimento no interior das estruturas reprodutivas do algodoeiro, além de destruir a parte produtiva da planta, dificulta o contato da praga com o inseticida obrigando a adoção de práticas curativas de controle quase que exclusivamente para a fase adulta (Showler 2006). Com a colonização da lavoura e oviposições por vários dias, ocorrem subsequentes emergências de adultos, o que requer aplicações seriadas de inseticidas em intervalos de aproximadamente cinco dias visando reduzir a população dos adultos. Isto resulta em várias aplicações ao longo do ciclo da cultura, dependendo da pressão de infestação (Miranda & Rogrigues 2015, Bélot *et al.* 2016).

A maior parte das aplicações inseticidas são realizadas com inseticidas de largo espectro como organofosforados, carbamatos e piretroides, porque além de *A. grandis*, o algodoeiro hospeda outras espécies de artrópodes pragas (Degrande 1998, Silvie *et al.* 2013). Atualmente, cerca de 70% dos inseticidas e/ou misturas comerciais, registradas para uso contra o bicudo-do-algodoeiro no Brasil, são compostas por piretroides (AGROFT 2018). Isto por várias razões, dentre elas: não causarem fitotoxicidade em aplicações subsequentes com as dosagens recomendadas; apresenta baixa toxicidade a mamíferos; toxicidade para diversas pragas; e baixo custo (Elliott 1976). Porém, o uso frequente de inseticidas com mesmo modo de ação pode selecionar populações resistentes, sendo este o maior empecilho para a sustentabilidade dos piretroides é a resistência de pragas (Casida 1980, APRD 2018).

Curiosamente o bicudo-do-algodoeiro, no entanto, possui apenas 41 casos citados entre alta tolerância a resistência a 14 inseticidas de 1957 a 1995, comparativamente as demais pragas-chave do algodoeiro como: *Chloridea* (= *Heliothis*) *virescens* (F.) com 120 casos, *Helicoverpa armigera* (Hüb.) com 856 casos, *Aphis gossypii* Glover, com 268 casos de resistência a vários inseticidas (APRD 2018). O estudo mais recente sobre o monitoramento da suscetibilidade do bicudo-do-algodoeiro a inseticidas foi realizado há 21 anos (Stadler & McKibben 1997). Esses autores testaram adultos oriundos de diferentes localidades do cinturão do algodão nos Estados Unidos, o que revelou alta variabilidade e tolerância a piretroides como a ciflutrina, em grau técnico. No Brasil, há relatos de baixa eficiência de alguns piretroides, tanto em condições de laboratório, como em testes de campo (Soria *et al.* 2013, Barros *et al.* 2016).

A baixa eficácia de piretroides contra o bicudo-do-algodoeiro é questionada por produtores e pesquisadores e pode estar relacionada a vários fatores, incluindo o clima (chuvas e altas temperaturas durante as aplicações), logística de aplicação (época, dosagens, e etc.), ou mesmo a seleção de populações resistentes. A resistência a inseticidas pode ser definida como uma

mudança hereditária na sensibilidade de uma população de pragas que se reflete na falha repetida de um produto para alcançar o nível de controle esperado quando usado de acordo com a recomendação do rótulo para essa espécie de praga (IRAC 2018). A resistência a piretroides é amplamente citada (APRD 2018) e, em especial para pragas do algodoeiro, o que pode estar relacionada às características intrínsecas das espécies, mas também à grande pressão devido a utilização de piretroides nesta cultura, como citado anteriormente. Apesar disso, o bicudo-do-algodoeiro, parece ser uma exceção entre as pragas do algodoeiro, apresentando poucos casos de resistência ou não tem recebido devida atenção quanto ao monitoramento para a detecção de resistência.

Desta forma, a partir dos questionamentos sobre a baixa eficácia de piretroides amplamente recomendados para o controle do bicudo-do-algodoeiro, este estudo testou a hipótese de que populações estão sendo selecionadas para resistência. Para tanto, a suscetibilidade de adultos do bicudo-do-algodoeiro a beta-ciflutrina foi determinada empregando sete populações da praga em comparação ao inseticida padrão de controle dessa praga, o organofosforado malationa.

Material e Métodos

Obtenção das Populações de *Anthonomus grandis*. Inicialmente bioensaios de eficácia foram realizados com adultos do bicudo-do-algodoeiro coletados em diferentes localidades (Tabela 1). Para tanto, adultos foram oriundos de botões florais e maçãs atacadas coletadas em campo. O material foi acondicionado em bandejas plásticas e mantidas no interior de caixas de acrílico transparente (30x45x50cm) até a emergência dos adultos. Ao emergirem, os adultos foram transferidos para potes plásticos transparentes de 500mL, sendo alimentados com cotilédones, botões florais e suplementados com uma pasta de mel e levedura-de-cerveja (1:1). Os bioensaios foram realizados utilizando adultos de ambos os sexos com cinco a sete dias de idade. A criação e

os bioensaios foram realizados sob condições controladas de $25 \pm 1,0$ °C, fotofase de 12h e umidade relativa entre 50 e 70%

Inseticidas. Os inseticidas utilizados foram a beta-ciflutrina (Bulldock® 125 SC g i.a./L, Bayer CropScience Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e malationa (Malathion® EC 1000 g i.a./L, Cheminova Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil), diluído numa solução aquosa de espalhante adesivo a 0,01% (Wil-Fix® 30 g i.a./L, Charmon Destyl Industria Química Ltda, Campinas, SP, Brasil). Essa solução de espalhante adesivo sem inseticida foi empregada como tratamento controle.

Mortalidade de *Anthonomus grandis* na Dosagem Recomendada. A eficácia de cada inseticida empregado na formulação comercial foi determinada mediante exposição de adultos do bicudo-do-algodoeiro emergidos de material de campo, como descrito anteriormente, ao resíduo seco de ambos os inseticidas separadamente. A exposição foi feita sobre discos de folhas de algodão mergulhados na calda inseticida de acordo com método do IRAC no. 7 (IRAC 2014). Os inseticidas foram diluídos em água empregando a dosagem recomendada no controle do bicudo-do-algodoeiro. Assim, a malationa foi usada na dosagem de 1000 g de i.a./ha e a beta-ciflutrina na dosagem de 12,5 g de i.a./ha (AGROFIT 2018). Um total de 100 adultos do bicudo foram expostos por inseticida empregando 10 repetições consistindo de 10 insetos cada. Cada repetição foi composta por uma placa de Petri de vidro (90mm x 15mm) forrada com papel de filtro levemente umedecido de mesmo diâmetro. Sobre o papel de filtro foi colocado o disco de folha de algodão tratado ou não. Botões florais de ~6mm de diâmetro e sem brácteas, também, foram tratados ou não, e ofertados sobre os discos de folhas.

A mortalidade dos insetos foi contabilizada 48h após o confinamento. A avaliação consistiu na retirada do material vegetal remanescente e do papel de filtro, enquanto a placa de Petri contendo apenas os insetos foi colocada sobre uma chapa aquecedora (Fisatom mod.752A,

Rio de Janeiro-RJ, Brasil) a temperatura de aproximadamente 35 °C para estimular a movimentação dos insetos devido ao comportamento de “tanatose” apresentado pelos adultos quando manipulados. Os bicudos foram considerados mortos quando não conseguiam mover ou não tinham coordenação motora para caminhar. Como não houve mortalidade no tratamento testemunha, não foi necessária correção de mortalidade e este tratamento não foi considerado nas análises. Assim, a porcentagem de mortalidade foi submetida aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk; Proc Univariate do SAS) e homocedasticidade de variância (Bartlett; Proc ANOVA do SAS) e transformados em arco seno da raiz ($x/100$) para atender as pressuposições da ANOVA. Em seguida, os resultados foram submetidos a ANOVA, em esquema fatorial, considerando como fatores principais inseticidas e populações com 10 repetições cada. A mortalidade entre inseticidas foi comparada pelo teste de Fisher da ANOVA para cada população, enquanto que a mortalidade para cada inseticida entre populações foi comparada pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Bioensaios de Suscetibilidade de *Anthonomus grandis*. Os bioensaios para a determinação das curva concentração-mortalidade e cálculo das concentrações letais (CL_{50}) médias foram realizados em delineamento inteiramente casualizados com no mínimo duas repetições por concentração composta por 10 insetos cada, sendo o número final de insetos testados por inseticida indicado nas tabelas. Para cada população, testes preliminares foram realizados para determinar resposta "tudo ou nada" a fim de estabelecer o intervalo de concentrações para obter curvas de concentrações-mortalidade. Após determinar o intervalo, foram feitas as concentrações pelo método de diluições seriadas, variando de 1,3 a 66663 mg de i.a./L para a beta-ciflutrina e 16 a 1000 mg de i.a./L para a malationa. Depois de preparadas as concentrações, discos de folhas de algodão com ~8cm de diâmetro, ponteiros e botões florais de algodoeiro foram imersos nas diluições inseticidas por 10 segundos e deixados em temperatura ambiente para evaporar o excesso da calda. Em seguida, as folhas, ponteiros e botões florais foram colocadas em placas de

Petri de vidro de 12mm x 90mm (altura x diâmetro), forradas com papel filtro. O bioensaio foi repetido ao menos duas vezes e todos os tratamentos foram mantidos à temperatura de 25 ± 1 °C, fotofase de 12h e UR de laboratório variando entre 50 e 70%. A mortalidade dos insetos foi determinada após 48h de confinamento sobre material vegetal tratado com inseticida ou não (testemunha) como descrito no experimento anterior.

Os dados de mortalidade foram tabulados e corrigidos quando necessário pela mortalidade no tratamento testemunha (Abbott 1925). Em seguida, os resultados foram submetidos à análise de Probit (Finney 1971), utilizando o Proc Probit do SAS (SAS Institute 2001) e calculadas as concentrações letais. Razões de toxicidade e seus limites de confiança a 95% foram calculados segundo método descrito por Robertson *et al.* (2007), sendo a razão de toxicidade considerada significativa quando o intervalo de confiança não incluía o valor 1,0. Para cada inseticida, a população que apresentou a menor CL_{50} foi utilizada como padrão de suscetibilidade em relação às demais.

Amostras para Atividade Enzimática. A partir dos resultados de concentração-mortalidade, três populações do bicudo-do-algodoeiro foram estudadas: uma população representando alto nível de resistência a beta-ciflutrina (Rondonópolis-MT: ROO2) e as duas populações suscetíveis (Surubim-PE e Barbalha-CE) foram empregadas no estudo. De cada população foram retiradas três amostras de 10 adultos do bicudo-do-algodoeiro. As amostras consistiam de machos e fêmeas aproximadamente na mesma proporção. Cada amostra continha 10 abdomens, esses foram retirados com auxílio de pinças entomológicas, e imediatamente transferidos para micro tubos contendo 1mL da solução tampão fosfato de sódio (0,02M, pH 7,2) e armazenados a -20°C. Após o descongelamento em gelo, as amostras foram processadas, onde com o auxílio de um pistilo, os abdomens foram macerados e obtidos um homogeneizado. Esse material foi centrifugado a 10.000 g por 15 minutos a 4 °C. Amostras de 500 µL do sobrenadante foi coletada sem perturbar

o pellet e armazenadas a -20 °C. No total tínhamos três amostras de cada população, sendo essas denominadas de sub-amostras.

Quantificação de Proteínas Totais. A proteína total foi determinada através do método de ácido bicinconínico (Smith 1985) usando albumina de soro bovino (BSA) como padrão. Nove sub-amostras de 100 µL cada foram coletadas do material descongelado em gelo e completadas para 200 µL com tampão fosfato usado no preparo das amostras. Assim, a diluição de 1:2 foi obtida para fazer a quantificação de proteínas totais. A curva padrão foi composta de BSA diluída em cloreto de sódio nas concentrações 0,2; 0,04; 0,06; 0,8; 1,0 e 2,0 mg/mL. Após a transferência das amostras para os poços na placa de ELISA, a placa foi encubada por 30 minutos a 37 °C. Após este período, a placa foi levada ao espectrofotômetro, onde é utilizado o Software “GEN5” e determinada a densidade óptica a 562 (Elx800®, BioTek Instruments, Winooski, VT, USA).

Atividade de Enzimática. A quantificação da atividade de carboxilesterases (alfa e beta esterases) foi conduzida seguindo a metodologia adaptada de van Asperen *et al.* (1962) e Rodrigues (2014). As amostras foram analisadas em triplicata, sendo utilizados 10 µL de cada amostra/população de abdomens do bicudo-do-algodoeiro na diluição 1:10, a qual continha em média 1,39 µg de proteínas totais. Soluções concentradas (250 mM) dos substratos α -naftil-acetato e β -naftil-acetato foram preparadas em acetona para a construção da curva padrão nas concentrações 0,0234375; 0,046875; 0,09375; 0,1875; 0,375, 0,75 e 1,5 mg/mL. As amostras foram incubadas a 30 °C por 15 minutos. Foram adicionados 10 µL de amostra, 2 µL de 25 nM de α -naftil-acetato ou β -naftil-acetato e 188 µL de tampão fosfato de sódio (0,02M, pH 7,2) por poço da placa de ELISA. As amostras foram incubadas por 15 minutos a 30 °C e a reação paralisada após 15 minutos adicionando 33,2 µL de FAST Blue B a 0,3% em 3,5% de SDS. Terminada a reação, a placa foi levada ao espectrofotômetro, onde é utilizado o Software “GEN5” e feita a

leitura da absorbância a 600 nm para α -esterase e a 550 para β -esterase (Elx800[®], BioTek Instruments, Winooski, VT, USA).

Os resultados da absorbância das carboxilesterases (alfa e beta esterases) foram submetidos separadamente ao teste de normalidade, homogeneidade de variância, e análise de variância (ANOVA) e as medias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Resultados

Mortalidade de *Anthonomus grandis* na Dosagem Recomendada. A mortalidade obtida para adultos oriundos de campo foi variável em função dos inseticidas ($F_{1, 134} = 290,61$; $P < 0,0001$) com as sete populações do bicudo-do-algodoeiro testadas sendo sensíveis a malationa com 100% de mortalidade (Fig. 1), mas variável quanto à beta-ciflutrina. Desta maneira, os resultados mostraram resposta diferenciada entre as populações testadas ($F_{6, 129} = 3,91$; $P < 0,0013$) e da interação inseticida e população ($F_{6, 122} = 413,68$; $P < 0,0001$). Apenas, as duas populações do Semiárido (BAR-CE e SUR-PE) apresentaram mortalidade acima 70% ao serem expostas a dosagem recomendada da beta-ciflutrina diferindo das cinco populações do Cerrado, as quais expressaram mortalidade entre 0% a 7% (Fig. 1).

Bioensaios de Suscetibilidade de *Anthonomus grandis*. Os resultados de concentração-mortalidade para todas as populações e inseticidas assumiram o modelo de Probit ($P > 0,05$), permitindo estimar as concentrações letais médias verdadeiras e seus respectivos limites de confiança a 95% de probabilidade. A população utilizada como padrão de suscetibilidade para ambos os inseticidas foi BAR-CE, pois apresentou os menores valores para as concentrações letais calculadas (CL_{50S}) (Tabelas 2 e 3).

Bioensaios com a malationa resultaram em CL_{50S} variando de 138 mg i.a./L (BAR-CE) a 329 mg i.a./L (SUR-PE). Desta forma, a menor e maior razão de resistência (RR_{50}) calculadas

foram para os indivíduos das populações PVL-MT e SUR-PE com 1,62 e 2,37 vezes, respectivamente. Os valores de CL₉₀ variaram de 451 mg i.a./L (BAR-CE) a 613 mg i.a./L (ROO2-MT). Os coeficientes angulares das curvas concentração-mortalidade apresentaram variação de 2,50 (BAR-CE) a 8,98 (SUR-PE) e, erro padrão entre 0,28 a 2,07 (Tabela 2).

Os bioensaios com beta-cifutrina resultaram em CL_{50s} estimadas variando de 29 mg i.a./L (BAR-CE) a 13050 mg i.a./L (ROO2-MT). Desta forma, os valores calculados para a RR₅₀ foram de 1,98 e 439,77 vezes para a população SUR-PE e ROO2-MT, respectivamente. Para a CL₉₀, os valores variaram entre 131 a 44720 mg i.a./L para as populações de BAR-CE e ROO2-MT, respectivamente. Todas as populações apresentaram RR₅₀ significativas para a beta-cifutrina (Tabela 3). Os coeficientes angulares das curvas concentração-mortalidade para a beta-cifutrina variaram de 1,05 (PVL-MT) a 2,39 (ROO2-MT) com erro padrão entre 0,14 e 0,41 (Tabela 3).

Atividade Enzimática. No teste enzimático de quantificação de alfa- e beta-esterases, observou-se que a população resistente (ROO2-MT) não diferiu ($F_{2, 24} = 0,64$; $P = 0,53$) das populações suscetíveis (BAR-CE e SUR-PE). Os valores médios (média \pm EP) de alfa-esterase foram de $0,0121 \pm 0,0014$; $0,0134 \pm 0,0043$ e $0,0137 \pm 0,0016$ $\eta\text{Mol. min}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ de proteínas totais para as populações BAR-CE, ROO2-MT e SUR-PE, respectivamente. Para a beta-esterase, os valores médios, foram de $0,0212 \pm 0,0006$; $0,0264 \pm 0,0046$ e $0,0269 \pm 0,0031$ $\eta\text{Mol. min}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ de proteínas totais para as populações ROO2-MT, BAR-CE e SUR-PE, respectivamente.

Discussão

Os resultados obtidos confirmam a eficácia da malationa contra o bicudo-do-algodoeiro (Mulrooney *et al.* 1997), apesar de ser intensamente aplicado no Brasil desde a sua introdução, em 1983. Da mesma forma, a cipermetrina e a ciflutrina mostravam-se eficazes, tanto no Brasil (Soares *et al.* 1989), como nos Estados Unidos (Leonard *et al.* 1989). Contudo, recentes estudos

com a beta-ciflutrina empregando a dosagem de campo, e através de testes de concentração-resposta demonstram alta variabilidade de resposta entre as populações. Os resultados caracterizam que mesmo em condições de confinamento durante 48h sobre o resíduo seco, a CL₉₀ estimada foi de ~357 vezes superior a dosagem recomendada de campo de 12,5 g i.a./ha (com volume de calda de 100 L/ha).

Embora outras táticas de manejo tenham sido desenvolvidas para minimizar o uso de inseticidas destinados ao controle do bicudo-do-algodoeiro, o controle químico é o mais efetivo para a supressão desse inseto na fase adulta, em virtude de sua biologia, comportamento e ecologia (Lincoln & Graves 1978, Parellicia *et al.* 1983, Showler 2012). Apesar da importância e da grande dependência no uso de inseticidas, estudos realizados com o bicudo-do-algodoeiro para o conhecimento de linhas base de suscetibilidade a ingredientes ativos são escassos. Na verdade, poucos estudos têm sido realizados na busca por novos métodos de controle e inseticidas para o bicudo-do-algodoeiro, mesmo sendo a praga mais importante da cotonicultura no Brasil (Bélot *et al.* 2016). Embora a relação inseto, planta, ambiente e xenobióticos possa ser considerada dinâmica, o controle desta praga depende basicamente dos conhecimentos gerados no passado. Assim explicando a grande demanda por inseticidas como método curativo contra o bicudo-do-algodoeiro.

O resultado deste trabalho é o primeiro relato sobre resistência de populações brasileiras do bicudo-do-algodoeiro a um inseticida. As cinco populações apresentando níveis de resistência a beta-ciflutrina foram provenientes de lavouras convencionais do Cerrado Matogrossense onde, além do algodoeiro, também se cultivam numa mesma safra ou em sucessão, milho e soja. Desta maneira, o uso de inseticidas durante uma safra/ano, não se restringe ao controle de pragas do algodoeiro. Isto sugere uma pressão de seleção em várias culturas acarretando seleção para resistência em espécies polífagas (ex. moscas-brancas, Heliothinae, etc.). Contudo, esta hipótese de

polifagia e cultivos associados parece não se aplicar ao bicudo-do-algodoeiro, pois se trata de uma espécie específica do algodoeiro. Desta maneira, a exposição do bicudo-do-algodoeiro as pulverizações estariam ocorrendo durante a safra de algodão. Assim, o bicudo-do-algodoeiro não seria uma espécie sobre grande pressão de seleção.

Vale salientar, no entanto, que a fenologia do algodoeiro é relativamente longa (~150 dias), quase o período de uma safra de soja e de milho juntas. Desta maneira, durante uma safra de algodão, as lavouras recebem várias pulverizações (Miranda & Rodrigues 2015, BÉlot *et al.* 2016). Ainda, deve-se considerar as mudanças recentes no sistema de cultivo no Cerrado, onde no passado recente, a maior parte das lavouras de algodão eram realizadas na safra de verão (plantio no início do período das chuvas). Atualmente, tornou-se o oposto, a maior parte das lavouras de algodão é de segunda safra, plantado após a soja (i.e., plantio em Janeiro-Fevereiro). Porém, por questão de rotação de culturas ou opção do produtor, ainda, existem em menor extensão lavouras de algodão de primeira safra. Nessas áreas, onde se tem algodão de primeira e segunda safra próxima ou mesmo adjacente, o controle de pragas torna-se um verdadeiro desafio favorecendo a pressão de seleção mesmo sobre pragas restritas ao algodoeiro. Podendo expor o bicudo-do-algodoeiro as pulverizações sucessivas durante toda o período passível de cultivo de setembro a junho.

Além disso, a partir de 2005 com o plantio do algodão RR[®] na região, muitas plantas de algodão rebrotam ou germinam no meio das lavouras de soja e milho e não são facilmente controladas (i.e., plantas “tigueras”), fornecendo hospedeiro para o bicudo-do-algodoeiro. Assim, populações de bicudo-do-algodoeiro desenvolvendo nessas plantas tigueras podem estar sendo também expostas as pulverizações direcionadas a pragas dessas lavouras. Embora, sejam apenas hipóteses de situações mais recentes, essas condições precisam ser observadas com mais cuidado no manejo integrado de pragas, em especial, para evitar a resistência a inseticidas.

Os primeiros casos de resistência a inseticidas para o bicudo-do-algodoeiro ocorreram em meados de 1950 (cinco anos após o início do uso dos organoclorados), com populações resistentes a hidrocarbonetos clorados no Arkansas e Mississipi (Roussel & Clower 1957). No caso dos piretroides e organofosforados, não foram identificadas populações de fato resistentes (Leonard *et al.* 1989), embora Kanga *et al.* (1995), encontraram sobrevivência a ciflutrina, em grau técnico. Para diferentes populações do bicudo-do-algodoeiro oriundos do cinturão do algodão nos Estados Unidos. Neste estudo, não se fez uma caracterização com produto comercial e sua relação com a dosagem de campo, apenas caracterizou a suscetibilidade das populações. De toda forma, já evidenciaram variabilidade de resposta entre populações, demonstrando que a espécie é propensa à seleção.

Os piretroides não representam uma única ou nova opção de sítio de ação para controle de artrópodes-pragas, mas sim uma forma de controle alternativa aos organoclorados como o DDT (Casida 1980). A resistência ao DDT, assim como nos piretroides, está ligada a destoxificação e insensibilidade do sítio-alvo (Plapp 1976). No entanto, os casos de resistência cruzada entre piretroides e organoclorados geralmente estão relacionados com a insensibilidade do sítio-alvo (Guedes *et al.* 1995, Montagna *et al.* 1999, 2003, Pereira *et al.* 2017). Levando a supor que a resistência do bicudo-do-algodoeiro a beta-ciflutrina não é mediada por detoxificação enzimática, como observado em nossos resultados. Logicamente, essa hipótese requer testes moleculares sobre a sensibilidade do sítio-alvo para ser confirmada ou não.

A hipótese de insensibilidade do sítio-alvo é plausível pelo fato das populações do bicudo-do-algodoeiro testadas no presente trabalho não apresentarem influência enzimática sobre a resistência. Isso ocorre provavelmente pela falta da necessidade que insetos monófagos têm de neutralizar, através de metabolização enzimática, grande quantidade de toxinas de plantas em oposição aos insetos polípagos (Plapp & Bull 1989). Como exemplo, espécies como *Tuta absoluta*

Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) que por conta do uso de hospedeiro com grande expressão de compostos secundários como defesa, ou o uso de diferentes hospedeiros, tem como principal mecanismo de resistência, a destoxificação pelo metabolismo promovido por enzimas com amplo espectro de ação e que podem atuar sobre vários compostos (Reyes *et al.* 2012, Gong *et al.* 2013). Desta maneira, a resistência ao sitio alvo parece ser o mecanismo de resistência mais comum em insetos monófagos, como *A. grandis*. Isto porque são mais restritos quanto a alimentação e por sua vez menos expostos a grande diversidade de toxinas produzidas por plantas (Plapp & Bull 1989).

Curiosamente, todas as populações de bicudo-do-algodoeiro avaliadas se mostraram suscetíveis à malationa, embora seja este o inseticida mais antigo e mais utilizado no controle desta praga. A malationa, é considerada a opção de controle eficaz do bicudo-do-algodoeiro mantendo-se com alta toxicidade (Kanga *et al.* 1995), até os dias atuais. Resultado verificado tanto para as populações do Cerrado (Mato Grosso) como para as populações do Semiárido (Pernambuco e Ceará). Vale salientar que apesar da variação na suscetibilidade, as CL_{90s} estimadas para a malationa são aproximadamente duas vezes menor que a dosagem recomendada pelo fabricante para pulverização. Porém, não se pode descartar o monitoramento de suscetibilidade para malationa, pois é um inseticida amplamente utilizado em algodoeiro e em outras culturas para o controle de outras pragas-chave, como mosca-branca, percevejos, tripes, percevejos pentatomídeos, e etc.

A perda de eficácia dos piretroides para o controle do bicudo-do-algodoeiro causará impactos diretos sobre o manejo de pragas da cultura, tanto pelo fato de serem de baixo custo, baixa toxicidade, largo espectro e participar de várias misturas recomendadas para pulverização em algodoeiro. Desta forma, o monitoramento da suscetibilidade nas diferentes regiões produtoras do Cerrado é fundamental para subsidiar medidas de mitigação da seleção para a resistência como

o enfoque no controle cultural da praga, rotação de inseticidas com diferentes modo de ação, bem como uso de produtos seletivos para a conservação de inimigos naturais que podem contribuir com o controle da praga, entre outras medidas.

Agradecimentos

A CAPES pela concessão de bolsas a G.G.R e suporte através do projeto PROCAD NF no. 179923 permitindo o deslocamento para a realização do estudo, bem como da FACEPE APQ-0168-5.01/15. Ao IMAmt pelo apoio logístico.

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) 2018.** Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em: 10/01/2018.
- Aguiar, R., E. Soares & R. Monnerat. 2012.** Cry10Aa Protein is Highly Toxic to *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), an Important Insect Pest in Brazilian Cotton Crop Fields. Bt Research 3: 20-28.
- APRD (Arthropod Pesticide Resistance Database). 2018.** Disponível em: <https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=222>. Acessado em: 02/02/2018.
- Barros, E.M. & J.N. Crosariol. 2016.** Mortalidade do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro após contato em resíduo seco de diferentes inseticidas utilizados na cultura do algodoeiro-Safra 2015/2016. Cuiabá, IMAmt, 8p. (Circular técnica n. 27).
- Bélot, J.L., E.M. Barros & J.E. Miranda. 2016.** Riscos e oportunidades: O bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro, p. 77-118. In AMPA (ed.), Desafios do cerrado. Cuiabá, Associação Mato-grossense dos Produtores de Algodão, 283p.
- Casida, J.E. 1980.** Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. Environ. Health Perspec. 34: 189-202.

- Crosariol, J.N., G.G. Rolim & L.S. Arruda. 2017.** Mortalidade do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro após contato em resíduo seco de diferentes inseticidas utilizados na cultura do algodoeiro-Safra 2016/2017. Cuiabá, IMAmt, 8p. (Circular técnica n. 31).
- Degrande, P.E. 1998.** Guia prático de controle de pragas do algodoeiro. Dourados, UFMS, 60p.
- Elliott, M. 1976.** Properties and application of pyrethroids. *Environ. Health Perspect.* 14: 3-13.
- Finney, D.J. 1971.** Probit Analysis. 3a. ed. London, Cambridge University Press, 333p.
- Guedes, R.N., J.O.G. Lima, J.P. Santos & C.D. Cruz. 1995.** Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 31: 145-150.
- IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) 2014.** Disponível em: <http://www.irac-online.org/methods/leaf-eating-lepidoptera-coleoptera-larvae/>. Acessado em: 20/05/2017.
- IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) 2018.** Disponível em: <http://www.irac-br.org/modo-de-ao-de-inseticidas-e-acaricidas>. Acessado em: 05/01/2018.
- Kanga, L.H.B, F.W. Plapp, Jr., M.L. Wall, M.A. Karner, R.L. Huffman, T.W. Fuchs, G.W. Elzen & J.L. Martínez-Carrillo. 1995.** Monitoring tolerance to insecticides in boll weevil populations (Coleoptera: Curculionidae) from Texas, Arkansas, Oklahoma, Mississippi, and Mexico. *J. Econ. Entomol.* 88:198-204.
- King, E.G., J.R. Phillips & R.J. Coleman. 1996.** Cotton insects and mites: characterization and management. Memphis, TN, The Cotton Foundation, 1008p.
- Leonard, B.R., E. Burris, J.B. Graves & A.M. Pavloff. 1989.** Toxicity of pyrethroids tested against boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) adults in laboratory and field trials. *J. Agric. Entomol.* 6: 265-274.
- Lincoln, C. & J.B. Graves. 1978.** Insecticides: resistance and new insecticides, formulations and applications technology, p. 74-84. In *The boll weevil: management strategies*. Fayetteville, Southern Cooperative Series Bull, 228p.
- Miranda, J.E. & S.M.M. Rodrigues. 2015.** História do bicudo-do-algodoeiro no Brasil, p. 11-45. In J. L. Bélot (ed.), *O bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro (Anthonomus grandis Boh., 1843) nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle*. Cuiabá, Instituto Mato-grossense do Algodão, 250p.
- Montagna C.M., O.L. Anguiano, L.E. Gauna & A.M. Pechen de D'Angelo. 1999.** Resistance to pyrethroids and DDT in a field-mixed population of Argentinean black flies (Diptera: Simuliidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 1243-1245.
- Montagna C.M., O.L. Anguiano, L.E. Gauna & A.M. Pechen de D'Angelo. 2003.** Mechanisms of resistance to DDT and pyrethroids in Patagonian populations of *Simulium* black flies. *Med. Vet. Entomol.* 17: 95-101.

- Mulrooney, J.E., K.D. Howard, J.E. Hanks & R.G. Jones. 1997.** Application of ultra-low-volume malathion by air assisted ground sprayer for boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) control. *J. Econ. Entomol.* 90: 640-645.
- Onstad, D. W., and C. A. Guse. 2008.** Concepts and Complexities of Population Genetics, p. 69-88. In D. W. Onstad (ed.), *Insect Resistance Management: Biology, Economics and Prediction.*, Ed. Academic Press. 318p.
- Parellcia, C.R., Jr., T.R. Pfrimmer & A.R. Hopkins. 1983.** Insecticides for control of cotton insects, p. 237-261. In *Cotton insect management special reference to the boll weevil. Handbook, USDA-ARS, 589p.*
- Pereira, A.E, D. Souza, S.N. Zukoff, L.J. Meinke & B.D. Siegfried. 2017.** Cross-resistance and synergism bioassays suggest multiple mechanisms of pyrethroid resistance in western corn rootworm populations. *PLoS One.* 12: e0179311.
- Plapl, F.W., Jr., & D. L. Bull. 1989.** Modifying chemical control practices to preserve natural enemies, p. 537-546. In *Proceedings, Workshop on Biological Control of Heliothis.* Far Eastern Regional Research Office, U.S. Department of Agriculture, New Delhi, India.
- Plapp F.W. 1976.** Biochemical genetics of insecticide resistance. *Ann. Rev. Entomol.* 21, 179-197.
- Reyes, M., K. Rocha, L. Alarcón, M. Siegwart & B. Sauphanor. 2012.** Metabolic mechanisms involved in the resistance of field populations of *Tuta absoluta* (meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to spinosad. *Pestic. Biochem. Physiol.* 102: 45-50.
- Robertson, J.L., R.M. Russell, H.K. Preisler & N.E. Savin. 2007.** *Pesticide bioassays with arthropodes.* 2nd ed. Boca Raton, FL, CRC Press Taylor & Francis Group, 200p.
- Rodrigues, A.R.S., H.A.A. Siqueira & J.B. Torres. 2014.** Enzymes mediating resistance to lambda-cyhalothrin in *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 110: 36-43.
- Roussel, J.S. & D.F. Clower. 1957.** Resistance to the chlorinated hydrocarbon insecticides in the boll weevil. *J. Econ. Entomol.* 50: 463-468.
- SAS Institute. 2001.** *SAS/STAT User's Guide, version 8.02, TS level 2MO.* SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Showler, A.T. 2012.** The conundrum of chemical boll weevil control in subtropical regions. In: F. PERVEEN, ed. *Insecticides: pest engineering.* Croatia: InTech, pp. 437-448.
- Showler, A. T. 2006.** Boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) damage to cotton bolls under standard and proactive spraying. *J. Econ. Entomol.* 99: 1251-1257.
- Silvie, P.J., D. Thomazoni, M.F. Soria, P.E. Saran & J.L. Bélot. 2013.** *Pragas e seus danos em algodão. Primavera do Leste, IMAm, 184p.*

- Smith, P.K., R.I. Krohn, G.T. Hermanson, A.K. Mallia, F.H. Gartner, M.D. Provenzano, E.K. Fujimoto, N.M. Goeke, B.J. Olson & D.C. Klenk. 1985.** Measurement of protein using Bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 150: 76-85.
- Soares, P.M.A., J.E. Oliveira, T.M. Rodrigues, C.I.S.B. Coutinho, S.R.T.Nascimento, L.M.M. Serejo, C.V.D. Silva & E. Bleicher. 1989.** Pulverizações múltiplas para o controle do bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boheman. *Ciên. Agron.* 20: 141-144.
- Soria, M.F., D. Thomazoni, B.B. Batista, P.E. Degrande. 2013.** Controle químico do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) com inseticidas alternativos ao endossulfan, organofosforados e piretroides SC. In IX Congresso Brasileiro de Algodão, Brasília, DF. CD-Room.
- Stadler, T. & G.H. McKibben. 1997.** Dose-mortality response of the cotton boll weevil *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae) to selected insecticides. *Arthropod Manage. Tests* 22: 416-418.
- Torres, J.B., J.R. Ruberson & M. Whitehouse. 2009.** Transgenic cotton for sustainable pest management, p. 45-82. In E. Lichtfouse (ed.), *Sustainable agriculture reviews: organic farming, pest control and remediation of soil pollutants*. New York, Springer, 418p.
- Torres, J.B., L.M. Vivan, E.M. Barros & C.S. Bastos. 2015.** Controle cultural como método de convivência com as pragas do algodoeiro, p. 117-142. In IMAmt (ed.), *O bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boh., 1843) nos cerrados brasileiros: biologia e medidas de controle*. Cuiabá, Instituto Mato-grossense do Algodão, 250p.
- Van Asperen, K. 1962.** A study of house fly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.* 8: 401-416.
- Yu, S. J. 2014.** *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. 2^a ed., New York, CRC Press 380p.

Tabela 1. Informações sobre as populações testadas do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*.

Populações-Estado	Abreviações	Coordenadas geográficas	Data de coleta
Surubim-PE	SUR-PE	7° 55' 39,9" S, 35° 50' 32,9" O	20/09/2016
Barbalha-CE	BAR-CE	7° 17' 51,5" S, 39° 16' 12" O	21/08/2017
Serra da Petrovina-MT	SER-MT	16° 48' 28,4" S, 54° 7' 46,3" O	21/06/2017
Rondonópolis-MT	ROO1-MT	16°33' 22,4" S, 54° 37' 58,4" O	20/05/2017
Rondonópolis-MT	ROO2-MT	16° 59' 30,6" S, 54° 50' 26,7" O	18/07/2017
Primavera do Leste-MT	PVL-MT	15° 8' 30,6" S, 54° 2' 17" O	10/06/2017
Lucas do Rio Verde-MT	LRV-MT	13° 1' 15,88" S, 56° 4' 55,52" O	07/07/2017

Tabela 2. Suscetibilidade do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, a malationa. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; U.R.: $65 \pm 5\%$ e 12h de fotofase.

Populações	n (GL) ¹	Inclinação \pm EP ²	CL ₅₀ (LC _{95%}) ³	RR ₅₀ (LC _{95%}) ⁴	CL ₉₀ (LC _{95%}) ³	χ^2 -Valor de P
BAR-CE	180 (5)	$2,50 \pm 0,28$	138 (111-173)	-	451 (334-691)	$7,80^{0,1672}$
PVL-MT	200 (5)	$3,83 \pm 0,47$	225 (185-263)	1,62 (1,22-2,14)*	486 (410-612)	$5,78^{0,3280}$
SER-MT	200 (5)	$4,54 \pm 0,61$	258 (218-294)	1,86 (1,43-2,42)*	495 (431-603)	$3,37^{0,6422}$
LRV-MT	200 (5)	$3,96 \pm 0,53$	263 (220-302)	1,89 (1,45-2,48)*	554 (474-695)	$4,55^{0,4727}$
ROO1-MT	210 (6)	$3,95 \pm 0,51$	264 (227-299)	1,90 (1,47-2,47)*	558 (476-704)	$4,41^{0,6203}$
ROO2-MT	240 (6)	$3,96 \pm 0,47$	291 (256-326)	2,10 (1,63-2,69)*	613 (525-771)	$4,95^{0,5490}$
SUR-PE	205 (7)	$8,98 \pm 2,07$	329 (275-356)	2,37 (1,85-3,02)*	456 (428-522)	$4,67^{0,6999}$

¹Número de adultos utilizados nos bioensaios (graus de liberdade); ²Erro padrão; ³CL - Concentração (mg de i.a./L) que causou mortalidade de 50 ou 90% da população; ⁴Razão de resistência; baseada nas estimativas da CL₅₀ entre as populações, calculada através do método de Robertson & Preisler (1992) e intervalo de confiança a 95%; χ^2 , teste de qui-quadrado. * Razão de resistência significativa para malationa, uma vez que o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

Tabela 3. Suscetibilidade do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, a beta-ciflutrina. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; U.R.: $65 \pm 5\%$ e 12h de fotofase.

Populações	n (GL) ¹	Inclinação \pm EP ²	CL ₅₀ (LC _{95%}) ³	RR ₅₀ (LC _{95%}) ⁴	CL ₉₀ (LC _{95%}) ³	χ^2 -Valor de P
BAR-CE	206 (7)	1,98 \pm 0,23	29 (23-38)	-	131 (89-235)	9,27 ^{0,1589}
SUR-PE	191 (7)	1,11 \pm 0,18	31 (21-50)	1,89 (1,45-2,48)*	444 (196-2088)	8,75 ^{0,1192}
LRV-MT	190 (8)	1,07 \pm 0,14	1862 (1172-2906)	62,73 (37-105)*	29224 (14939-83729)	6,18 ^{0,6269}
PVL-MT	231 (8)	1,05 \pm 0,14	2280 (1518-3389)	76,82 (48-122)*	37069 (18925-110886)	6,68 ^{0,5705}
ROO1-MT	210 (7)	1,24 \pm 0,14	4087 (2780-6033)	137,70 (86-218)*	43804 (25060-98227)	7,22 ^{0,3006}
SER-MT	251 (8)	1,80 \pm 0,21	8715 (6631-11864)	293,61 (199-431)*	44721 (28779-86200)	5,56 ^{0,6964}
ROO2-MT	170 (7)	2,39 \pm 0,41	13053 (9690-17746)	439,77 (298-647)*	44670 (29773-92474)	0,99 ^{0,9950}

¹Número de adultos utilizados nos bioensaios (graus de liberdade); ²Erro padrão; ³CL - Concentração (mg de i.a./L) que causou mortalidade de 50 ou 90% da população; ⁴Razão de resistência; baseada nas estimativas da CL₅₀ entre as populações, calculada através do método de Robertson & Preisler (1992) e limites de confiança a 95%; χ^2 , teste de qui-quadrado. *Razão de resistência significativa para beta-ciflutrina, uma vez que o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

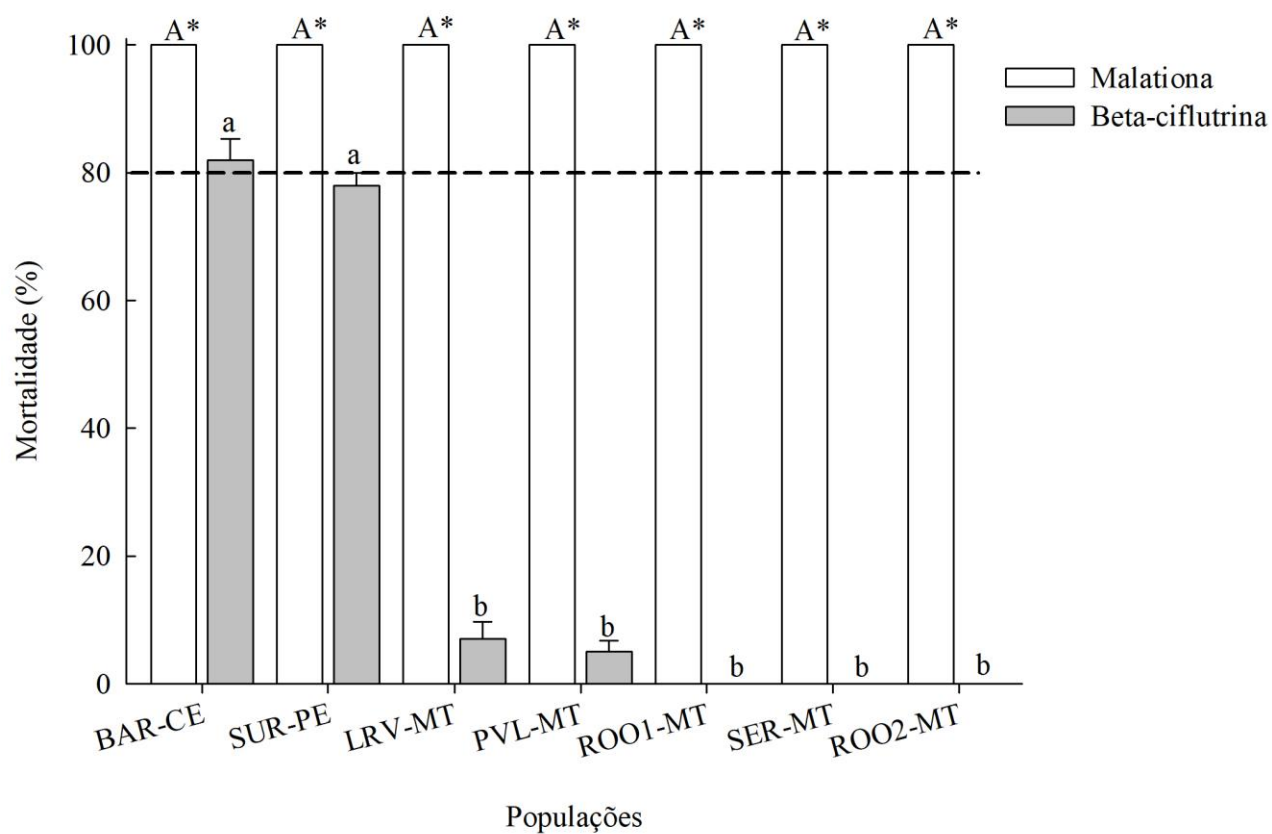


Figura 1. Mortalidade média de adultos de *Anthonomus grandis*, provenientes de cinco populações do Cerrado e duas do Semiárido, 48h após exposição ao resíduo seco em folhas e botões florais do algodoeiro tratados com malationa e beta-ciflutrina nas dosagens recomendadas de campo (1000 e 12,5 g de i.a./ha respectivamente). Nota: Letras maiúsculas e minúsculas comparam as populações para a malataion e beta-ciflutrina, respectivamente (Tukey HSD), enquanto (*) indica diferença entre inseticidas para a mesma população testada (Fisher) ($\alpha = 0,05$).

CAPÍTULO 3

EFEITO SUBLETAL DE INSETICIDAS REGULADORES DE CRESCIMENTO SOBRE ADULTOS DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO ¹

GUILHERME G. ROLIM

Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua D.

Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil

Rolim G.G., Efeito subletal de inseticidas reguladores de crescimento sobre adultos do bicudo-do-
algodoeiro. A ser submetido.

RESUMO – O uso de inseticidas é a principal prática de controle de adultos do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), visto que as fases imaturas estão parcialmente protegidas no interior das estruturas reprodutivas do algodoeiro. Inseticidas reguladores de crescimento (IGRs) são recomendados principalmente contra imaturos, mas também podem afetar a reprodução e sobrevivência de adultos. Assim, foi estudado o impacto de três IGRs: piriproxifem (análogo do hormônio juvenil), metoxifenoazida (agonista do ecdisteroide) e lufenurom (inibidor da síntese de quitina) sobre adultos do bicudo-do-algodoeiro. A contaminação dos adultos do bicudo-do-algodoeiro foi realizada mediante alimentação e contato em discos de folhas e botões florais previamente imersos em calda inseticida nas dosagens recomendadas de 0,34; 1,0 e 0,27 g i.a./L de piriproxifem, metoxifenoazida e lufenurom, respectivamente. A sobrevivência, fecundidade e a viabilidade dos ovos foram determinadas para fêmeas tratadas antes ou depois de acasaladas, confinadas sobre plantas de algodão. Os inseticidas não afetaram a fecundidade e sobrevivência de adultos. Por outro lado, a viabilidade de ovos foi reduzida significativamente para fêmeas expostas ao lufenurom, independente se tratadas antes (89,4%) ou após a cópula (92,6%), ou se o macho estava ou não contaminado. A viabilidade de ovos de fêmeas do bicudo-do-algodoeiro expostas uma vez ao lufenurom foi de 2, 14, 25 e 39% após 8, 16, 24 e 32 dias da exposição, respectivamente. Assim, pode-se concluir que entre os IGRs estudados, apenas, o lufenurom ocasionou redução da viabilidade de ovos do bicudo-do-algodoeiro.

PALAVRAS-CHAVE: Benzoiluréia, ação transovariana, lufenurom, metoxifenoazida, piriproxifem

ACTION OF INSECTICIDE GROWTH REGULATORS ON ADULTS OF BOLL WEEVIL

ABSTRACT - The use of insecticides is the main practice of adult control of the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), since the immature stages are partially protected within the reproductive structures of the cotton plant. Insecticide growth regulators (IGRs) are recommended primarily against immatures, but may also affect reproduction and survival of adults. Thus, the impact of three IGRs: pyriproxyfen (analogue of the juvenile hormone), methoxyfenozide (ecdysteroid agonist) and lufenuron (inhibitor of chitin synthesis) on adults of the cotton boll weevil was studied. The contamination of adults of the boll weevil was carried out by means of feeding and contact in leaf discs and flower buds previously immersed in insecticide syrup at the recommended dosages of 0.34; 1.0 and 0.27 g i.a./L of pyriproxyfen, methoxyfenozide and lufenuron, respectively. The survival, fecundity and viability of the eggs were determined for females treated before or after mating, confined to cotton plants. The tested insecticides did not affect the fecundity and survival of adults. On the other hand, egg viability was significantly reduced for females exposed to lufenuron, regardless of whether they were treated before (89.4%) or after mating (92.6%), or whether the male was contaminated or not. The viability of boll weevil eggs once exposed to lufenuron was 2, 14, 25 and 39% after 8, 16, 24 and 32 days of exposure, respectively. Thus, it can be concluded that among the IGRs studied, only lufenuron caused reduction of egg viability of the cotton boll weevil.

KEY WORDS: Benzoylurea, transovarial action, lufenuron, methoxyfenozide, pyriproxyfen

Introdução

O controle de pragas do algodoeiro tem sido fundamentado no uso de inseticidas, muitos deles de largo espectro, devido a um complexo de mais de 30 espécies que pode ocasionar significativas perdas de produtividade (Degrande 1998, Silvie *et al.* 2013). Este complexo de espécies inclui diferentes hábitos alimentares (sugador, desfolhador, broqueador, etc.), história de vida e comportamento sobre uma cultura anual, porém de fenologia relativamente longa (~150 dias) e cultivada em áreas neotropicais durante o verão quente e úmido. Essas fatores favorecem a herbivoria pela contínua disponibilidade de alimento e clima favorável. Dentre as espécies herbívoras que causam injúrias e perdas de produtividade do algodoeiro destaca-se o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). Esta praga está presente em todas as regiões produtoras de algodão do Brasil, sendo responsável por metade das pulverizações com inseticidas de amplo espectro, especificamente, durante a fase reprodutiva da planta, da emissão dos botões florais à abertura das maçãs.

O uso excessivo de inseticidas, em especial, de largo espectro, geralmente resulta em seleção de indivíduos resistentes e surtos de pragas secundárias, em virtude da pressão de seleção exercida pela baixa rotatividade de grupos químicos com diferentes modos de ação, bem como a destruição da entomofauna benéfica. Além disso, algumas moléculas pertencentes aos piretroides, que compõe 70% dos inseticidas registrados para o bicudo-do-algodoeiro (AGROFIT 2017), são relatadas com pouca eficiência, tanto em condições de laboratório, como em testes de campo (Soria *et al.* 2013, Barros *et al.* 2015). Isto justifica a busca por inseticidas com eficácia e que causem menor impacto ao ambiente e que possam ser utilizados em programas de Manejo Integrado de Pragas

Há uma série de fatores que são responsáveis pelo *status* de praga-chave conferido ao bicudo-do-algodoeiro, destacando-se o comportamento de oviposição com subsequente

desenvolvimento da larva e pupa no interior das estruturas reprodutivas, oferecendo proteção parcial contra inimigos naturais, condições adversas do meio ambiente e ação de contato dos inseticidas (Busoli *et al.* 1994, Santos *et al.* 2013). Devido a isso, as técnicas de controle são direcionadas principalmente para os adultos do bicudo-do-algodoeiro (Showler 2006). Assim, são feitas pulverizações sequenciais para controlar adultos, antes que realizem a postura no interior das estruturas reprodutivas do algodoeiro. Como ocorre sobreposição na emergência de adultos, após a constatação desses nas lavouras, essas pulverizações usualmente são realizadas em intervalos de cinco dias, o que resulta em grande número de pulverizações (Miranda *et al.* 2015, Bélot *et al.* 2016). Desta maneira, a colonização e reprodução inicial da praga na lavoura possui impacto direto no sucesso do manejo desta praga. Portanto, inseticidas que venham a interferir na reprodução desses insetos seja no comportamento, fecundidade ou inviabilidade dos ovos terão impacto no crescimento populacional da praga.

Uma alternativa na fase inicial da lavoura é a utilização de produtos que possuem baixo impacto na fauna benéfica como por exemplo os inseticidas reguladores de crescimento (IGRs) (Mansur *et al.* 2010). Inseticidas desse grupo possuem várias vantagens ecotoxicológicas, em comparação aos organofosforados e piretroides, por apresentarem modo de ação específico, menor toxicidade contra vertebrados e organismos não alvos (Grenier & Grenier 1993, Ávila & Nakano 1999, Cleveland *et al.* 2001). Esses inseticidas são relatados causando efeito sobre a reprodução de várias espécies de insetos, quando aplicados em adultos, afetando a fecundidade e/ou a viabilidade dos ovos (Schroeder & Sutton 1978, Bull & Ivie 1980, Evangelista Junior *et al.* 2002, Fonseca *et al.* 2015).

Desta forma, o presente trabalho objetivou estudar o impacto dos IGRs lufenurom, piriproxirem e metoxifenoazida sobre a sobrevivência e reprodução do bicudo-do-algodoeiro sob a

hipótese de que a contaminação de adultos machos ou fêmeas da praga resulta em redução do desempenho reprodutivo.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico e Ecologia de Insetos e em casas de vegetação do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Campus Recife, PE, utilizando plantas de algodão da variedade BRS Aroeira.

Obtenção dos Insetos. Adultos do bicudo-do-algodoeiro foram obtidos a partir de coletas periódicas de botões florais contendo larvas e pupas coletados em lavoura cultivada no distrito de Algodão do Manso, município de Frei Miguelinho, PE (coordenadas 07°56'23" S e 35°54'44" O). O material coletado foi acondicionado em bandejas plásticas, as quais eram mantidas no interior de gaiolas de acrílico transparente (30 cm largura x 45 cm altura x 50 cm comprimento) até a emergência.

Os adultos com menos de 24h de emergidos foram separados por sexo e mantidos isolados até completarem seis dias de idade para obter plena maturação sexual. Durante este período, os adultos foram alimentados com botões florais e folhas cotiledonares de algodão da variedade BRS Aroeira mais uma pasta de levedura e mel (50%:50%) como complemento alimentar. A separação dos machos e fêmeas foi realizada a partir da observação do oitavo segmento do abdômen em estereomicroscópico e empregado a descrição feita em Agee (1964) e Sappington & Spurgeon (2000).

Toxicidade de Inseticidas Reguladores de Crescimento a Adultos do Bicudo-do-Algodoeiro.

Os inseticidas lufenurom (Match[®] 50 EC, 800 mL/ha \approx 0,27 g i.a./L, Syngenta SA., São Paulo-SP, Brasil), metoxifenoizida (Intrepid[®] 240 SC, 625 mL/ha \approx 1 g i.a./L, Dow AgroSciences Industrial

Ltda, São Paulo-SP, Brasil) e piriproxifem (Tiger[®] 100 EC, 500 mL/ha \approx 0,34 g i.a./L, Sumitomo Chemical do Brasil Representações Ltda, São Paulo-SP, Brasil) foram empregados nas doses recomendadas para *Chloridea (Heliothis) virescens* F. e *Bemisia tabaci* Gen. (AGROFIT 2017). O volume de calda considerado para todos os inseticidas e testemunha foi 150L/ha mais o surfactante Will-Fix[®] (Charmon Destyl Industria Química Ltda, Campinas, SP, Brasil) a 0,01% que, sem inseticida, serviu como tratamento controle.

Dois grupos de machos e fêmeas previamente acasalados (i) ou não (ii), foram expostos ao contanto com o resíduo seco dos inseticidas. Para tanto, discos foliares e algodoeiro, bem como ponteiros e botões florais foram tratados mediante imersão nas caldas inseticidas seguindo o protocolo do IRAC no. 7 (IRAC 2014). Em seguida, o material vegetal foi deixado para evaporar o excesso de calda por ~2h, em condições de laboratório. Posteriormente, os discos de folhas tratados e não tratados, junto aos botões sem as brácteas, foram transferidos para placas de Petri (90 mm diâmetro x 9 mm altura) forradas com papel filtro onde os insetos foram confinados, empregando dez repetições por inseticida e status de acasalamento. A mortalidade foi avaliada 48h após a liberação dos insetos. Sendo os dados submetidos à análise de variância considerando delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (inseticidas como tratamento e status de acasalamento como fator). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o Proc GLM do SAS (SAS Institute 2001).

Influência de Inseticidas Reguladores de Crescimento de Insetos na Reprodução do Bicudo-do-Algodoeiro. Dois bioensais foram conduzidos para estudar o efeito dos inseticidas na reprodução do bicudo-do-algodoeiro: o primeiro consistiu da exposição antes da cópula, e no segundo na exposição após a cópula.

O primeiro bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e em esquema fatorial com quatro fatores principais (três inseticidas e testemunha) e dois fatores

secundários representados pelo status de acasalamento, totalizando oito tratamentos com 20 repetições cada. O status de acasalamento consistiu de adultos virgens com seis dias de idade (i) e adultos já acasalados (ii). O tratamento de discos foliares, botões florais e ponteiros do algodoeiro, bem como a exposição dos insetos ao resíduo seco dos inseticidas foram realizados como descrito anteriormente. Grupos de cinco machos ou fêmeas foram confinados separadamente por 48h com material vegetal contaminado ou não. Após este período, os insetos foram pareados por mais 48h para garantir a ocorrência de cópula. Para a distinção dos adultos, os machos foram marcados no élitro com tinta branca atóxica (Maripel[®], Diadema, SP). Após a cópula, as fêmeas foram confinadas em plantas de algodoeiro, na proporção de duas fêmeas por planta, para monitorar a oviposição e viabilidade de ovos, enquanto os machos foram descartados para evitar apenas injúrias de alimentação nos botões florais.

O segundo bioensaio foi conduzido também em delineamento inteiramente casualizado com quatro fatores principais (inseticidas e testemunha) e dois fatores secundários (status de acasalamento). Para tanto, machos virgens (seis dias de idade) foram marcados no dorso conforme descrito anteriormente e pareados com fêmeas também virgens (seis dias de idade) durante 48h. Após a cópula, as fêmeas foram mantidas por 48h com o material vegetal contaminado ou não. Em seguida as fêmeas contaminadas ou não, foram confinadas em plantas de algodão no pico de produção de botões florais e maçãs pequenas na proporção de duas fêmeas por planta. Essas plantas foram cultivadas em vasos de 10 L de volume e mantidas em gaiolas cilíndricas de 90 cm de comprimento e 40 cm de diâmetro, sem nenhum tratamento inseticida.

As plantas que hospedaram as fêmeas contaminadas com os respectivos inseticidas antes ou depois da cópula foram monitoradas por 10 dias e avaliadas em intervalos de cinco dias quanto à mortalidade, bem como para coleta de estruturas reprodutivas caídas aos 5, 10 e 15 dias. As estruturas caídas foram encaminhadas ao laboratório, onde se contabilizou o número total de

estruturas reprodutivas coletadas, número total de estruturas atacadas (alimentação e oviposição), número total de oviposições e número de larvas eclodidas por tratamento. Assim, o experimento foi analisado considerando o delineamento proposto com quatro tratamentos (três inseticidas e testemunha) e dois fatores (fêmeas expostas antes e após a cópula). Os dados de oviposição e viabilidade de ovos foram transformados em $\text{Log}(x)$ e arco seno da raiz $(x/100)$, respectivamente. Em seguida, eles foram submetidos à análise de variância em esquema fatorial e as médias separadas pelo teste de Tukey HSD ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o Proc GLM do SAS (SAS Institute 2001).

Efeito do Lufenurom na Reprodução em Função do Sexo. O lufenurom foi o único inseticida capaz de afetar significativamente a viabilidade de ovos do bicudo-do-algodoeiro. Assim, este foi mantido nos experimentos subsequentes. Dessa maneira, machos e fêmeas virgens com seis dias de idade foram expostos separadamente à alimentação e contato em botões florais, folhas e ponteiros tratados com lufenurom, conforme descrito no experimento anterior. Após a exposição, os insetos contaminados ou não foram pareados formando quatro tratamentos: machos contaminados com fêmeas não contaminadas (i); fêmeas contaminadas com machos não contaminados (ii); machos e fêmeas contaminados (iii); e machos e fêmeas não contaminados (iv). Assim, o experimento constou de um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e 10 repetições cada. Os casais foram mantidos em placas de Petri de 90 mm x 9 mm (altura e diâmetro) por um período de 48h para a realização de cópula, onde receberam botões florais e ponteiros de algodoeiro sem inseticida como alimento.

Após o período de cópula, as fêmeas foram confinadas em gaiolas, contendo plantas de algodão no pico de produção de botões florais. Sendo o monitoramento da mortalidade das fêmeas, a coleta de estruturas reprodutivas caídas, parâmetros avaliados e análise dos dados, realizados conforme descrito anteriormente.

Efeito Residual do Lufenurom na Inviabilização dos Ovos do Bicudo-do-Algodoeiro.

Baseado nos experimentos anteriores, um novo bioensaio foi estabelecido para determinar por quanto tempo o lufenurom ocasiona inviabilização de ovos. Assim, machos e fêmeas virgens com seis dias de idade foram expostos separadamente ao lufenurom mediante alimentação e contato em botões florais, folhas e ponteiros tratados, conforme descrito anteriormente.

Após o período de cópula, as fêmeas oriundas da exposição antes ou após a cópula foram confinadas em plantas de algodoeiro, contendo botões florais e maçãs jovens. As fêmeas foram mantidas sob confinamento durante 32 dias sendo que a cada oito dias, foi realizada a transferência das fêmeas para novas plantas para garantir contínua disponibilidade de estruturas intactas para oviposição. Também, a cada oito dias as estruturas atacadas foram recolhidas e levadas ao laboratório, onde foi contabilizado o número total de estruturas reprodutivas coletadas por planta, número total de oviposições e o número de larvas eclodidas por tratamento. Para a verificação do número de larvas eclodidas, as estruturas foram mantidas a 25 ± 2 °C e 65% UR por um período de cinco dias quando então foram dissecadas, com auxílio de um estereomicroscópio 5-40X de aumento, para a verificação da eclosão de larvas. Quando eram encontrados ovos estes foram armazenados em placas de Petri sob papel filtro umedecido e avaliados quanto a eclosão por um período de cinco dias como proposto por Lopez *et al.* (2009). Os dados de viabilidade foram transformados por arco seno da raiz ($x/100$), e posteriormente submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo através da diretiva *repeated* no Proc GLM, e as médias comparadas pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o Proc TTESTE do SAS (SAS Institute 2001).

Resultados

Toxicidade de Inseticidas Reguladores de Crescimento a Adultos de Bicudo-do-Algodoeiro.

A exposição de machos ou fêmeas, antes ou após a cópula, aos inseticidas lufenurom, metoxifenoazida e piriproxifem não causaram mortalidade significativa quando comparados com os insetos da testemunha, sem exposição a esses inseticidas ($F_{3, 48} = 1,15$; $P = 0,2033$).

Influência de Inseticidas Reguladores de Crescimento de Insetos na Reprodução do Bicudo-

do-Algodoeiro. Fêmeas expostas aos inseticidas (contato e ingestão) antes ou após a cópula, mantidos nas mesmas condições, não tiveram sua oviposição afetada pelos inseticidas ($F_{3, 151} = 1,71$; $P = 0,1618$), nem pelas condições de exposição (antes ou após a cópula) ($F_{1, 151} = 1,49$; $P = 0,2238$), quando comparados com a testemunha. Também, não houve interação de tratamento e condição de exposição ($P > 0,05$) (Tabela 1).

A viabilidade de ovos não foi afetada pela condição de exposição (contato com inseticida antes ou após a cópula) ($F_{1, 145} = 0,29$; $P = 0,5920$). Por outro lado, houve influência do tratamento inseticida sobre a porcentagem de larvas eclodidas ($F_{3, 145} = 40,88$ $P < 0,0001$). Entre os tratamentos, apenas, o inseticida lufenurom diferiu da testemunha, causando uma redução média de 86,9% na viabilidade dos ovos. A metoxifenoazida e o piriproxifem ocasionaram uma redução média de 10,9% e 15,9%, respectivamente, não diferindo da testemunha (Tabela 1).

Efeito do Lufenurom na Reprodução em Função do Sexo.

A exposição ao lufenurom não alterou significativamente a capacidade de oviposição das fêmeas, independentemente se estas tinham ou não entrado em contato direto com o inseticida ou copulado com machos contaminados ou não ($F_{3, 32} = 1,45$; $P = 0,2479$). No entanto, a viabilidade dos ovos foi significativamente menor nas condições em que fêmeas tiveram contato direto com o inseticida, mesmo quando essas copularam com machos não tratados ($F_{3, 35} = 36,45$; $P < 0,0001$) (Fig. 2). Em contrapartida,

fêmeas não contaminadas copuladas com machos contaminados não tiveram redução na viabilidade dos ovos.

Efeito Residual do Lufenurom na Inviabilização dos Ovos do Bicudo-do-Algodoeiro. A exposição ao lufenurom não alterou significativamente a capacidade de oviposição das fêmeas, independentemente do tempo decorrido após o tratamento ($F_{1, 33} = 1,03$; $P = 0,3187$) (Fig. 2A). Mas, novamente, a viabilidade dos ovos de fêmeas tratadas foi significativamente inferior comparado com as fêmeas sem contaminação em todos os tempos avaliados ($F_{3, 30} = 8,11$; $P < 0,0004$) (Fig. 2B). No entanto, ocorreu um aumento na viabilidade dos ovos de fêmeas expostas ao lufenurom, demonstrando uma recuperação na viabilidade de 36%, entre a primeira e a última avaliação realizadas ao 8 e 32 dias após confinamento, respectivamente ($F_{3, 68} = 7,50$; $P < 0,0002$) (Fig. 2B).

Discussão

A exposição de adultos do bicudo-do-algodoeiro a três inseticidas reguladores de crescimento de insetos, antes ou após a primeira cópula, revela que esses não possuem efeito letal e, que apenas, o lufenurom ocasionou efeito subletal. Fêmeas contaminadas com lufenurom, independente do status de acasalamento antes ou após a cópula, apresentaram redução na viabilidade dos ovos, que persistiu até 32 dias após a exposição. A ausência de efeito letal sobre os adultos do bicudo-do-algodoeiro, mas com efeito sobre a reprodução é, de certa forma, um resultado comum entre os inseticidas reguladores de crescimento, o que corrobora com a hipótese proposta para a ação dos IGRs testados contra o bicudo-do-algodoeiro. Contudo, esse efeito subletal somente foi observado para o lufenurom, contradizendo em parte o esperado com metoxifenoazida que é capaz de causar redução de fecundidade e viabilidade de ovos em *Platynota idaeusalis* (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae) (Myers & Hull 2003) e piriproxifem que pode

esterilizar machos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) quando as pupas são tratadas (Oliveira 2004) ou inibir a metamorfose de *Tenuisvalvae notata* (Muls.) (Coleoptera: Coccinellidae) e causar esterilização temporária de fêmeas (Barbosa *et al.* 2018).

Contudo, em geral, os IGRs atuam na regulação da metamorfose ou interferem na reprodução causando anormalidades morfogênicas, que reduzem o potencial reprodutivo, o que os tornam inócuos mediante toxicidade aguda para insetos adultos (Riddiford & Truman 1978), Os modos de ação e os sítios alvo no adulto são diferentes para os três IGRs testados. Além disso, ao entrar no organismo, o inseticida é submetido a complexos processos metabólicos durante o transporte até os receptores, podendo ser rapidamente excretado. Por exemplo, 90% de piriproxifem é eliminado nas excretas de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) 48h após o tratamento (Medina *et al.*, 2002). No caso do metoxifenoazida, pode ter ocorrido a falta de compatibilidade entre o inseticida e os receptores do hormônio ecdisona presentes nos adultos de *A. grandis*, pois a estrutura e as propriedades bioquímicas dos receptores ecdisteroides podem diferir entre as fases de larva e adulta (Bidmon & Sliter 1990, Carlson 2000).

O efeito dos IGRs sobre a reprodução de insetos pode ocorrer através da esterilização das fêmeas, reduzindo a fecundidade (Dhadialla *et al.* 1998), esterilização dos machos (Carpenter & Chandler 1994), ou inviabilização dos ovos produzidos, apesar de serem fertilizados (Evangelista Junior *et al.* 2002). Neste caso, tanto os machos como as fêmeas adultas não são afetados, mas sim o desenvolvimento embrionário. Nenhum dos inseticidas testados interferiu na ovogênese, pois a fecundidade das fêmeas não foi afetada, independentemente se estas foram expostas antes ou após a cópula. Por outro lado, ovos depositados pelas fêmeas expostas ao lufenurom antes ou após a cópula foram inviabilizados, embora tenha sido observada a formação do embrião. Isto corrobora com os resultados de estudos anteriores obtidos para *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), em que os embriões se desenvolvem, mas não eclodem por falta

de pressão hidrostática do corpo, quando as mariposas são tratadas com dieta contendo lufenurom (Pratissoli *et al.* 2004). O mesmo foi observado em *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) (Ávila & Nakano 1999). Desta forma, fêmeas do bicudo-do-algodoeiro expostas ao lufenurom não foram esterilizadas, mas o produto foi transferido transovarianamente para o embrião, afetando, o seu desenvolvimento, e impedindo a eclosão da larva.

A morte de embriões dentro do ovo é um efeito conhecido de reguladores de síntese de quitina, devido essas substâncias interferirem na deposição cuticular, resultando em uma ausência visível da estrutura lamelar da endocutícula como relatado para *Aubeonymus mariaefranciscae* (Roudier) (Coleoptera: Curculionidae) (Perez-Farinos *et al.* 1998). A estrutura lamelar é formada por uma deposição regular de camadas de proteína de quitina. A falta desta pode resultar em alteração na deposição acarretando a fraqueza mecânica e posterior morte do embrião (Perez-Farinos *et al.* 1998). Resultado também encontrado com *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Lucilia cuprina* (Wied.) (Diptera: Calliphoridae) (Soltani *et al.* 1984, Binnington 1985).

A exposição de fêmeas do bicudo-do-algodoeiro ao lufenurom através de contato e ingestão desorganiza o epitélio de células foliculares nos ovários (Costa *et al.* 2017), mostrando que o inseticida estava presente no sistema reprodutor da fêmea e, provavelmente, pode ser passado para os ovos. Fato corroborado com os resultados obtidos para outro inibidor de síntese de quitina, diflubenzurom, em que seis dias após o tratamento foi detectado 8,5 ppm do inseticida nos ovos (Wright *et al.* 1980, Wright & Roberson 1981), enquanto que apenas 1,0 ppm foi necessário para impedir o desenvolvimento embrionário (Bull & Ivie 1980). Como consequência, ocorre a redução da viabilidade dos ovos quando as fêmeas entram em contato direto com o inseticida. Isto ocorre somente após o contato com a fêmea e parece ser inócuo quanto ao impedimento de espermatogênese em *A. grandis* (Costa *et al.* 2017), similar em *T. notta* (Barbosa

et al. 2018). Bem como, pode ocorrer que a quantidade de inseticida transferida durante a cópula não ser suficiente para resultar em ação (Moore *et al.* 1978).

Por fim, durante o período de avaliação (32 dias) houve aumento gradual da viabilidade dos ovos de fêmeas tratadas com o lufenurom. O mesmo foi observado em fêmeas do percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) (Evangelista Junior *et al.* 2002), possivelmente relacionada a quantidade do produto remanescente. Bull & Ive (1980) determinaram que aos 10 dias após tratamento, foi detectado 2,24 ppm de diflubenzurom na hemolinfa de fêmeas do bicudo-do-algodoeiro e viabilidade de ovos inferior a 20% e 0,4 ppm de inseticida aos 22 dias após tratamento com viabilidade de 80%. Os mesmos autores demonstraram correlação entre tempo após exposição e quantidade de inseticida presente com o retorno da viabilidade dos ovos. Contudo, no trabalho atual não houve recuperação total da fertilidade, quando comparadas com a testemunha. A possível explicação seria o fato de reguladores de síntese de quitina apresentar lenta absorção por via cuticular (Retnakaran & Wright 1987). No entanto, a penetração é contínua mesmo após o inseto deixar a superfície tratada, o que aliado a uma baixa taxa de excreção, proporciona um efeito mais duradouro do inseticida (Bull & Ive 1980).

A contaminação por via oral das fêmeas sugere que suficiente quantidade de inseticida entre rapidamente no organismo, reduzindo a viabilidade dos ovos, logo na primeira semana após tratamento, mas que também se mantém por longo período após exposição. Resultados semelhantes foram observados em adultos de *Delphastus catalinae* (Horn) (Coleoptera: Coccinellidae) que ao se alimentarem com ovos de mosca branca tratados com buprofezin (regulador de síntese de quitina) reuduziram drasticamente a viabilidade dos ovos e isso não foi revertido quando os mesmos foram alimentados com ovos não tratados (Liu & Stansly 2004). Desta forma, este efeito prolongado do lufenurom sobre a viabilidade de ovos do bicudo-do-

algodoeiro poderá resultar em impacto significativo no crescimento populacional da praga, uma vez que, a média de vida em campo não ultrapassa os 42 dias (Alvarez 1990).

Em conclusão, dentre os IGRs utilizados apenas o regulador de síntese de quitina lufenuron apresentou efeito sobre a reprodução de *A. grandis*. Além disso, a ação transovariana só foi observada quando a fêmea entra em contato direto com o inseticida. Os inseticidas piriproxifem e metoxifenoazida não promoveram efeito letal e subletal para o bicudo-do-algodoeiro.

Agradecimentos

A CAPES pela concessão de bolsa de Doutorado ao primeiro autor. Ao programa PROCAD CAPES NF 3027/2014 por permitir a mobilidade discente e custeio.

Literatura Citada

- Agee, H.R. 1964.** Characters for determination of sex of the boll weevil. J. Econ. Entomol. 57: 500-501.
- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) 2017.** Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acessado em 20/05/2017.
- Alvarez, G.A. 1990.** Bases técnicas para el cultivo del algodono em Colômbia. Guadalupe, Bogotá, 46p.
- Ávila, C.J. & O. Nakano. 1999.** Efeito do Regulador de Crescimento Lufenuron na Reprodução de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae). An. Soc. Entomol. Brasil 28: 293-299.
- Barbosa, P.R.R., M.D. Oliveira, E.B. Barros, J.P. Michaud & J.B. Torres. 2018.** Differential impacts of six insecticides on a mealybug and its coccinellid predator. Ecotox. Environ. Saf. 147: 963-971.
- Barros, E.M., J.N. Crosariol, E.A. Souza & O. Martins. 2015.** Eficiência de diferentes inseticidas no controle do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro no estado do Mato Grosso. In X Congresso Brasileiro do Algodão. Foz do Iguaçu, RS. CD-Room.

- Bélot, J. L., E. M. Barros & J. E. Miranda. 2016.** Riscos e oportunidades: O bicudo-do-algodoeiro, p. 77-118. In AMPA (eds.), Desafios do cerrado. Cuiabá, Associação Mato-grossense dos Produtores de Algodão, 283p.
- Bidmon H. & T. J. Sliter. 1990.** The ecdysteroid receptor. *Invert. Reprod. Dev.* 18:13–27.
- Binnington K. C. 1985.** Ultrastructural changes in the cuticle of the sheep blowfly, *Lucilia cuprina*, induced by certain insecticides and biological inhibitors. *Tissue Cell* 17: 131-140.
- Bull, D. L. & G. W. Ivie. 1980.** Activity and fate of diflubenzuron and certain derivatives in the boll weevil. *Pestic. Biochem. Physiol.* 13:41-52.
- Busoli, A.C., J.J. Soares & F.M. Lara. 1994.** O bicudo do algodoeiro e seu manejo. Jaboticabal, Funep, 32p.
- Carlson G. R. 2000.** Tebufenozide: a novel caterpillar control agent with unusually high target selectivity, p 8-17. In P.T. Anastas, L.G. Heine & T.C. Williamson (eds.), Green chemical synthesis and processes. Washington DC, American Chemical Society, 767p.
- Carpenter J. E. & L. D. Chandler. 1994.** Effects of sublethal doses of two insect growth regulators on *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) reproduction. *J. Entomol. Sci.* 29: 429-435
- Cleveland J., T. J. Montville, I. F. Nies, & M. I. Chikindas. 2001.** Bacteriocins: Safe natural antimicrobials or food preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 71: 1-20.
- Costa, H.N., F.M. Cunha, G. S. Cruz, C. G. D'Assunção, G. G. Rolim, M. E. G. Barros, M. O. Breda, A. A. C. Teixeira, & V. Teixeira-Wanderley. 2017.** Lufenuron impact upon *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) midgut and its reflection in gametogenesis. *Pestic. Biochem. Physiol.* 137: 71-80.
- Degrande, P.E. 1998.** Guia prático de controle de pragas do algodoeiro. Dourados, UFMS, 60p.
- Dhadialla, T.S., G.R. Carlson & D.P. LE. 1988.** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu. Rev. Entomol.* 43: 545-569.
- Evangelista Junior, W.S., J. B. Torres & C.S.A. Silva-Torres. 2002.** Toxicidade de lufenuron para *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). *Neotrop. Entomol.* 31: 319-326.
- Fonseca, A.P.P., E. J. Marques, J.B. Torres, L.M. Silva & H.A.A. Siqueira. 2015.** Lethal and sublethal effects of lufenuron on sugarcane borer *Diatraea flavipennella* and its parasitoid *Cotesia flavipes*. *Ecotoxicology* 24:1396-1407.
- Grenier, S. & A.M. Grenier, 1993.** Fenoxycarb, a fairly new insect growth regulator: a review of its effects on insects. *Ann. Appl. Biol.* 122: 369-403.

- IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) 2014.** Disponível em: <http://www.irac-online.org/methods/leaf-eating-lepidoptera-coleoptera-larvae/>. Acessado em: 20/05/2017.
- Liu, T.X. & P.A. Stansly. 2004.** Lethal and sublethal effects of two insect growth regulators on adult *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae), a predator of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). *Biol. Control* 30: 298-305.
- Lopez, J. D., M. A. Latheef & W. C. Hoffmann. 2009.** Effect of hexaflumuron on gustation and reproduction of adult boll weevil. *Southwest. Entomol.* 34: 31-41.
- Mansur, J.F., J. Figueira-Mansur, A.M. Santos, H. Santos-Junior, I.B. Ramos, M.N. Medeiros, E.A. Machado, C.R. Kaiser, S. Muthukrisnan, H. Masuda, A.M.H. Vasconcellos, A.C.A. Melo & M.F. Moreira. 2010.** The effect of lufenuron, a chitin synthesis inhibitor, on oogenesis of *Rhodnius prolixus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 98: 59 – 67.
- Medina, P., G. Smaghe, F. Budia, P. del Estal, L. Tirry & E. Viñuela. 2002.** Significance of penetration, excretion, and transovarial uptake to toxicity of three insect growth regulators in predatory lacewing adults. *Arch. Insect. Biochem.* 51: 91-101.
- Moore, R.F., Jr., R.A. Leopold & H.M. Taft. 1978.** Boll weevils: Mechanism of transfer of diflubenzuron from male to female. *J. Econ. Entomol.* 71: 587-590.
- Myers, C.T. & L.A. Hull. 2003.** Insect growth regulator impact on fecundity and fertility of adult tufted apple bud moth, *Platynota idaeusalis* Walker. *J. Entomol. Sci.* 38: 420-430.
- Oliveira, G.G.F.B. de. 2004.** Esterilização química da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrich, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). Dissertação de Mestrado, Esalq, Piracicaba, 46p.
- Perez-Farinos G, Smaghe G, Marco V, Tirry L, Castañera P. 1998.** Effects of topical application of hexaflumuron on adult sugar beet weevil, *Aubeonymus mariaefranciscas*, on embryonic development: pharmacokinetics in adults and embryos. *Pestic. Biochem. Physiol.* 61: 169-1820.
- Pratissoli, D., R.T. Thuler, F.F. Pereira, E.F. Reis & A.T. Ferreira. 2004.** Ação transovariana de lufenuron (50g/l) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ciênc. Agrotec.* 28: 9-14.
- Retnakaran A, J. E. Wright. 1987.** Control of insect pests with benzoylphenyl ureas, p. 205-282. In J.E. Wright & A. Retnakaran (eds.), *Chitin and benzoylphenyl ureas*. Amsterdam, Springer, 303p.
- Riddiford, L.M. & J.W. Truman. 1978.** Biochemistry of insect hormones and insect growth regulators, p. 307-357. In M. Rockstein (ed.), *Biochemistry of insects*. New York, Academic Press, 648p.
- Santos, R.L., R.C.S. Neves, F. Colares & J.B. Torres. 2013.** Parasitoides do bicudo *Anthonomus grandis* e predadores residentes em algodoeiro pulverizado com caulim. *Semina: Ciênc. Agr.* 34: 93-8.

- Sappington, T.W. & D.W. Spurgeon. 2000.** Preferred technique for adult sex determination of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93: 610-615.
- SAS Institute. 2001.** SAS/STAT User's Guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Schroeder, W.J. & R.A. Sutton. 1978.** *Diaprepes abbreviatus*: suppression of reproductive potential on citrus with an insect regulator plus spray oil. *J. Econ. Entomol.* 71: 69-70.
- Showler, A. T. 2006.** Boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) damage to cotton bolls under standard and proactive spraying. *J. Econ. Entomol.* 99: 1251-1257.
- Silvie, P.J., D. Thomazoni, M.F. Soria, P.E. Saran & J.L. Bélot. 2013.** Pragas e seus danos em algodoeiro. Primavera do Leste, Instituto Mato-grossense do Algodão, 184p.
- Soltani N., M. T. Besson, and J. Delachambre. 1984.** Effects of diflubenzuron on the pupal-adult development of *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae): Growth and development, cuticle secretion, epidermal cell density, and DNA synthesis, *Pestic. Biochem. Physiol.* 21: 256.
- Soria, M.F., D. Thomazoni, B.B. Batista, P.E. Degrande. 2013.** Controle químico do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) com inseticidas alternativos ao endossulfan, organofosforados e piretroides SC. In IX Congresso Brasileiro de Algodão, Brasília, DF. CD-Room.
- Wright, J.E. & J. Roberson. 1981.** Laboratory evaluation of the boll weevil sterility method. *J. Econ. Entomol.* 74: 696-697.
- Wright, J.E., R. Moore, J. McCoy, G. Wiygul & J. Haynes. 1980.** Comparison of three sterilization procedures on the quality of the male boll weevil. *J. Econ. Entomol.* 73: 493-496.

Tabela 1. Fecundidade e viabilidade de ovos de fêmeas de *Anthonomus grandis* expostas a três inseticidas reguladores de crescimento, antes ou após a cópula, durante um período de 10 dias. Temp.: $25 \pm 0,2$ °C; U.R.: $65 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12h.

Tratamentos ²	Antes da cópula ¹		Após a cópula ¹	
	Fecundidade	Viabilidade (%)	Fecundidade	Viabilidade (%)
Testemunha	18,1 ± 2,81Aa	69,3 ± 7,22Aa	18,0 ± 2,81Aa	69,3 ± 7,22Aa
Metoxifenoazida	18,2 ± 5,50Aa	63,6 ± 6,45Aa	12,7 ± 2,59Aa	59,8 ± 6,80Aa
Piriproxifem	17,9 ± 4,86Aa	59,9 ± 6,84Aa	11,2 ± 2,53Aa	56,6 ± 4,85Aa
Lufenurom	15,8 ± 2,14Aa	10,6 ± 4,46Ab	11,1 ± 1,97Aa	7,4 ± 3,54Ab

¹Não houve influência da condição antes e após a cópula nas características avaliadas ($P > 0,05$).

²Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna e minúscula na linha, não diferem pelo teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade.

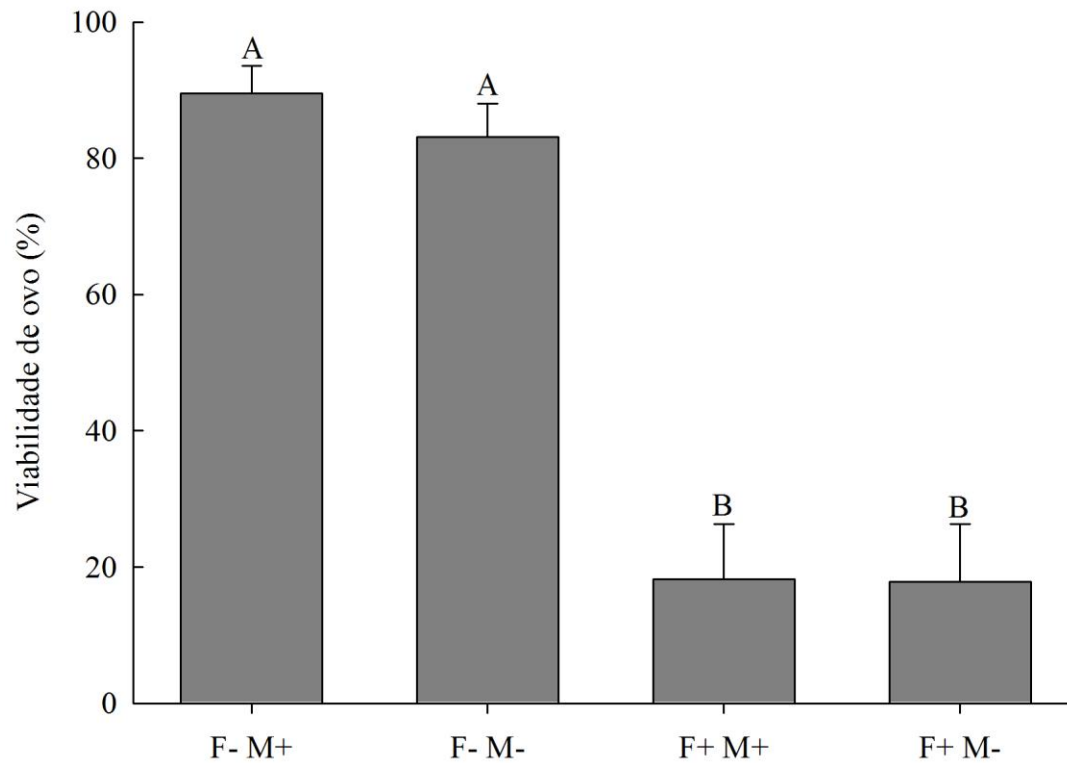


Figura 1. Viabilidade de ovos de *Anthonomus grandis* oriundos de indivíduos com pareamento controlado empregando machos ou fêmeas expostas (+) ou não (-) ao resíduo seco do lufenurum durante 48h. Barras sobrepostas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade.

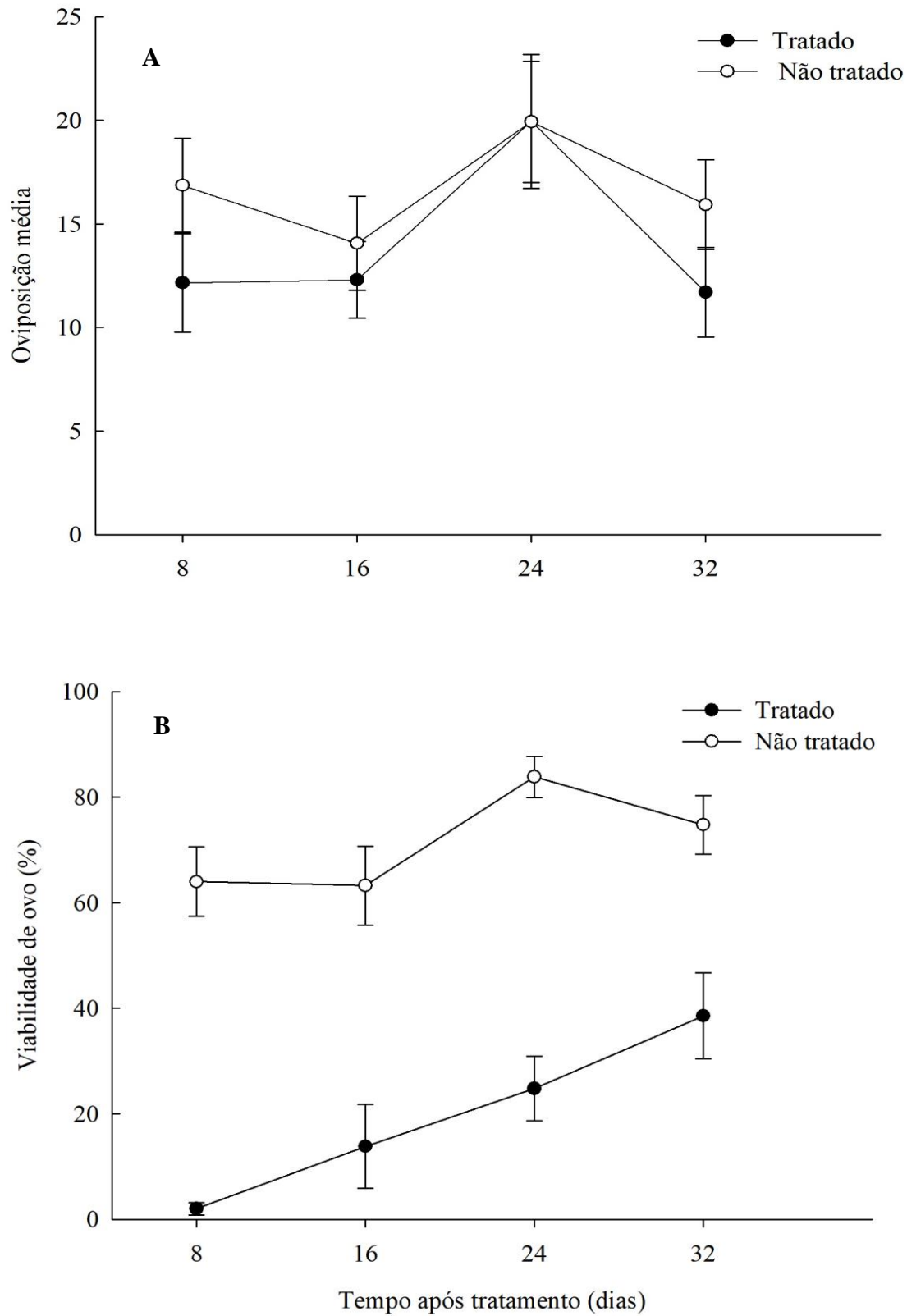


Figura 2. A, Fecundidade (ovos/fêmea) e, B, viabilidade de ovos do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, exposto ao resíduo seco do inseticida lufenurom.

CAPÍTULO 4

SUSCETIBILIDADE DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA: CURCULIONEDAE) A DUAS ESPINOSINAS¹

GUILHERME G. ROLIM

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

Rolim G.G. Suceptibilidade de *Anthonomus grandis* (Boh) (Coleoptera: Curculionidae) a duas espinosinas. A ser submetido.

RESUMO – O controle do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera Curculionidae), é amplamente dependente do uso de inseticidas. Apesar de vários inseticidas registrados para este fim, poucos oferecem controle satisfatório, e os mais efetivos são de amplo espectro. Alternativamente, as espinosinas tornaram-se promissoras no controle de pragas-chave do algodoeiro e são consideradas comparativamente de baixo impacto para inimigos naturais. Assim, a suscetibilidade de nove populações do bicudo-do-algodoeiro ao espinosade e espinetoram foi determinada mediante exposição ao resíduo em botões e folhas de algodão. Também, a mortalidade de adultos a exposição tópica e residual de espinosade e espinetoram, em comparação ao padrão malationa, foi estudada confinando adultos em plantas de algodão. As CL_{50S} e CL_{90S} variaram de 8,62 a 32,45 e 49,86 a 281,70 mg i.a./L para espinosade, e de 2,17 a 15,36 e 8,58 a 69,36 mg i.a./L para espinetoram. O confinamento de adultos nas partes superior e inferior de plantas de algodão e pulverizadas com as espinosinas e a malationa, em dosagens recomendadas, resultou em mortalidade >80% na parte superior e <45% na parte inferior para todos os inseticidas. Quanto a exposição após aplicação, as espinosinas causaram mortalidade >80% até 196h, enquanto a malationa mostrou redução de mortalidade a partir de 48h e, apenas, 10% de mortalidade após 196h. Assim, pode-se inferir que as espinosinas são tóxicas para o bicudo-do-algodoeiro e possui maior período residual comparado a malationa, desta forma causando maior mortalidade ao longo do tempo.

PALAVRAS-CHAVE: Espinosade, espinetoram, linha base de suscetibilidade, controle residual

SUCEPTIBILITY OF BOLL WEEVIL *Anthonomus grandis* BOH. (COLEOPTERA:
CURCULIONEDAE) TO TWO SPINOSYNS

ABSTRACT – The control of boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera Curculionidae), relies on insecticide and despite of various insecticides registered to spray cotton fields, only few offers satisfactory control, and the most of them are of broad-spectrum of action. Alternatively, the spinosyns have been recommended against key cotton pests other than boll weevil, and are considered comparatively of low impact to natural enemies. Thus, the susceptibility of nine populations of boll weevil to spinosad and spinetoram was determined through dried residue on squares and cotton leaves. Further, control efficacy with spinosyns in comparison to malathion was determined caging adults on two positions within-plant canopy and caging adults on treated cotton leaves after different intervals after spraying. Boll weevil susceptibility varied across the nine populations and tested spinosyns. The lethal concentrations (LC_{50s} and LC_{90s}) varied from 8.62 to 32.25 and 49.86 to 281.70 mg a.i./L for spinosad, and from 2.17 to 15.36 and 8.58 to 69.36 mg a.i./L for spinetoram. The location of boll weevil within-plant canopy affect the insecticide efficacy with higher mortality when caged on upper (>85%) than on bottom part of the plant (<45%) across all three insecticides. Further, dried residues of both spinosyns resulted in adult mortality >80% until the end of the evaluation period (192h); while, malathion caused only 10% at this last evaluation time (192h). Thus, we can conclude that both spinosyns are toxic to boll weevil, promoted similar and prolonged adult mortality using recommended field rates to spray cotton fields compared to the standard malathion.

KEY WORDS: Spinosad, spinetoram, baseline susceptibility, residual control

Introdução

O algodoeiro é uma planta anual de ciclo relativamente longo (i.e., ~150 dias), cultivado principalmente em extensas lavouras sob clima subtropical e tropical. Essas condições favorecem o desenvolvimento e multiplicação de diversas espécies de pragas, o que requer, quando necessário, a adoção de medidas de controle. Entre as pragas-chave do algodoeiro, o bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) destaca-se como a principal no Brasil, e que determina as principais decisões de manejo de pragas da cultura. Apesar de ser uma praga específica do algodoeiro, apresenta grande dificuldade de controle devido ao desenvolvimento no interior das estruturas reprodutivas, que além de ganhar parcial proteção, ocasionam a queda dos botões e má formação das maçãs atacadas. Assim, os adultos tornam-se o principal alvo do controle químico. No entanto, para que haja controle efetivo do bicudo-do-algodoeiro, muitas vezes são necessárias aplicações sequenciais, que podem resultar de sete a 26 aplicações durante uma safra, como ocorrido na safra 2014/2015, em áreas do estado do Mato Grosso (Miranda 2015), maior estado produtor de algodão no Brasil. Assim, os custos e perdas devido às infestações do bicudo-do-algodoeiro em lavouras do Cerrado no Brasil foram de aproximadamente 389 dólares/ha na safra 2015/2016 (Belot *et al.* 2016).

Os inseticidas mais utilizados no controle do bicudo-do-algodoeiro são organofosforados (OF), piretroides (PI) e carbamatos (CB). De 23 ingredientes ativos registrados para a praga-chave, 11, 65 e 6 produtos comerciais são formulados com OF, PI e CB, respectivamente (AGROFIT 2018). Apesar do grande número de produtos registrados para o controle desta praga no Brasil, poucos deles oferecem controle satisfatório, e os mais efetivos são de largo espectro. O uso desses inseticidas de largo espectro provoca diversos problemas para o manejo de pragas no agroecossistema algodoeiro. Como por exemplo, surtos de pragas-chave e secundárias pela eliminação de inimigos naturais (Ruberson *et al.* 1994, Hagerty *et al.* 2005). Além disso, relatos

de baixa eficiência de formulações a base de piretroides, em campo e laboratório, somado ao curto período residual desses e dos organofosforados, requerem múltiplas aplicações ao longo da fenologia reprodutiva da planta (~30 a 100 dias), tornando o controle da praga altamente oneroso (Alves & Silva 2003, Soria *et al.* 2013, Barros *et al.* 2015, Crosariol Netto *et al.* 2017).

Diante da necessidade de frequentes pulverizações, a opção é fazer uso de inseticidas que possam suprimir a população do bicudo-do-algodoeiro, sem impactar negativamente a grande diversidade de inimigos naturais que ocorrem na cultura. Dentre os inseticidas registrados para uso em algodão, as espinosinas se destacam por demonstrarem eficácia para lepidópteros pragas-chave, tais como *Helicoverpa armigera* Hüb., *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Rafiee *et al.* 2008). Além de lepidópteros, as espinosinas tem demonstrado atividade para coleópteros e outros artrópodes (Tabela 1S).

As espinosinas possuem modo de ação único, agindo como ativador alostérico de receptores nicotínicos da acetilcolina (Salgado 1998, IRAC 2017). No manejo de pragas do algodoeiro, as espinosinas apresenta baixo risco de resistência cruzada entre os principais grupos químicos como OF, PI e CB usados no controle do bicudo-do-algodoeiro (Sparks *et al.* 2012). Além disso, as espinosinas apresentam baixa toxicidade para mamíferos e são consideradas relativamente de baixo impacto para inimigos naturais chaves no agroecossistema do algodoeiro (Schoonover & Larson 1995, Bret *et al.* 1997, Barros *et al.* 2018).

Apesar das características apontadas sobre o agroecossistema algodoeiro relativo às pragas e uso de inseticidas, bem como dos atributos das espinosinas, não há estudos e, conseqüentemente, registros de espinosinas para o controle do bicudo-do-algodoeiro. Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar a suscetibilidade de *A. grandis* as espinosinas espinosade e espinetoram, bem como fornecer informações sobre o potencial de resíduo de

controle comparado com malationa, padrão de utilização no controle desta praga, no algodoeiro. Assim, testamos a hipótese de que o bicudo-do-algodoeiro é suscetível às espinosinas.

Material e Métodos

Obtenção das Populações de *Anthonomus grandis*. Os bioensaios foram realizados com adultos do bicudo-do-algodoeiro oriundos de botões florais e maçãs atacados coletados em diferentes localidades (Tabela 1). As estruturas reprodutivas atacadas foram levadas para o laboratório, colocadas em bandejas plásticas e no interior de caixas de acrílico transparente (30x45x50cm) onde ocorreu a emergência dos adultos. A criação e os bioensaios foram realizados em condições de laboratório de $25 \pm 1,0$ °C, fotofase de 12h e umidade relativa entre 50 e 70%. Adultos recém emergidos eram transferidos no mesmo dia para potes plásticos transparentes de 500mL e alimentados com ponteiro e botões florais de algodoeiro. Os bioensaios foram realizados utilizando adultos com cinco a sete dias de idade.

Inseticidas. Os inseticidas espinosade (Tracer[®] 480 g i.a./L SC, Dow AgroScience Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil), espinetoram (Exalt[®] 120 g i.a./L SC, Dow AgroScience Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e malationa (Malathion[®] 1000 g i.a./L EC, Cheminova Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil), foram diluídos numa solução a base de espalhante adesivo 0,01% (Wil-Fix[®] 30 g i.a./L, Charmon Destyl Industria Química Ltda, Campinas, SP, Brasil).

Suscetibilidade de *Anthonomus grandis* a Espinosinas. Os bioensaios toxicológicos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado com no mínimo duas repetições por concentração, sendo cada repetição por concentração composta por 10 insetos resultando em um número final de insetos indicados nas tabelas de resultados. Cada população, foi submetida a testes preliminares para determinar concentrações que resultassem em mortalidade próximo a 0 e 100%. Uma vez determinados esses limiares, diluições seriadas (geralmente de fator 2) foram

realizadas para proceder os testes de concentração-mortalidade. Discos de folhas de algodão com ~8cm de diâmetro, ponteiros e botões florais de algodoeiro foram imersos nas diferentes concentrações de inseticidas por 10 segundos e deixados em temperatura ambiente para evaporar o excesso da calda. Em seguida, as folhas, ponteiros e botões florais foram colocadas em placas de Petri de vidro de 9cm de diâmetro, forradas com papel de filtro. A mortalidade dos insetos foi determinada após 48 horas de confinamento sobre o material vegetal tratado com inseticida ou não (testemunha). Após retirar o material vegetal remanescente e o papel de filtro, a placa de Petri contendo apenas os insetos foi colocada sobre uma chapa aquecedora (Fisatom mod.752A, Rio de Janeiro-RJ, Brasil) a temperatura de aproximadamente 35 °C para estimular a movimentação dos insetos, devido ao comportamento de tanatose apresentado pelos adultos quando manipulados. Os adultos foram considerados mortos quando não conseguiam mover ou não tinham coordenação motora para caminhar, por pelo menos duas vezes a extensão do seu corpo.

Os dados de mortalidade foram tabulados e corrigidos quando necessário pela mortalidade no tratamento testemunha (Abbott 1925). Em seguida, os resultados foram submetidos à análise de Probit (Finney 1971), utilizando o Proc Probit do SAS (SAS institute 2001) e calculadas as concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀). Razões de suscetibilidade e seus limites de confiança a 95% foram calculados segundo método descrito por Robertson *et al.* (2007), sendo a razão de toxicidade considerada significativa quando o intervalo de confiança não incluía o valor 1,0 (Robertson *et al.* 2007). Para cada inseticida, a população que apresentou a menor CL₅₀ foi utilizada como padrão de suscetibilidade em relação às demais.

Toxicidade Tópica de Espinosinas a *Anthonomus grandis*. Este estudo foi conduzido em condições de campo, empregando parcela de algodão da cultivar IMA7501 no campo experimental do Centro de difusão tecnológica do Instituto Mato-Grossense do Algodão, Rondonópolis, MT. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e em

esquema fatorial consistindo de quatro tratamentos (três inseticidas e testemunha) e dois fatores como sendo a posição na planta (superior e inferior) com oito repetições (gaiolas entomológicas) por tratamento.

Os tratamentos inseticidas consistiram da pulverização de plantas com espinosade na concentração de 72g i.a./ha (150mL da formulação comercial Tracer[®] 480 g i.a./L SC), espinetoram a 12g i.a./ha (150mL da formulação Exalt[®] 120 g i.a./L SC), malationa a 1000g i.a./ha (1000mL da formulação Malathion[®] 1000 g i.a./L EC) e água mais adjuvante como tratamento testemunha. O volume de calda utilizado para todos os inseticidas e testemunha foi 100L/ha, mais o surfactante Wil-Fix[®] a 0,01%. A pulverização foi realizada com o auxílio de pulverizador a CO₂ (Nevoa[®], Campinas-SP, Brasil) na pressão de 2,5 Bar utilizado com seis bico do tipo cone vazio em barra de 3m.

Os adultos do bicudo-do-algodoeiro da população Rondonópolis 1 foram acondicionados em gaiolas entomológicas (CBB, Sorocaba-SP, Brasil). Em cada gaiola foi confinado 10 insetos com 5 a 7 dias de idade sem distinção de sexo, totalizando 80 insetos observados por tratamento. Como alimento foi adicionado cinco botões florais, desprovido de brácteas, por gaiola. Em campo, as gaiolas contendo os insetos mais alimento foram penduradas na parte apical (penúltimo ramo) ou basal (primeiro ramo) das mesmas plantas, empregando plantas com 90 dias de idade e ao acaso dentro da parcela a ser pulverizada.

Após aplicação as gaiolas entomológicas foram deixadas por 48h nas plantas, quando foram coletadas e levadas para o laboratório para contabilizar o número de insetos mortos. A mortalidade foi avaliada com auxílio de chapa aquecedora (Fisatom mod.752A, Rio de Janeiro-RJ, Brasil) a temperatura de aproximadamente 35 °C para estimular a movimentação dos insetos. Os insetos foram considerados mortos quando não conseguiam mover ou não tinham coordenação motora para caminhar, por pelo menos duas vezes a extensão do seu corpo. Como não houve

mortalidade no tratamento testemunha, não foi adotada correção de mortalidade e o tratamento não considerado nas análises. A partir do número de insetos mortos e vivos por repetição foi determinada a porcentagem de mortalidade e os resultados submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk, Proc Univariate) e homogeneidade (Bartlett, Proc Anova), sendo os resultados transformados em arco seno da raiz ($x/100$) para atender os requisitos da análise de variância. Assim, os resultados foram submetidos à análise de variância através do Proc GLM do SAS em esquema fatorial inseticida e posição na planta e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD ao nível de 5% de probabilidade (SAS Institute 2001).

Toxicidade Residual de Espinosinas a *Anthonomus grandis*. Este estudo foi conduzido em condições de campo, empregando parcela de algodão da cultivar IMA7501 no campo experimental do Centro de difusão tecnológica do Instituto Mato-Grossense do Algodão, Rondonópolis, MT. As plantas de algodoeiro foram tratadas como descrito no experimento anterior. As folhas tratadas foram coletadas após 2, 24, 48, 96 e 192 horas após a aplicação das soluções à base de espinosade, espinetoram ou malationa nas mesmas concentrações anteriormente especificadas. Como tratamento controle, plantas receberam aplicação de água mais espalhante adesivo a 0,01%. Em laboratório, discos de folhas de, aproximadamente, 8cm de diâmetro foram cortados e acondicionados em placas de Petri de 9cm de diâmetro sobre papel filtro. Em seguida, foram liberados 10 adultos do bicudo-do-algodoeiro por placa. Como fonte de alimento foi ofertado no centro de cada disco 5mg de uma pasta nutritiva feita com mel e levedura de cerveja (1:1). Cada tratamento foi representado por 10 repetições, totalizando 100 insetos observados por tratamento. A mortalidade foi avaliada 48 horas após a liberação dos insetos nos tratamentos com o auxílio de chapa aquecedora (Fisatom mod.752A) como descrito no experimento anterior. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de variância considerando inseticidas e testemunha como tratamentos e avaliações no tempo como medidas repetidas no tempo. Assim, os

dados foram submetidos a ANOVA através da diretiva medidas repetidas no Proc GLM do SAS e comparados pelo teste de Tukey HSD, ao nível de 0,05% de probabilidade, através do Proc GLM do pacote estatístico SAS (SAS Institute 2001).

Resultados

Suscetibilidade de *Anthonomus grandis* a Espinosinas. Os resultados de concentração-mortalidade para todas as populações e todos inseticidas assumiram o modelo de Probit ($P > 0,05$), permitindo estimar as concentrações letais verdadeiras e seus respectivos limites de confiança a 95%. Como não se tinha uma população com conhecida linha base de suscetibilidade aos inseticidas testados, aquelas populações com menores valores de CLs, SUR-PE para espinosade e BAR-CE para espinetoram, foram consideradas como padrão de suscetibilidade (Tabelas 2 e 3).

Os bioensaios com o espinosade resultaram em CL_{50s} que variaram de 8,62 (SUR-PE) a 32,45 (LRV-MT) mg i.a./L. Desta forma, a menor e maior razão de suscetibilidade (RS_{50}) calculadas foram para os indivíduos das populações de BAR-CE e de LRV-MT com 1,08 e 3,76 vezes, respectivamente. Os valores da CL_{90} variaram de 49,68 (SUR-PE) a 281,70 mg i.a./L (CAV-MT). Com exceção das populações BAR-CE, REC-PE e SER-MT, as demais populações apresentaram RS_{50} significativa para o espinosade (Tabela 2). Contudo, os coeficientes angulares das curvas concentração-mortalidade apresentaram baixa variação sendo de 1,00 (SER-MT) a 1,78 (REC-PE) e, erro padrão, entre 0,14 a 0,26 (Tabela 2).

Os bioensaios com espinetoram resultaram em CL_{50s} estimadas de 2,17 (BAR-CE) a 15,36 (PVL-MT) mg i.a./L. Desta forma, os valores calculados para a RS_{50} foram de 1,25 e 7,04 vezes para a população ROO1-MT e PVL-MT, respectivamente. Para a CL_{90} , os valores variaram entre 8,58 a 69,36 mg i.a./L para as populações de BAR-CE e PVL-MT, respectivamente. Com exceção

da população BAR-CE, pelo fato de ser considerada padrão de suscetibilidade e ROO1-MT, as demais populações apresentaram razão de suscetibilidade (RS) significativa para o espinetoram (Tabela 3). Os coeficientes angulares das curvas concentração-mortalidade do bicudo-do-algodoeiro exposto ao espinetoram apresentou variação de 1,24 (IMA-MT) a 2,36 (LRV-MT), com erro padrão entre 0,2 e 0,24 (Tabela 3).

Toxicidade Tópica de Espinosinas a de *Anthonomus grandis*. Os fatores principais de variação analisados, quanto à mortalidade dos insetos, foram inseticidas e a posição de confinamento na planta e suas interações, mas apenas a posição de confinamento resultou em efeito significativo ($F_{1, 42} = 138,02$; $P < 0,0001$). A mortalidade média dos insetos confinados na parte superior (apical) da planta para os três inseticidas (espinosade, espinetoram e malationa) foi superior a 85%. Por outro lado, insetos confinados na parte inferior (basal) das plantas exibiram mortalidade <45%, para os três inseticidas testados (Fig. 1).

Toxicidade Residual de Espinosinas a *Anthonomus grandis*. A mortalidade média do bicudo-do-algodoeiro exposto aos inseticidas estudados variou em função do tempo de avaliação ($F_{4, 33} = 145,21$; $P < 0,0001$). A mortalidade nas avaliações de 2, 24 e 48h após a aplicação foi superior a 90% não caracterizando diferença significativa entre os três inseticidas (Fig. 2). A mortalidade nas avaliações de 96 e 192h nos tratamentos com as espinosinas permaneceu acima de 80%, enquanto que a malationa, tanto na avaliação de 96h ($F_{3, 36} = 162,42$; $P < 0,0001$), como na avaliação de 192h ($F_{3, 36} = 248,54$; $P < 0,0001$), foi significativamente inferior as espinosinas. As mortalidades médias em 96h e 192h com a malationa, organofosforado padrão no controle do bicudo-do-algodoeiro, foram de 40% e 10%, respectivamente (Fig. 2). Não foi constatada mortalidade na testemunha em nenhuma das avaliações.

Discussão

Desde a introdução no Brasil há mais de 30 anos, o bicudo-do-algodoeiro é a praga-chave que tem maior importância nas decisões do manejo integrado de pragas do algodoeiro. Em virtude de sua biologia, comportamento e ecologia, o manejo do bicudo-do-algodoeiro é sistematizado em práticas culturais preventivas (e.x.: destruição de soqueira, vazio sanitário, armadilhamento, etc.), ou práticas curativas como o uso de inseticidas para o controle de adultos. Apesar de sua importância e da grande dependência de pulverizações com inseticidas, estudos voltados ao conhecimento de suscetibilidade a novos ingredientes ativos são escassos. Os resultados apresentados neste trabalho com espinosade e espinetoram são os primeiros com *A. grandis*, embora várias outras espécies de pragas tenham sido alvo de estudos com espinosinas (Tabela 1S). Ainda, os resultados caracterizam a suscetibilidade de populações do bicudo-do-algodoeiro na maior região produtora do Brasil (Mato Grosso), e do Semiárido, podendo ser considerados importantes para o monitoramento futuro da suscetibilidade as espinosinas para esta importante praga.

Apesar da variação na suscetibilidade, as CL_{90S} estimadas para o espinosade são aproximadamente três vezes menores que a dosagem recomendada pelo fabricante para pulverização em algodoeiro (150 mL/ha de Tracer 480 SC, em 100L/ha, 720 mg i.a./L). Desta maneira, as populações do bicudo-do-algodoeiro apresentam-se como suscetíveis ao espinosade na dosagem recomendada para outras pragas do algodoeiro, como *S. frugiperda* e *H. armigera*. Contudo, vale salientar que as populações REC-PE, SUR-PE e BAR-CE, que não tiveram contato prévio com o espinosade, foram 2 a 3, e 3 a 4 vezes mais sensíveis com base nas CL_{50} e CL_{90} calculadas, que as populações do Mato Grosso. Nesta última região, o bicudo-do-algodoeiro tem sido exposto as espinosinas devido à recomendação de uso para pulverização em algodoeiro desde 2009. As aplicações são principalmente em lavouras de algodão convencionais não-Bt ou em

lavouira Bt, quando necessário para o controle de espécies de lepidópteros praga (Jacob Crosariol Netto, IMAmt, dados não publicados). Portanto, os resultados obtidos neste estudo sugerem o uso racional, bem como servirão de base para monitoramento de eficiência. Este fato é relevante, pois comparando os resultados obtidos com o espinetoram, que somente foi recomendado para pulverização em algodoeiro a partir de 2014, as CLs foram menores e menos variáveis que o espinosade, independente da origem das populações testadas. Contudo, vale salientar que o espinetoram representa uma espinosina semissintética como maior potencial inseticida que o espinosade, seu predecessor (Sparks *et al.* 1995, Dripps *et al.* 2008).

O uso racional é recomendado para qualquer inseticida e deve ser também, considerado na recomendação de espinosinas. Espécies pragas tem demonstrado rápida seleção para resistência a espinosinas (Campos *et al.* 2014). De acordo com Campos *et al.* (2014), a *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), em apenas sete gerações de pressão de seleção em laboratório, foi possível obter níveis de resistência de até 180.000 vezes. Também, são relatados casos de resistência em *Musca domestica* (L.) (Diptera: Muscidae) (Shono & Scott 2003), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Pluelliidae) (Zhao *et al.* 2002), *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) (Ferguson 2004) e *H. armigeria* (Kranthi & Shakir 2000).

A suscetibilidade do bicudo-do-algodoeiro ao espinetoram foi também variável entre populações, mas as CL_{90S} calculadas foram inferiores a dosagem recomendada para pulverização em algodoeiro (150 mL/ha de Exalt 120 SC em 100L/ha, 120 mg i.a./L). Novamente, em comparação ao espinosade, a variação de suscetibilidade não foi tão pronunciada entre as populações do Cerrado e Semiárido. Esse fato é observado pela inclinação das curvas concentração-mortalidade com pouca variação. Este menor tempo de exposição ao espinetoram somado a baixa diversidade genética nas populações brasileiras do bicudo-do-algodoeiro (Martins *et al.* 2007), suporta a consistência do nível de suscetibilidade entre as populações estudadas,

mesmo sendo de diferentes regiões. Apesar disso, deve-se ressaltar a importância do uso rotacionado dessa espinosina com outros inseticidas de distinto modo de ação. Também, atenção no monitoramento de suscetibilidade devido ao indicativo de aumento de variabilidade na suscetibilidade ao espinosade é recomendado. Isto advém do fato que espécies pragas selecionadas para resistência ao espinosade, também, demonstrar resistência cruzada ao espinetoram (Campos *et al.* 2014).

A influência, da falta ou pouco contato com espinetoram se torna mais clara nas populações ROO2-MT, a segunda mais sensível, e PVL-MT, a menos sensível. No caso da população ROO2-MT, isso pode ter ocorrido devido à falta de contato com o inseticida, já que a população é mantida em casa de vegetação, sendo originária de insetos coletados antes do registro do espinetoram no Brasil. Por outro lado, a população PVL-MT é oriunda de uma região com histórico de grande pressão de lagartas, devido a vastas áreas de milho adjacentes a lavouras de algodão, o que torna frequente as intervenções para redução dos níveis populacionais de lepidópteros pragas. Muitas vezes os controles de lagartas são realizados com espinosinas, e mais especificamente com espinetoram. No entanto, mesmo apresentando a maior razão de suscetibilidade para espinetoram, a população PVL-MT, ainda, está suscetível. Segundo Croft & Theiling (1990), tal valor pode variar sem ser considerado resistência quando inferior a 10 vezes.

Ambas as espinosinas apresentaram mortalidade similar ao inseticida padrão, a malationa, para bicudo-do-algodoeiro confinados na planta, em campo. Além disso, a localização do inseto no dossel da planta influenciou significativamente a eficácia da pulverização, independente do inseticida utilizado. Apesar da esperada predominância dos adultos na parte superior da planta, onde também se concentra as estruturas preferidas para alimentação e reprodução (Showler 2004, 2008), o bicudo-do-algodoeiro pode se localizar nas partes mais baixas das plantas, em maçãs e até mesmo botões florais de ramos laterais e, assim, obtendo menor contato com o inseticida

pulverizado. Esta proteção é estendida pela relativa baixa movimentação dos adultos, pois caso encontrem alimento favorável na parte baixa da planta, esses podem ficar na mesma estrutura por até 32h (i.e., insetos liberados e monitorados continuamente sobre a planta apresentaram deslocamento do local original em 46,1, 58,1 e 97,4% após 8, 24 e 48h, respectivamente; Lucas S. Arruda, UFRPE, não publicado). Isto é agravado pelo fato de que o inseticida padrão de pulverização para o bicudo-do-algodoeiro ser a malationa, a qual apresenta rápida degradação em campo resultando em baixa mortalidade após 48h da pulverização. Isto pode explicar a dificuldade de reduzir as populações do bicudo-do-algodoeiro estabelecidas com uso da malationa, mesmo sendo um inseticida altamente tóxico para esta praga. Por outro lado, ambas as espinosinas testadas obtiveram alta mortalidade até ao final das avaliações, 192h após a pulverização.

A malationa destaca-se, entre os demais inseticidas convencionais recomendados para o controle do bicudo-do-algodoeiro, pela manutenção da alta toxicidade tanto nos EUA (Kanga *et al.* 1995), como no Brasil (Capítulo 2), por mais de 30 anos de recomendações e grande utilização, no Brasil. Além disso, apresenta baixo custo e formulação oleosa, o que permite pulverização em alta pressão obtendo baixo volume de gotas, que é o recomendado para atingir espécies de pragas distribuídas no dossel das plantas (Mulrooney *et al.* 1997). Porém, no presente trabalho foi verificado que a sua persistência no algodoeiro é baixa. Isso pode ter ocorrido devido à grande quantidade de orvalho nas plantas, uma vez que os organofosforados são rapidamente degradados por hidrólise (Alves & Oliveira 2003). Em ambiente aquoso, a meia vida da malationa varia de 12 a 72h, dependendo do pH e da temperatura (Wolfe *et al.* 1975).

Para o teste de posição das gaiolas, como esperado, as maiores médias de mortalidade foram observadas para os insetos confinados na parte superior da planta. Isso ocorreu devido a maior deposição e facilidade de penetração das gotas de inseticida nessa região. Assim, a eficácia

do inseticida depende não, apenas, da quantidade de material depositado sobre a vegetação, mas também da uniformidade de cobertura do alvo (Mcnichol *et al.* 1997). Isso explica a baixa mortalidade do bicudo-do-algodoeiro para todos os inseticidas na parte inferior das plantas, onde provavelmente ocorre a menor deposição de calda e, conseqüentemente, menor exposição dos insetos ao inseticida.

As espinosinas, mesmo sendo relatadas como pouco persistentes em condições de campo em consequência da rápida degradação da molécula pela incidência de luz ultravioleta (Liu *et al.* 1999), proporcionou alta mortalidade do bicudo-do-algodoeiro até 192h após pulverização. Este resultado corrobora com Hossain & Poehling (2009). Esses mesmos autores encontraram mortalidade acima de 75% para *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) após duas semanas em tomateiro pulverizado com espinosade. A eficiência do resíduo depende do tipo de superfície (folha), da formulação, do tempo de exposição da praga, da suscetibilidade da espécie alvo, entre outros fatores (Zettler & Arthur 2000, Arthur 2012). Porém, o uso de espinosinas parece não ser afetada pela planta de algodão, e auxiliada pela suscetibilidade do bicudo-do-algodoeiro relativo à dosagem recomendada para o controle de outras pragas-chave do algodoeiro.

Também, é válido destacar que a degradação das espinosinas, na superfície foliar, é quase exclusivamente realizada por fotólise (Kollman 2002), e dependendo da intensidade da luz, a persistência do resíduo pode variar de 1,6 a 16 dias (Saunders & Bret 1997). Desta maneira, uma aplicação com espinosade ou espinetoram, possivelmente, se manterá eficiente durante o período que compreende duas aplicações (máximo de uma semana), já que as pulverizações para controle do bicudo-do-algodoeiro ocorrem durante a fase reprodutiva, coincidindo com o período de maior precipitação e, conseqüentemente, menor intensidade luminosa. Além disso, as espinosinas praticamente não são degradadas por hidrólise (Saunders & Bret 1997, Kollman 2002).

Todas essas características conferem as espinosinas alto potencial para serem usadas como opção no controle do bicudo-do-algodoeiro. Principalmente o espinetoram, devido ao preço mais acessível em comparação ao espinosade. Porém, há o aumento no uso das espinosinas em cultivos de algodão Bt, devido a falhas no controle de espécies de *Spodoptera* spp. (Observações pessoais), bem como em lavouras não-Bt que exerce pressão de seleção para indivíduos com genes pre-adaptativos nas populações de *A. grandis*. Esta preocupação é plausível pelo fato que populações de *Spodoptera exigua* Hüb. (Lepidoptera: Noctuidae) nos EUA e Tailândia, e de *P. xylostella* nos EUA (Moulton *et al.* 2000, Zhao *et al.* 2002), tornaram-se resistente a apenas um ano de amplo uso. Também, Campo *et al.* (2014) demonstraram resistência cruzada entre as espinosinas em *T. absoluta*. Portanto, estratégias de manejo da resistência, como caracterização da suscetibilidade da espécie alvo deve ser realizada desde o início do uso do inseticida (Jutsum *et al.* 1998), com o propósito de identificar possíveis mudanças na suscetibilidade de populações, que suportam exposições prolongadas e repetidas a um xenobiótico (Siegfried *et al.* 2005). Isto reforça a importância dos resultados com as duas espinosinas estudadas com a principal praga do algodoeiro, no Brasil.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que as populações de *A. grandis* testadas são suscetíveis as espinosinas espinosade e espinetoram. Porém, tais populações mostraram também significantes variações na suscetibilidade e devem ser monitoradas para evitar possível seleção para resistência, caso haja expansão do registro e ampliação de uso. Também, foi observado que o efeito residual das espinosinas se manteve por todo o período avaliado de até 192h.

Agradecimentos

A CAPES pela concessão de bolsas a G.G.R.e suporte através do projeto CAPES PROCAD NF no. 179923 permitindo o deslocamento para a realização de parte do estudo em MT. Ao CNPq pela bolsa Proc. 301739/2016-1 e suporte a pesquisa pela FACEPE através do APQ-0168-5.01/15.

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) 2017.** Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em: 20/10/2017.
- Alves, S.R. & J.J. Oliveira-Silva. 2003.** Avaliação de ambientes contaminados por agrotóxicos, p. 56-137 In F. Peres & J.C. Moreira (eds), *É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente*. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 384p.
- Arthur, F.H. 2012.** Aerosols and contact insecticides as alternatives to methyl bromide in flour mills, food production facilities, and food warehouses. *J. Pest Sci.* 85: 323-329.
- Barros E.M., C.S.A. Silva-Torres, J.B. Torres & G. G. Rolim. 2018.** Short-term toxicity of insecticides residues to key predators and parasitoids for pest management in cotton. *Phytoparasitica*. DOI:10.1007/s12600-018-0672-8.
- Barros, E.M., J.N. Crosariol, E.A. Souza & O. Martins. 2015.** Eficiência de diferentes inseticidas no controle do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro no estado do Mato Grosso. In X Congresso Brasileiro do Algodão. Foz do Iguaçu, RS. CD-Room.
- Bélot, J. L., E. M. Barros & J. E. Miranda. 2016.** Riscos e oportunidades: O bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro, p. 77-118. In AMPA (ed.), *Desafios do cerrado*. Cuiabá, Associação Mato-grossense dos Produtores de Algodão, 283p.
- Bret, B.L., L.L. Larson, J.R. Schoonover, T.C. Sparks & G.D. Thompson. 1997.** Biological properties of Spinosad. *Down to Earth* 52: 6-13.
- Campos, M.R., Rodrigues, A.R.S., Silva, W.M., Silva, T.B.M., Silva, V.R.F. & Guedes, R. N. C. 2014.** Spinosad and the tomato borer *Tuta absoluta*: A bioinsecticide, an invasive pest threat, and high insecticide resistance. *PLoSOne* 9: e103235.
- Croft, B.A. & K.M. Theiling. 1990.** Pesticide effects on natural enemies: a database summary, p. 17-46. In B.A. Croft (ed.), *Arthropod biological control agents and pesticides*. New York. John Wiley & Sons, 723p.

- Crosariol, J.N., G.G. Rolim & L.S. Arruda. 2016.** Mortalidade do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro após contato em resíduo seco de diferentes inseticidas utilizados na cultura do algodoeiro-Safra 2016/2017. Cuiabá, IMAmt, 9p. (Circular Técnica, 31).
- Dripps, J., B. Olson, T. Sparks & G. Crouse. 2008.** Spinetoram: how artificial intelligence combined natural fermentation with synthetic chemistry to produce a new spinosyn insecticide. *Plant Health Progress*. Disponível em: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/perspective/2008/spinetoram/>. Acessado em: 20/06/2017.
- Ferguson J.S. 2004.** Development and stability of insecticide resistance in the leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine, abamectin, and spinosad. *J. Econ. Entomol.* 97:112-119.
- Finney, D.J. 1971.** Probit Analysis. 3a. ed. London, Cambridge University Press, 333p.
- Hagerty, A. M., A. L. Kilpatrick, S. G. Turnipseed, and M. J. Sullivan. 2005.** Predaceous arthropods and lepidopteran pests on conventional, Bollgard, and Bollgard II cotton under untreated and disrupted conditions. *Environ. Entomol.* 34:1051-14.
- Hossain, M.B. & H.M. Poehling. 2009.** A comparative study of residual effects of azadirachtin, spinosad and avermectin on *Liriomyza sativae* (Dip.: Agromyzidae) on tomatoes. *Int. J. Pest Manage.* 55: 187-195.
- IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) 2017.** Disponível em: <http://www.irac-br.org/modo-de-ao-de-inseticidas-e-acaricidas>. Acessado em: 20/10/2017.
- Jutsum, A.R., S.P. Heaney, B.M. Perrin & P.J. Wege. 1998.** Pesticide resistance: assessment of risk and the development and implementation of effective management strategies. *Pestic. Sci.* 54: 435-446.
- Kanga, L.H.B., f.W. Plapp Jr., M.L. Wall, M.A. Karner, R.L. Huffman, JT.W. Fuchs, G.W. Elzen & J.L. Martinez-Cariull. 1995.** Monitoring Tolerance to Insecticides in Boll Weevil Populations (Coleoptera: Curculionidae) from Texas, Arkansas, Oklahoma, Mississippi, and Mexico. *J. Econ. Entomol.* 882: 198-204.
- Kollman, W.S. 2002.** Environmental fate of spinosad Sacramento, CA, Dept. of Pesticide Regulation, 16p.
- Kranthi K.R., S. Shakir & S.K. Banerjee. 2000.** Baseline toxicity of spinosad on the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hub.) in India. *Resist. Pest Manag.* 11: 9-12.
- Liu, T.X., A.N. Sparks, W.H. Hendrix & B. Yue. 1999.** Effects of SpinTor (Spinosad) on cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae): toxicity and persistence of leaf residue on cabbage under field and laboratory conditions. *J. Econ. Entomol.* 92: 1266-1273.
- Martins, W.F.S., C.F.J. Ayres, W.A. Lucena. 2007.** Genetic diversity of Brazilian natural populations of *Anthonomus grandis* Boheman, the major cotton pest in the new world. *Genet. Mol. Res.* 6: 23-32.
- McNichol, A.Z., M.E. Teske & J.W. Barry. 1997.** A technique to characterize spray deposit in orchard and tree canopies. *Trans. ASAE* 40: 1529-1536.

- Miranda, J.E. & S.M.M. Rodrigues. 2015.** História do bicudo-do-algodoeiro no Brasil, p. 11-45. In J.L. Bélot (ed.), O bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boh., 1843) nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle. Cuiabá, Instituto Mato-grossense do Algodão, 250p.
- Mulrooney, J.E., K.D. Howard, J.E. Hanks & R.G. Jones. 1997.** Application of ultra-low-volume malathion by airassisted ground sprayer for boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) control. J. Econ. Entomol. 90: 640-645.
- Rafiee, H.D., M.J. Hejazi1, G.N. Ganbalani & M. Saber. 2008.** Toxicity of some biorational and conventional insecticides to cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and its ectoparasitoid, *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). J. Entomol. Soc. Iran 28: 27-37.
- Robertson, J.L., R.M. Russell, H.K. Preisler & N.E. Savin. 2007.** Pesticide bioassays with arthropodes. 2^a ed. Boca Raton, FL, CRC Press Taylor & Francis Group, 200p.
- Ruberson, J.R., G.A. Herzog, W.R. Lambert & W.J. Lewis. 1994.** Management of the beet armyworm in cotton: role of natural enemies. Fla. Entomol. 77: 440-453.
- Salgado, V.L. 1998.** Studies on the mode of action of spinosad: Insect symptoms and physiological correlates. Pestic. Biochem. Physiol. 60: 91-102.
- SAS Institute. 2001.** SAS/STAT User's Guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Saunders, D.G. & B.L. Bret. 1997.** Fate of spinosad in the environment. Down Earth 52: 14-20.
- Schoonover, J.R. & L.L. Larson. 1995.** Laboratory activity of Spinosad on non-target beneficial arthropods. Arthr. Manag. Tests 20: 357.
- Shono T. & J.G. Scott. 2003.** Spinosad resistance in the housefly, *Musca domestica*, is due to a recessive factor on autosome I. Pestic. Biochem. Physiol. 75: 1-7.
- Showler, A.T. 2004.** Influence of cotton fruit stages as food source on boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) fecundity and oviposition. J. Econ. Entomol. 97: 1330-1334.
- Showler, A.T. 2008.** Relationships of abscised cotton fruit to boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) feeding, oviposition, and development. J. Econ. Entomol. 101: 68-73.
- Siegfried, B.D., T.T. Vaughn & T. Spencer. 2005.** Baseline susceptibility of Western corn rootworm (Coleoptera: Crysomelidae) to Cry3Bb1 *Bacillus thuringiensis* toxin. J. Econ. Entomol. 98: 1320-1324.
- Soria, M.F., D. Thomazoni, B.B. Batista, P.E. Degrande. 2013.** Controle químico do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) com inseticidas alternativos ao endossulfan, organofosforados e piretroides SC. In IX Congresso Brasileiro de Algodão, Brasília, DF. CD-Room.
- Sparks, T.C., G.D. Thompson, L.L. Larson, H.A. Kirst, O.K. Jantz, T.V. Worden, M.B. Hertlein & J.D. Busacca. 1995.** Biological characteristics of the spinosyns: new naturally

derived insect control agents, p. 903-907. In Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, San Antonio, TX., 1830p.

Sparks, T.C., J.E. Dripps, G.B. Watson & D. Paroonagian. 2012. Resistance and cross resistance to the spinosyns: a review and analysis. *Pestic. Biochem. Physiol.* 102: 1-10

Wolfe, N.L., R.G. Zepp, G.L. Baughman & J.A. Gordon. 1975. Kinetic investigation of malathion degradation in water. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 13:707-713.

Zettler, J.L. & F.H. Arthur. 2000. Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. *Crop Prot.* 19: 577-582.

Zhao, J.Z., Y.X. Li, H.L. Collins, L. Gusukuma-Minuto, R.F. Mau, G.D. Thompson & A.M. Shelton. 2002. Monitoring and characterization of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. *J. Econ. Entomol.* 95: 430-436.

Tabela 1. Informações sobre as populações estudadas do bicudo-do-algodoeiro-do-
algodoeiro, *Anthonomus grandis*.

Populações-Estado	Abreviações	Coordenadas geográficas	Data de coleta
Surubim-PE	SUR	7° 55' 39,9" S, 35° 50' 32,9" O	20/09/2016
Barbalha-CE	BAR	7° 17' 51,5" S, 39° 16' 12" O	21/08/2017
Recife-PE	REC	8° 1' 1,5" S, 34° 56' 39,7" O	25/08/2017
Serra da Petrovina-MT	SEP	16° 48' 28,4" S, 54° 7' 46,3" O	21/06/2017
Rondonópolis-MT	ROO1	16°33' 22,4" S, 54° 37' 58,4" O	20/05/2017
Rondonópolis-MT	ROO2	16° 59' 30,6" S, 54° 50' 26,7" O	18/07/2017
Primavera do Leste-MT	PVL	15° 8' 30,6" S, 54° 2' 17" O	10/06/2017
Campo Verde-MT	CAV	15° 30' 54,0" S, 54° 51' 54,3" O	10/06/2017
Lucas do Rio Verde-MT	LRV	13° 1' 15,88" S, 56° 4' 55,52" O	07/07/2017

Tabela 2. Suscetibilidade do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, a espinosade. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; U.R.: $65 \pm 5\%$ e 12h de fotofase.

Populações	n (GL) ¹	Inclinação \pm EP ²	CL ₅₀ (IC _{95%}) ³	RS ₅₀ (IC _{95%}) ⁴	CL ₉₀ (IC _{95%}) ³	χ^2 -Valor de P
SUR-PE	230 (6)	1,59 \pm 0,18	8,62(6,41-11,43)	-	54,52(36,28-98,37)	5,12 ^{0,5276}
BAR-CE	216 (7)	1,75 \pm 0,23	9,31(6,52-12,41)	1,08 (0,70-1,65)	49,86 (34,75-85,35)	1,56 ^{0,9801}
REC-PE	190 (5)	1,78 \pm 0,26	9,75 (6,48-13,20)	1,32 (0,72-1,75)	50,82 (35,57-88,32)	3,82 ^{0,5749}
SER-MT	230 (6)	1,00 \pm 0,16	11,34 (5,35-18,31)	1,31 (0,68-2,51)	214,46 (120,18-583,67)	5,15 ^{0,5247}
ROO2-MT	210 (5)	1,48 \pm 0,16	23,78 (16,22-33,40)	2,75 (1,74-4,36)*	190,60 (121,51-364,51)	2,51 ^{0,7747}
ROO1 -MT	244 (6)	1,42 \pm 0,16	27,01 (19,37-36,59)	3,13 (2,04-4,80)*	215,66 (139,17-405,61)	3,37 ^{0,7600}
PVL-MT	331(6)	1,30 \pm 0,14	29,15 (21,44-38,14)	3,38 (2,25-5,07)*	281,08 (184,54-519,23)	2,89 ^{0,8219}
CAV-MT	240 (6)	1,31 \pm 0,15	30,07 (21,03-41,50)	3,48 (2,24-5,43)*	281,70 (176,64-559,10)	6,70 ^{0,3491}
LRV-MT	170 (6)	1,39 \pm 0,19	32,45 (21,28-47,14)	3,76 (2,31-6,11)*	270,90 (162,73-596,33)	5,32 ^{0,5030}

¹Número de adultos utilizados nos bioensaios (graus de liberdade); ²Erro padrão; ³CL - Concentração (mg de i.a./L) que produz mortalidade; ⁴Razão de toxicidade; razão das estimativas da CL₅₀ entre as populações, calculada através do método de Robertson & Preisler (1992) e limite de confiança a 95% das estimativas da CL₅₀ e CL₉₀; χ^2 , teste de qui-quadrado. *Razão de suscetibilidade significativa para espinosade, uma vez que o limite de confiança não compreende o valor 1,0.

Tabela 4. Suscetibilidade do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, a espinetoram. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; U.R.: $65 \pm 5\%$ e 12h

fotofase.

Populações	n (G.L.) ¹	Inclinação \pm EP ²	CL ₅₀ (IC _{95%}) ³	RS ₅₀ (IC _{95%}) ⁴	CL ₉₀ (IC _{95%}) ³	χ^2 -Valor de P
BAR-CE	201 (7)	2,14 \pm 0,28	2,17(1,61-2,82)	-	8,58 (6,10-14,28)	8,82 ^{0,2654}
ROO1-MT	180 (6)	1,24 \pm 0,20	2,72 (1,38-4,29)	1,25 (0,68-2,29)	29,37 (17,69-66,75)	7,97 ^{0,2399}
SUR-PE	206 (6)	1,36 \pm 0,18	4,26 (2,83-6,01)	1,96 (1,24-3,10)*	36,88 (22,87-77,16)	2,31 ^{0,8885}
ROO2-MT	190 (5)	1,66 \pm 0,22	5,12 (3,72-6,83)	2,36 (1,57-3,54)*	30,31 (20,03-57,74)	3,04 ^{0,6928}
REC-PE	289 (7)	1,85 \pm 0,17	5,14 (4,02-6,58)	2,37 (1,63-3,42)*	25,32 (17,99-40,18)	7,63 ^{0,3655}
LRV-MT	259 (6)	2,36 \pm 0,24	6,70 (5,41-8,32)	3,08 (2,18-4,37)*	23,40 (17,50-34,94)	6,53 ^{0,3663}
CAV-MT	220 (6)	1,56 \pm 0,17	7,89 (5,65-10,66)	3,63 (2,39-5,51)*	51,78 (34,64-91,57)	3,77 ^{0,7069}
SER-MT	244 (6)	1,63 \pm 0,17	7,94 (5,94-10,44)	3,65 (2,47-5,41)*	48,01 (32,68-82,68)	1,44 ^{0,9633}
PVL-MT	230 (6)	1,95 \pm 0,21	15,36 (11,92-19,95)	7,07 (4,68-10,29)*	69,36 (48,29-115,61)	4,26 ^{0,5607}

¹Número de adultos utilizados nos bioensaios (graus de liberdade); ²Erro padrão; ³CL - Concentração (mg de i.a./L) que produz mortalidade; ⁴Razão de toxicidade; razão das estimativas da CL₅₀ entre as populações, calculada através do método de Robertson & Preisler (1992) e limite de confiança a 95% das estimativas da CL₅₀ e CL₉₀; χ^2 , teste de qui-quadrado. *Razão de suscetibilidade significativa para espinosade, uma vez que o limite de confiança não compreende o valor 1,0.

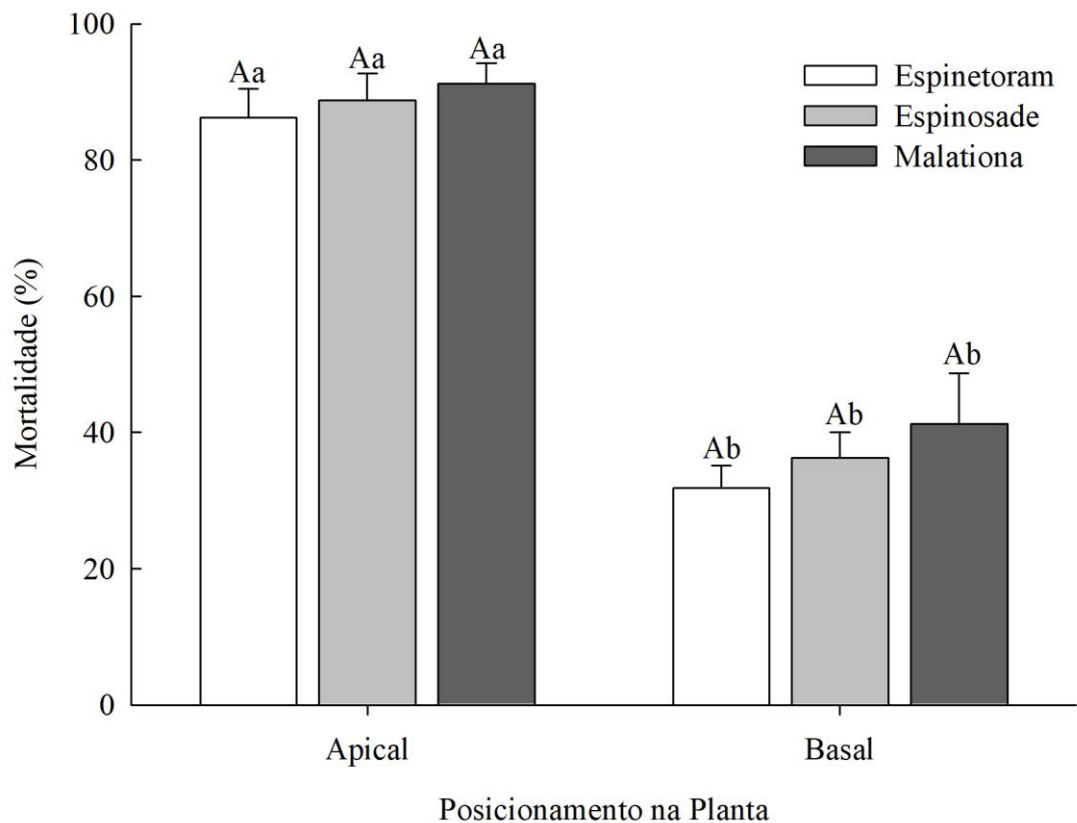


Figura 1. Mortalidade (%) de adultos de *Anthonomus grandis* 48h após confinamento na parte apical ou basal de plantas de algodão em campo, e pulverizadas com 12, 72 e 1000 g de i.a./ha de espinetoram, espinosade e malationa, respectivamente, Rondonópolis, MT. Nota: Letra maiúscula representa comparações entre inseticidas para a mesma posição, e letra minúscula representa comparações entre posições para o mesmo inseticida, pelo teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade.

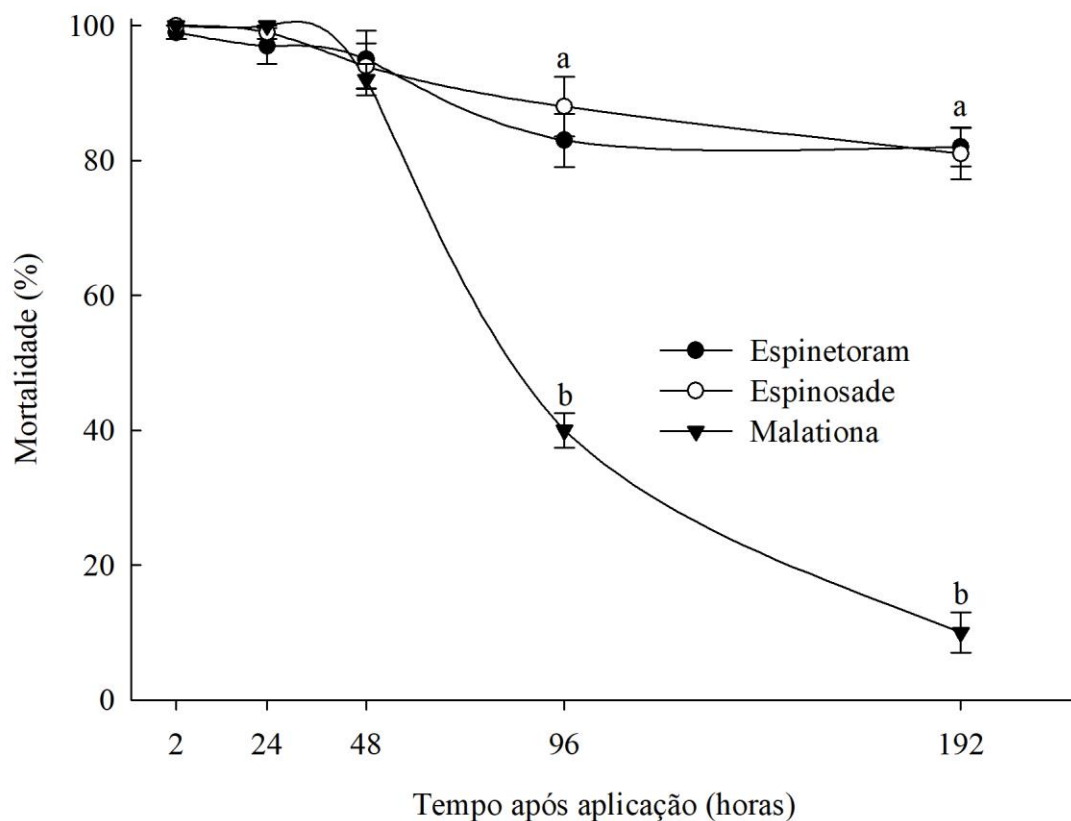


Figura 2. Mortalidade (%) de adultos do bicudo-do-algodoeiro-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, expostos ao resíduo de inseticidas espinetoram, espinosade e malationa (12, 72 e 1000 g de i.a./há respectivamente) aplicados sobre plantas de algodoeiro 2, 24, 48, 96 e 192 horas antes da exposição. Nota: Apenas as médias significativas são representadas por letras, as quais diferem pelo teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cotonicultura brasileira é conduzida com adoção de tencologias avançadas de cultivo, caracterizadas por uma cadeia produtiva organizada, que resulta na inserção de uma fibra produzida de qualidade no cenário mundial. No entanto, isto também coloca o Brasil sob constante observação por órgãos reguladores, fomentado por países concorrentes, como a cobrança para amenizar os impactos ambientais provocados pelo cultivo. Portanto, mesmo com todo o avanço conseguido nos últimos anos, o grande empecilho para um algodão mais rentável são os custos elevados de produção, onde se destaca a participação dos custos com o controle de pragas que varia de 10 a 15% dos custos variáveis de produção. Devido a grande diversidade de artrópodes pragas, um consenso quase que geral entre os produtores é a dependência do uso de inseticidas para se obter elevadas produtividades e fibra de qualidade. E, maior parte dos inseticidas aplicados em algodoeiro é de largo espectro e direcionados ao controle do bicudo-do-algodoeiro.

Os inseticidas mais comumente utilizados para o controle do bicudo-do-algodoeiro são classificados entre altamente a extremamente tóxicos. Fato que alguns deles tradicionalmente utilizados tem sido retirado do mercado e, outros, estão sob reavaliação da ANVISA. Assim, apesar do grande número de marcas comerciais existente, ainda, há demanda por produtos eficientes, mas que também contribua para o manejo integrado de pragas com baixo impacto aos inimigos naturais. E, desta maneira, que as espinosinas e os IGRs poderão contribuir para a sustentabilidade do manejo de pragas do algodoeiro.

Os resultados obtidos confirmam a baixa mortalidade de adultos do bicudo-do-algodoeiro expostos a beta-ciflutrina e a alta eficácia da malationa. A partir das concentrações letais determinadas para cinco populações do bicudo coletados ao final da safra 2016/2017, em Mato

Grosso, e expostos ao resíduo seco do inseticida resultou em razões de resistência de até 437 vezes, e CL₉₀ variando de 62,7 a 357 vezes superior a dosagem de campo. Por outro lado, duas populações do Semiárido (CE e PE) foram suscetíveis, o que corrobora a pressão de seleção para resistência imposta nas lavouras comerciais do Cerrado. Também, todas as populações foram sensíveis a malationa com CL₉₀ inferior a dosagem de campo. Estes resultados são relevantes, pois corroboram as dificuldades encontradas para o controle do bicudo-do-algodoeiro com piretroides. O uso de piretroides em algodoeiro deve-se restringir a pulverizações na fase final da lavoura com no máximo sete pulverizações por safra. Portanto, não é nenhuma novidade as restrições aos piretroides em algodoeiro. Contudo, com esta confirmação científica de resistência para o bicudo-do-algodoeiro espera-se chamar mais atenção para o problema.

Em relação aos inseticidas testados como potenciais alternativas aos inseticidas de largo espectro, os IGRs e as espinosinas, mostraram-se promissores, especialmente com as espinosinas, e entre espinetoram e espinosade, destacou-se o espinetoram. Entre os IGRs piriproxifem, metoxifenoazida e lufenurum, apenas este último ocasionou efeito subletal inviabilizando ovos depositados por fêmeas expostas ao resíduo seco, independente do status de cópula e tratamento dos machos. Ambas as espinosinas ocasionaram mortalidade similar e, controle residual superior, ao padrão organofosforado malationa. Assim, uma extensão de recomendação para o bicudo-do-algodoeiro parece ser viável após testes de validação de eficácia em diferentes campos e safras. Além disso, é importante ressaltar que ambas as espinosinas testadas são consideradas de baixo impacto para inimigos naturais, em comparação aos demais inseticidas como os piretroides, carbamatos e organofosforados, comumente recomendados para o controle do bicudo-do-algodoeiro, o que certamente irá trazer benefícios para o manejo integrado de pragas do algodoeiro.

APÊNDICE

Tabela 1S. Levantamento bibliográfico da toxicidade das espinosinas para artrópodes (μg de i.a./mL).

Inseto	CL ou DL ₅₀ (95% IC)	Referência
Espinósade		
Lepidoptera		
<i>Spodoptera littoralis</i> /Susceptível	10 (4,74-15,91)	Aydin & Gürkan (2005)
<i>Spodoptera littoralis</i>	43,7 (36,07-46,50)	Aydin & Gürkan (2005)
<i>Ostrinia nubilalis</i> ¹	1,4 (0,06-3,27)	Boiteau & Noronha (2007)
<i>Helicoverpa armigera</i> ²	0,1 (0,12-0,14)	Rafiee <i>et al.</i> (2008)
<i>Helicoverpa armigera</i> ³	0,2 (0,19-0,22)	Rafiee <i>et al.</i> (2008)
<i>Herpetogramma phaeopteralis</i> ⁴	31,1 (26,3-37,2)	Tofangsazi <i>et al.</i> (2015)
<i>Tuta absoluta</i>	1,3 (0,28-2,88)	Torres <i>et al.</i> (1999)
<i>Spodoptera frugiperda</i>	0,7 (0,43-1,02)	Torres <i>et al.</i> (1999)
Coleoptera		
<i>Microtheca ochroloma</i> /Larva	0,1 (0,06-0,18)	Balusu & Fadamiro (2013)
<i>Microtheca ochroloma</i> /Adulto	0,1 (0,061-0,18)	Balusu & Fadamiro (2013)
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	0,6 (0,54-0,73)	Hamanda <i>et al.</i> (2012)
<i>Alphitobius diaperinus</i> /Larva ⁵	2,6 (1,1-7,2)	Lambkin & Furlong (2014)
<i>Alphitobius diaperinus</i> /Adulto ⁵	3,3 (1,2-8,4)	Lambkin & Furlong (2014)
<i>Leptinotarsa decemlineata</i> /Adulto	2,4 (1,80-3,13)	Lu <i>et al.</i> (2011)
<i>Leptinotarsa decemlineata</i> /2º instar	0,3 (0,22-0,35)	Lu <i>et al.</i> (2011)
<i>Leptinotarsa decemlineata</i> /3º instar	0,4 (0,34-0,48)	Lu <i>et al.</i> (2011)
<i>Leptinotarsa decemlineata</i> /4º instar	1,2 (0,87-1,76)	Lu <i>et al.</i> (2011)
<i>Tribolium confusum</i> ⁵	238,6 (188,58-290,60)	Mirmoayedi <i>et at.</i> (2011)
<i>Lasioderma serricorne</i>	378,9 (306,75-463,4)	Mirmoayedi <i>et at.</i> (2011)
<i>Callosobruchos maculatus</i> ⁶	102,9 (92,9-114,8)	Parsaeyan <i>et al.</i> (2012)
<i>Callosobruchos maculatus</i> ⁵	68,8 (59,7-80,0)	Parsaeyan <i>et al.</i> (2012)

Tabela 1. Continuação.

<i>Rhyzopertha dominica</i> ⁷	49,9 (24,46-70,87)	Sadeghi & Ebondallahi (2015)
<i>Rhyzopertha dominica</i> ⁸	31,4 (10,54-45,63)	Sadeghi & Ebondallahi (2015)
<i>Sitophilus oryzae</i> ⁷	50,8 (45,16-58,30)	Sadeghi & Ebondallahi (2015)
<i>Sitophilus oryzae</i> ⁸	36,5 (32,84-40,71)	Sadeghi & Ebondallahi (2015)
<i>Hypocryphalus mangiferae</i> ⁹	275 (127-432)	Saeed <i>et al.</i> (2011)
<i>Tribolium castaneum</i>	3,2 (2,26-4,14)	Sehgal <i>et al.</i> (2013)
<i>Agriotes obscurus</i>	0,5 (0,43-0,59)	Van Herk <i>et al.</i> (2008)
Hemiptera		
<i>Podisus nigrispinus</i> /Tópico	145,3 (72,96-334,88)	Torres <i>et al.</i> (1999)
<i>Podisus nigrispinus</i> /Ingestão	53,1 (20,35-76,24)	Torres <i>et al.</i> (1999)
Hymenoptera		
<i>Habrobracon hebetor</i> /Residual♀	15,6 (12,08-19,71)	Rafiee <i>et al.</i> (2008)
<i>Habrobracon hebetor</i> /Residual♂	11,7 (9,45-13,51)	Rafiee <i>et al.</i> (2008)
<i>Catolaccus hunteri</i> /Residual	2,3 (1,837-3,147)	Schuster & Thompson (2011)
<i>Catolaccus hunteri</i> /Tópico	1,3 (0,704-2,291)	Schuster & Thompson (2011)
Psocoptera		
<i>Liposcelis decolor</i> ¹⁰	0,2 (0,17-0,28)	Huang <i>et al.</i> (2009)
<i>Liposcelis bostrychophila</i> ¹⁰	4,5(3,89-5,25)	Huang <i>et al.</i> (2009)
Espineteram		
Lepidoptera		
<i>Tuta absoluta</i>	0,1 (0,061-0,139)	Campos <i>et al.</i> (2014)
<i>Spodoptera frugiperda</i>	0,06 (0,053-0,081)	Hardke <i>et al.</i> (2011)
<i>Plutella xylostella</i> ⁹	0,2 (0,140-0,277)	Lima Neto (2016)
<i>Helicoverpa armigera</i>	3,5 (2,36-5,30)	Visnupriya & Muthukrishnan (2017)
<i>Grapholita molesta</i>	0,06 (0,04-0,07)	Jones <i>et al.</i> (2010)
<i>Itame argillacearia</i>	0,2 (0,116-0,407)	Ramanaidu <i>et al.</i> (2011)
<i>Choristoneura rosaceana</i>	0,2 (0,17-0,29)	Sial & Brunner (2010)

Tabela 1. Continuação.

Hemiptera		
<i>Cimex lectularius</i>	69,3 (52,8-344,2)	Steelman <i>et al.</i> (2008)
<i>Phenacoccus solenopsis</i>	32,3 (16,7-48,0) ²	Afzal & Shad (2017)
Hymenoptera		
<i>Megachile rotundata</i> / adulto	47 (41,54-54,12)	Gradish <i>et al.</i> (2011)
Díptera		
<i>Culex quinquefasciatus</i>	3,1 (2,38-4,03)	Shad <i>et al.</i> (2016)
Thysanoptera		
<i>Thrips tabaci</i>	0,2 (0,08-0,3)	Herron <i>et al.</i> (2011)
Acari		
<i>Tetranychus urticae</i> / fêmea adulta	6,2 (4,28-10,16)	Wang <i>et al.</i> (2016)
<i>Tetranychus urticae</i> / ovos	4,3 (3,43-5,36)	Wang <i>et al.</i> (2016)

¹Mortalidade de larvar neonatas em 24h.

²Expostos a dieta artificial tratada.

³Discos de folha tratados.

⁴Exposição 72h usando dose de campo 390 (µg/ml p.c.).

⁵Exposição por 48h.

⁶Exposição por 24h.

⁷Insetos expostos por dez dias ao inseticida.

⁸Insetos expostos por 20 dias ao inseticida.

⁹CL₉₉.

¹⁰Insetos expostos por 7 dias.

Literatura Citada (Tabela 1S)

Afzal, M.B.S. & S.A. Shad. 2017. Spinosad resistance in an invasive cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis*: cross-resistance, stability and relative fitness. J. Asia Pac. Entomol. 20: 457-462.

Al-Dhaheri, H.A. & M. Al-Daab. 2012. Mortality and GST enzyme response of saw-toothed grain beetles, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera:Silvanidae) exposed to low insecticide concentrations. J. Entomol. 9: 396-402.

Aydin, H. M. & O. Gürkan. 2006. The efficacy of spinosad on different strains of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). Turk J. Biol. 30:5-9.

- Balusu, R. & H.Y. Fadamiro. 2013.** Susceptibility of *Microtheca ochroloma* (Coleoptera: Chrysomelidae) to botanical and microbial insecticide formulations. Fla. Entomol. 96: 914-921.
- Boiteau, G. & C. Noronha. 2007.** Topical, residual and ovicidal contact toxicity of three reduced-risk insecticides against the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae), on potato. Pest Manag. Sci. 63:1230–1238.
- Campos, M.R., Rodrigues, A.R.S., Silva, W.M., Silva, T.B.M., Silva, V.R.F. & Guedes, R. N. C. 2014.** Spinosad and the tomato borer *Tuta absoluta*: A bioinsecticide, an invasive pest threat, and high insecticide resistance. PLoSOne 9: e103235.
- Campos, M.R., Rodrigues, A.R.S., Silva, W.M., Silva, T.B.M., Silva, V.R.F. & Guedes, R. N. C. 2014.** Spinosad and the tomato borer *Tuta absoluta*: A bioinsecticide, an invasive pest threat, and high insecticide resistance. PLoSOne 9: e103235.
- Gradish, A. E., C. D. Scott-Dupree & G.C. Cutler. 2012.** Susceptibility of *Megachile rotundata* to insecticides used in wild blueberry production in Atlantic Canada. J. Pest Sci. 85: 133-140.
- Hardke, J.T., B.R. Leonard, F. Huang & R.E. JACKSONC. 2011.** Damage and survivorship of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic field corn expressing *Bacillus thuringiensis* cry proteins. Crop Prot. 30:168-172.
- Herron, G.A., B.J. Langfield, T.M. Tomlinson, & J.H. Mo. 2011.** Dose-response testing of Australian populations of onion thrips *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) further refines baseline data and detects methidathion and likely imidacloprid resistance. Aust. J. Entomol. 50: 418-423.
- Huang F., B. Subramanyam & R. Roesli. 2009.** Comparative susceptibility of *Liposcelis bostrychophila* badonnel and *Liposcelis decolor* (Pearman) (Psocoptera: Liposcelididae) to spinosad on wheat. Biopestic. Int. 5: 106-113.
- Jones, M.M., J.L. Robertson, A. Richard & R.A. Weinzierl. 2010.** Susceptibility of oriental fruit Moth (Lepidoptera: Tortricidae) larvae to selected reduced-risk insecticides. Journal of Econ. Entomol.103: 1815-1820.
- Lambkin, T.A. & M.J. Furlong. 2014.** Application of spinosad increases the susceptibility of insecticide-Resistant *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to pyrethroids. J. Econ. Entomol. 107: 1590-1598.
- Lima Neto, J.E., M.H.P. Amaral, H.A.A. Siqueira, R. Barros & P.A.F. Silva. 2016.** Resistance monitoring of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to risk-reduced insecticides and cross resistance to spinetoram. Phytoparasitica.44: 631-640.
- Lu, W.P., X.Q. Shi, W.C. Guo, W.H. Jiang, Z.H. Xia, W.J. Fu & G.Q. Li. 2011.** Susceptibilities of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) in the north Xinjiang Uygur autonomous region in China to two biopesticides and three conventional insecticides. J. Agric. Urban Entomol. 27: 61-73.

- Mirmoayedi, A., A.A Zamani & N. Kasrayie. 2011.** Effect of spinosad towards insect pests of stored products, *Lasioderma serricorne* F. and *Tribolium confusum* DuVal. Pestic. Res. J. 23: 111-113.
- Parsaeyan, E., M. Saber & S. Vojoudi. 2012.** Lethal and sublethal effects from short-term exposure of *Callosobruchus maculatos* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) to diatomaceous earth and spinosad on glass surface. Acta Entomol. Sinica. 55: 1289-1294.
- Rafiee, H.D., M.J. Hejazi1, G.N. Ganbalani & M. Saber. 2008.** Toxicity of some biorational and conventional insecticides to cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and its ectoparasitoid, *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). J. Entomol. Soc. Iran. 28: 27-37.
- Ramanaidu, K., J.M. Hardmanb, D.C. Percival & G.C. Cutler. 2011.** Laboratory and field susceptibility of blueberry spanworm (Lepidoptera: Geometridae) to conventional and reduced- risk insecticides. Crop. Prot. 30: 1643- 1648.
- Sadeghi, R. & A. Ebadollahi. 2015.** Susceptibility of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) and *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) to spinosad (Tracer®) as a eco-friendly biopesticide. Ecol. Balkanica. 7: 39-44.
- Saeed, S., A. Masood, A.H. Sayyed & Y.J. Kwon. 2011.** Comparative efficacy of different pesticides against mango bark beetle *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleoptera: Scolytidae). Ecol. Res. 41: 142-150.
- Schuster, D.J. & S. Thompson. 2011.** toxicity of selected insecticides to *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae) in the laboratory. Fla. Entomol. 94: 1078-1080.
- Sehgal, B., B. Subramanyam, F.H. Arthur & B.S. Gill. 2013.** Variation in susceptibility of field three stored grain insect species to spinosad and chlorpyrifos-methyl plus deltamethrin on hard red winter wheat. J. Econ. Entomol. 106: 1911-1919.
- Sial, A.A., J.F. Brunner, & M.D. Doerr. 2010.** Susceptibility of *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) to two new reduced-risk insecticides. J. Econ. Entomol. 103: 140-146.
- Steelman, C.D., A.L. Szalanski, R. Trout, J.A. McKern, C. Solorzano & J.W. Austin. 2008.** Susceptibility of the bed bug *Cimex lectularius* L. (Hemiptera: Cimicidae) to selected insecticides. J. Agr. Urban. Entomol. 25: 45-51.
- Tofangsazi, N., R.H. Cherry, R.C. Beeson & S.P. Arthurs. 2015.** Concentration-response and residual activity of insecticides to control *Herpetogramma phaeopteralis* (Lepidoptera: Crambidae) in St. Augustinegrass. J. Econ. Entomol. 108: 730-735.
- Torres, J.B., De Clercq, P., & Barros, R. 1999.** Effect of spinosad on the predator *Podisus nigrispinus* and its lepidopterous prey. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Universiteit Gent, 64, 211–218.

- Van Herk, W.G. R.S. Vernon, J.H. Tolman & H.O. Saavedra. 2008.** Mortality of a wireworm, *Agriotes obscurus* (Coleoptera: Elateridae), after topical application of various insecticides. *J. Econ. Entomol.* 101: 375-383.
- Visnupriya M. & N. Muthukrishnan. 2017.** Negative cross resistance of *Helicoverpa armigera* Hubner on okra to green insecticide molecule spinetoram 12 SC W/V (11.7 W/W). *J. Entomol. Zool. Stud.* 5: 1578-1582.
- Wang L., Y. Zhang, W. Xie, Q. Wu & S. Wang. 2016.** Sublethal effects of spinetoram on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: tetranychidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 132: 102-107