

BASES PARA O MANEJO DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) A INSETICIDAS: SUSCETIBILIDADE E GENÉTICA DA RESISTÊNCIA A CLORFENAPIR

por

JACONIAS ESCÓCIO LIMA NETO

(Sob Orientação do Professor Herbert Álvaro de Abreu Siqueira - UFRPE)

RESUMO

A principal praga da Brassicaceae é a traça-das-brássicas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), que é considerado o inseto praga com maior número de registros de casos de resistência, inclusive para novas moléculas como clorfenapir. O objetivo deste trabalho foi (i) caracterizar a suscetibilidade de *P. xylostella* a 17 inseticidas para duas populações de laboratório oriundas de Recife (REC) e Piedade (PIED); (ii) verificar a suscetibilidade de populações de campo para abamectina e (iii) estudar a herança, herdabilidade, número de genes e custo adaptativo da resistência a clorfenapir. Para tanto, foram realizados bioensaios de concentração-mortalidade e a seleção para resistência de *P. xylostella* a clorfenapir de populações coletadas em Bezerros (PE) e Boas Novas (PE). Baseado nas CL_{50s} em mg i. a./L, as duas populações de laboratório seguiram um padrão de suscetibilidade para abamectina (0,017-0,020), milbemectina (0,028-0,031), ciantraniliprole (0,04-0,09), clorantraniliprole (0,15-0,56), flubendiamida (0,03-0,17), espinosade (0,90-1,37), espinetoram (0,88-1,01), lufenuron (0,10-0,30), indoxacarbe (0,32-0,64), clorfenapir (1,01-1,06) e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (1,67-2,85). Além disso, verificou-se que as populações de campo desenvolveram resistência a abamectina (< 331 vezes, comparado com a população suscetível). A herdabilidade da resistência a clorfenapir foi

$h^2 = 0,90$, a herança da resistência foi autossomal, monogênica e incompletamente dominante. Quando comparado com a linhagem suscetível, os indivíduos resistentes a clorfenapir apresentaram menor taxa líquida (R_0) e intrínseca de crescimento (r_m), viabilidade larval e peso de pupa. Os resultados sugerem alto risco de evolução da resistência no campo e custo adaptativo da resistência a clorfenapir em *P. xylostella*.

PALAVRAS-CHAVE: Traça-das-brássicas, herança genética, toxicidade, custo adaptativo.

BASIS FOR THE RESISTANCE MANAGEMENT OF *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) TO INSECTICIDES: SUSCEPTIBILITY AND GENETICS OF RESISTANCE TO CHLORFENAPYR

by

JACONIAS ESCÓCIO LIMA NETO

(Under the Direction of Professor Herbert Álvaro de Abreu Siqueira - UFRPE)

ABSTRACT

The major pest Brassicaceae is the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), that is considered the insect more registration number of cases of resistance to insecticide, include to novel molecules such as chlorfenapyr. The objective of this work was characterize the *P. xylostella* susceptibility to 17 insecticides to two laboratory strain Recife (REC) and Piedade (PIED), assessment the susceptibility to abamectin in field populations. Moreover, verified inheritance, heritability, number of genes and fitness costs of chlorfenapyr resistance in *P. xylostella*. Therefore, were performed bioassays of concentration-mortality and the selection to chlorfenapyr resistance in *P. xylostella* populations collected at Bezerros and Boas Novas (State of Pernambuco – Brazil). Based on CL_{50s} in mg a. i. /L, the laboratory strains following a pattern of susceptibility to abamectin (0.017-0.020), milbemectin (0.028-0.031), cyantraniliprole (0.04-0.09), chloranthraniliprole (0.15-0.56), flubendiamide (0.03-0.17), spinosad (0.90-1.37), spinetoram (0.88-1.01), lufenuron (0.10-0.30), indoxacarb (0.32-0.64), chlorfenapyr (1.01-1.06), and *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (1.67-2.85). Moreover, observed that field population of *P. xylostella* developed abamectin resistance (< 331-fold). The heritability of resistance to chlorfenapyr was $h^2 = 0.90$ the inheritance of resistance was autossomal, monogenic

and incompletely dominant. Compared with susceptible strain, the resistant individuals showed lower reproductive rate (R_0) and intrinsic rate increase (r_m), larval viability, weight of pupae (male and female). These results suggested that there is a fitness costs involved in the chlorfenapyr resistance in *P. xylostella*.

KEY WORDS: Diamondback moth, genetic inheritance, toxicity, fitness costs.

BASES PARA O MANEJO DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:
PLUTELLIDAE) A INSETICIDAS: SUSCETIBILIDADE E GENÉTICA DA RESISTÊNCIA A
CLORFENAPIR

por

JACONIAS ESCÓCIO LIMA NETO

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

Outubro – 2016

BASES PARA O MANEJO DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:
PLUTELLIDAE) A INSETICIDAS: SUSCETIBILIDADE E GENÉTICA DA RESISTÊNCIA A
CLORFENAPIR

por

JACONIAS ESCÓCIO LIMA NETO

Comitê de Orientação:

Herbert Álvaro de Abreu Siqueira – UFRPE

Wellington Marques da Silva – PDJ/CNPq

BASES PARA O MANEJO DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:
PLUTELLIDAE) A INSETICIDAS: SUSCETIBILIDADE E GENÉTICA DA RESISTÊNCIA A
CLORFENAPIR

por

JACONIAS ESCÓCIO LIMA NETO

Orientador: _____
Herbert Álvaro de Abreu Siqueira - UFRPE

Examinadores: _____
Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr. -UFRPE

José Vargas de Oliveira -UFRPE

Luziane Rezende Bestete - PNPd/CAPES

Lílian Maria da Solidade Ribeiro - PNPd/CAPES

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, Antônio Edivaldo Barroso Lima e Maria Verediana Costa Freitas, pelo incomensurável amor que continuamente revigora minhas forças na busca do conhecimento próprio e da vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por enxergar neste evento um prolongamento do sacramento da eucaristia.

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida.

Aos meus pais, Seu Edivaldo e a Dona Vera, por toda a credibilidade depositada.

Aos meus irmãos Pedro, Jamille e João Victor, e meu cunhado, Rômulo por estarem sempre em prontidão afável e sem medida.

Aos meus tios, Helena e Chicão por todo carinho e alegria que sempre me concederam.

Aos meus sobrinhos Enzo e Haru por simplesmente existirem.

À minha amada, Susanne de Maria, que esteve comigo o tempo todo mitigando meus ais de maneira ímpar.

Aos amigos: Luiz Carlos, Lourdes, Susana, Zé Maria e Samuel (Samuquinha) pela transferência de esperança e paz.

Aos meus amigos: Guilherme (Guizão), Cristina (Madrecita), Lucas Louco, Gustavo (Guga), Paolo, Jefferson, Lílian, Vaneska, Nane, Liliane, Elaine, Franciele, Camila e todo o entomófilo.

Ao meu orientador professor Herbert Siqueira pelos ensinamentos, credibilidade, compreensão e muita paciência durante todo o curso.

Ao professor Jorge Braz Torres por não medir esforços em esclarecer quaisquer dúvidas.

Aos professores do Manoel Guedes, Reginaldo Barros e José Vargas por serem referência em entomologia para toda minha vida. Além de todos os professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários Darcy, Romildo e Marcelo, pela dedicação nos serviços prestados.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	viii
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA.....	9
2 PADRONIZAÇÃO DE POPULAÇÕES DE <i>Plutella xylostella</i> (L.) REFERÊNCIAS DE SUSCETIBILIDADE A INSETICIDAS E MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA A ABAMECTINA.....	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
INTRODUÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	19
RESULTADOS.....	20
DISCUSSÃO.....	21
AGRADECIMENTOS.....	25
LITERATURA CITADA.....	25
3 GENÉTICA DA RESISTÊNCIA DE <i>Plutella xylostella</i> (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) A CLORFENAPIR: HERDABILIDADE, HERANÇA E CUSTO ADAPTATIVO.....	32
RESUMO	33
ABSTRACT	34

INTRODUÇÃO	35
MATERIAL E MÉTODOS	37
RESULTADOS	42
DISCUSSÃO.....	45
AGRADECIMENTOS.....	48
LITERATURA CITADA.....	48
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A traça-das-brássicas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), é considerada a principal praga de Brassicaceae (Talekar & Shelton 1993, Cheng *et al.* 2008, Zalucki *et al.* 2013). A sua distribuição mundial acompanhou a produção de brássicas por todo o globo, pois sua presença é verificada tanto em regiões de temperaturas elevadas, como é o caso do Nordeste do Brasil, onde foi registrada pela primeira vez em 1928 (Bondar 1928), quanto em regiões onde o frio é mais intenso como no Himalaia (Muthugounder *et al.* 2009). Estudos indicam que *P. xylostella* tenha sua origem na região do Mediterrâneo (Talekar & Shelton 1993), tendo primeiro registro como praga ocorrendo no início do século XX (Charleston & Kfir 2000).

Caracterizada como uma espécie oligófoga, *P. xylostella* tem o hábito alimentar especializado em um determinado grupo de plantas (Ehrlich & Raven 1964). No entanto, já existe indícios de uma certa expansão alimentar em ervilha, *Pisum sativum* L. var. *macrocarpon* (Fabaceae) (Henniges-Janssen *et al.* 2014). Os adultos são de hábito noturno iniciando suas atividades no período crepuscular (Talekar & Shelton 1993). Muitos emergem nas primeiras oito horas do fotoperíodo e o acasalamento acontece no mesmo dia da emergência (Pivnick *et al.* 1990). As fêmeas iniciam a postura após o acasalamento com duração de quatro a dez dias. As fêmeas são prolíferas e podem depositar cerca 350 ovos durante o seu ciclo de vida.

O período de desenvolvimento (ovo-adulto) depende da temperatura ambiental. Por exemplo, a 15 e 35° C o ciclo dura 34 dias e 12 dias, respectivamente (Castelo Branco *et al.* 1997). A maioria dos ovos é colocada no terceiro dia e na superfície abaxial das folhas (Imenes *et al.* 2002). O período de incubação dos ovos varia de três a cinco dias, o que vai depender da

temperatura. Depois da eclosão, as larvas de primeiro ínstar “minam” as folhas, alimentando-se inicialmente do parênquima por dois ou três dias (Talekar & Shelton 1993). Após quatro ínstaes, passam por uma fase de quiescência na pré-pupa. Em seguida, empupam no interior de um pequeno casulo de seda produzido pela lagarta (Talekar & Shelton 1993, Barros & Vendramim 1999). O período pupal dura de quatro a cinco dias podendo variar com a temperatura (Talekar & Shelton 1993).

As perdas econômicas decorrentes das infestações de *P. xylostella* são frequentemente observadas na cultura do repolho (Talekar & Shelton 1993), podendo reduzir até 100% a produção desta hortaliça (Castelo Branco & Guimarães 1990). Em 1993 o custo referente ao controle de *P. xylostella*, no mundo, era algo estimado em US\$ 1 bilhão de dólares por ano (Talekar & Shelton 1993). Apesar de toda tecnologia desenvolvida, no sentido de criar novas moléculas de inseticidas, a traça consegue se estabelecer nos cultivos através do desenvolvimento da resistência a inseticidas. Em 2012 um custo de controle da traça foi estimado entre US\$ 4 a 5 bilhões de dólares por ano, no mundo (Zalucki *et al.* 2012, Furlong *et al.* 2013).

Dentre as dificuldades observadas no controle de *P. xylostella* na cultura do repolho, destaca-se o fato das áreas produzirem a brássica durante o ano todo, com a presença de plantas de diferentes idades, proporcionando à praga quantidade abundante e contínua de alimento (Castelo Branco & Guimarães 1990). Além disso, a alta pressão de seleção através da aplicação de diversos inseticidas, tem acelerado o surgimento de populações resistentes.

O controle de *P. xylostella* deve ser conduzido com a interação de várias táticas de controle, além do químico. Assim, as alternativas de controle podem incluir o uso de variedades resistentes (França & Castelo Branco 1987, Imenes *et al.* 2002), plantas inseticidas (Torres *et al.* 2001), rotação de culturas e eliminação de restos culturais (Castelo Branco 1992). Mas, a realidade do sistema produtivo se restringe, principalmente, ao controle químico e de forma

indiscriminada. Isso tem limitado o potencial sustentável da produção de brássicas pelo fato de acelerar o desenvolvimento da resistência a cada nova molécula que é registrada para o controle.

Dentre os fatores intrínsecos relacionados a dificuldade de controle de *P. xylostella*, estão o comportamento alimentar e a plasticidade genética de *P. xylostella*, sendo este último um atributo que é evidenciado pelas alterações metabólicas e mutações, favorecendo a sobrevivência à exposição de inseticidas de caráter sintético (organofosforados, carbamatos, piretroides, espinosinas e diamidas) e biológico (*Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* e *B. thuringiensis* var. *kurstaki*). Com relação aos fatores extrínsecos, observa-se a uniformidade dos agroecossistemas e a falta de boas práticas agrícolas. Por essa razão, não é raro encontrar populações de *P. xylostella* multirresistentes e isso tem dificultado a implementação de programas de manejo de resistência e conseqüentemente do MIP (Gallo *et al.* 2002).

O Comitê de Ação a Resistência Inseticida (*Insecticide Resistance Action Committee - IRAC*) considera a resistência como uma alteração hereditária na sensibilidade de uma população de praga que é refletida em repetidas falhas de aplicação de um produto por não alcançar o nível esperado de controle quando utilizado as recomendações de rótulo para uma determinada espécie de praga. Neste sentido, a não ocorrência de uma alteração estrutural genética daqueles indivíduos pré-adaptados que sobreviveram a exposição de um determinado xenobiótico, não deve ser considerado resistência. Isto porque a resistência é um fenômeno evolucionário, que ocorre nas populações, resultante da presença de variados biocidas no ambiente que simplesmente selecionam os indivíduos (Yu 2015).

Um outro conceito em relação a resistência a inseticidas não leva em consideração a dose de campo. Desta forma, a resistência é definida como a habilidade de uma determinada linhagem de indivíduos que sobrevivem a doses ou concentrações de um xenobiótico, que seriam letais para a maioria dos indivíduos da espécie, ou seja, há que se considerar uma exposição prévia dos

organismos a um determinado pesticida (Croft *et al.* 1988). A exposição prévia é o critério básico para qualquer que seja a definição de resistência, haja vista que alguns indivíduos possuem a habilidade inata de sobreviver a doses de um tóxico sem haver exposição prévia e mudança evolucionária. Neste caso, a denominação mais apropriada para tal fenômeno seria a tolerância, que não é tida como um processo evolutivo, tipicamente darwiniano, pré-adaptativo, genético e hereditário como a resistência o é (Dobzhansky 1951). O sucesso dos insetos praga frente aos inseticidas é obtido em grande parte pelos mecanismos de resistência adquiridos na história de vida dos indivíduos de uma população.

Nos artrópodes, os principais mecanismos de resistência são: (i) redução da penetração do inseticida, o que geralmente resulta em baixos níveis de resistência; (ii) aumento na taxa de metabolismo do inseticida pela atividade de enzimas monooxigenases dependentes do citocromo P₄₅₀, esterases e glutathione-S-transferases e (iii) a alteração do sítio alvo (Georghiou 1983). O metabolismo enzimático pode afetar todas as classes de inseticidas e a alteração no sítio alvo é o mecanismo com maior especificidade (Georghiou 1983, Oppenoorth 1985, Baffi *et al.* 2008, Brooke 2008). Neste último caso, por exemplo, indivíduos resistentes a piretroide pelo mecanismo de redução na sensibilidade do sítio de ação apresentam os canais de sódio alterados, uma vez que os produtos desse grupo atuam como moduladores dos canais localizados no axônio de células nervosas. O fenótipo da resistência também pode ser observado pelo sequestro do composto em um determinado tecido ou no aumento da sua excreção no organismo (Georghiou 1983).

A resistência pode gerar a insustentabilidade dos agroecossistemas e dos agentes de controle de origem química ou microbiana. A literatura está repleta de registros de casos de resistência a inseticidas para inúmeros artrópodes praga, incluindo inimigos naturais, insetos e ácaros praga, que são resistentes a um ou mais pesticidas (Yu 2015). Neste contexto, podemos

destacar artrópodes praga como *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae), *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) e *P. xylostella* (Georghiou & Lagunes-Tejada 1991). Este último é o inseto praga com maior número de registro de casos de resistência a inseticida e a cada ano este número vem aumentando, sendo que atualmente são registrados 782 casos de resistência a inseticidas para *P. xylostella* (Arthropods Pesticide Resistance Database - APRD).

O manejo da resistência é uma abordagem científica que se ocupa em retardar ou diminuir a resistência das pragas em longo prazo e está inserido no Manejo Integrado de Pragas (MIP). A adoção desta prática se faz necessária diante da perda de longevidade de muitas moléculas inseticidas (IRAC 2016). O manejo da resistência procura contornar as falhas sequenciais de controle. O monitoramento da suscetibilidade é uma das principais atividades do manejo da resistência que pode ajudar a detectar falhas de controle e relacioná-las ou não com resistência a inseticida.

O clorfantriliprole é um inseticida químico pertencente ao grupo das diamidas antranílicas e está no rol dos inseticidas considerados de risco reduzido. Esta diamida antranílica, em menos de três anos de sua entrada no mercado já havia sido detectada a resistência em *P. xylostella* na região do agreste de Pernambuco (Brasil) (Ribeiro *et al.* 2014). Isto por causa da não observação das boas práticas agrícolas, como por exemplo, a rotação de inseticidas. As expectativas com relação ao clorfantriliprole foram alcançadas, pois muitas populações foram suscetíveis a diamida, o que foi mostrado através de linha básica de suscetibilidade (Silva *et al.* 2012), mas o uso indiscriminado limitou a utilização de clorfantriliprole a poucas áreas do Agreste de Pernambuco.

Clorfenapir é outro composto considerado de risco reduzido. Trata-se de um inseticida/acaricida que tem sido amplamente utilizado no Estado de Pernambuco para o controle

de *P. xylostella*. Esta molécula pro-inseticida é ativada por monooxigenases dependentes do citocromo P₄₅₀ e chega às membranas interna e externa das mitocôndrias do inseto ou ácaro causando a extrusão de H⁺ (Black *et al.* 1994). Conseqüentemente, não ocorre o acúmulo de prótons H⁺ necessário para a fosforilação oxidativa de ADP (adenosina difosfato) para produção de ATP (adenosina trifosfato), resultando na paralisação das células e na morte do inseto/ácaro (Sato *et al.* 2007).

As populações de *P. xylostella* tem sofrido alta pressão de seleção por clorfenapir (Pirate) nos agroecossistemas de produção de brássicas, isso tem acelerado a evolução da resistência em graus variando de moderado a alto. A partir da avaliação da suscetibilidade de populações de *P. xylostella* em áreas agrícolas de Pernambuco, detectou-se a resistência a clorfenapir (Lima Neto *et al.* 2016). Para tanto, foi determinada a toxicidade relativa de clorfenapir entre populações de referência em suscetibilidade (laboratório) e de campo. Em seguida, verificou-se os níveis de resistência utilizando parâmetros de mortalidade média (ex. CL₅₀) para inseticidas (Robertson & Preisler 1992). Por tanto, quanto maior for o número de levantamento toxicológico de diferentes inseticidas, para aquelas populações de laboratório (tidas como referência de suscetibilidade), maior será a possibilidade de detecção e monitoramento de populações no campo.

A caracterização da suscetibilidade de populações suscetíveis para diferentes inseticidas é uma ferramenta crucial para os programas de manejo da resistência. Adicionalmente, podemos destacar ainda, que o *background* genético de tais populações contribui para analisar o comportamento de genes relacionados a resistência a inseticida através de cruzamentos recíprocos entre as linhagens suscetíveis e resistentes.

O desenvolvimento da resistência está diretamente ligado ao aumento da frequência de alelos de resistência, que segundo Georghiou & Taylor (1977), inicialmente é baixa, possivelmente 0,0001 - 0,01. Este embasamento está de acordo com Huang *et al.* (2007), que

estimaram a frequência de alelos que conferiam resistência a Cry1Ab (0,0023) em populações de *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Na Austrália, a frequência de alelos conferindo resistência a Cry2Ab foi 0,0018 em *Helicoverpa punctigera* (Wallengren) (Lepidoptera: Noctuidiae) (Downes *et al.* 2010). Contudo, a percentagem de genes de resistência em algumas populações pode ser extremamente alta. Foi o caso de *Anopheles gambiae* (Giles), pois a frequência de alelos resistentes a dieldrin foi 0,59 (Service & Division, 1964, citado por Yu 2015). Portanto, a alta frequência de alelos de resistência aliada a alta dose (ex. CL₉₅) resulta no desenvolvimento acelerado da resistência.

Uma outra variável importante no estabelecimento da resistência é o grau da sua dominância, que contribui para a avaliação de risco da resistência. Por exemplo, quando o padrão da herança da resistência é completamente dominante, aqueles indivíduos resistentes, ao migrarem e copularem com os suscetíveis de outras áreas, gerarão indivíduos com o fenótipo resistente. Este tipo de herança foi observada por Uesugi *et al.* (2002), para a resistência a clorfenapir em *T. urticae*. Para obtermos uma avaliação neste sentido, é necessária uma investigação direcionada pela genética quantitativa, uma ciência que se preocupa em verificar, entre outras coisas, a herdabilidade e a herança daquelas características diferentes entre os indivíduos da população (Falconer 1996).

Neste trabalho, levantamos alguns questionamentos que podem contribuir para a base do manejo da resistência a inseticida em *P. xylostella*. São eles: (i) As populações de *P. xylostella*, referências em suscetibilidade do Laboratório de Interação Inseto-Tóxico (UFRPE), seguem um padrão de suscetibilidade para os principais grupos de inseticidas? (ii) Qual a suscetibilidade de populações de campo de *P. xylostella* para abamectina (não registrado para controle de *P. xylostella*)? (iii) Se há indivíduos resistentes a clorfenapir em populações de campo, qual a

herdabilidade, herança e número de genes relacionados a resistência? (iv) Será que a resistência a clorfenapir tem um custo adaptativo?

Literatura Citada

Arthropods Pesticide Resistance Database. Disponível em: <http://www.pesticideresistance.org/search.php>. Acesso: 21/06/2016.

Barros, R., I.B. Albert Junior, A.J. Oliveira, A.C.F. de Souza & V. de Lopes. 1993. Controle químico da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho. An. Soc. Entomol. Brasil 22: 463-469.

Barros, R. & J.D. Vendramim. 1999. Efeito de cultivares de repolhos utilizados para a criação de *Plutella xylostella* (L.) no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley, (Hymenoptera: Trichogrammatidae). An. Soc. Entomol. Brasil 28: 469-476.

Baffi, M.A., G.R.L.D. Souza, C.S.D. Sousa, C.R. Ceronb & A.M. Bonetti. 2008. Esterase enzymes involved in pyrethroid and organophosphate resistance in a Brazilian population of *Rhipicephallus (Boophilus) microplus* (Acari, Ixodidae). Mol. Biochem. Parasitol. 160: 70–73.

Brooke, B.D. 2008. *KdR*: can a single mutation produce an entire insecticide resistance phenotype? Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 102: 524-525.

Black, B.C., R.M. Hollingworth, K.I. Ahammadsahib, C.D. Kukel & S. Donovan. 1994. Insecticidal action and mitochondrial uncoupling activity of AC 303630 and related halogenated pyrroles. Pest. Biochem. Physiol. 50: 115-128.

Bondar, G. 1928. Séria praga de repolho na Bahia e *Plutella maculipennis* Curtis. Chac., Quint. 38, 602p.

Castelo Branco, M. & A.L. Guimarães. 1990. Controle da traça-das-crucíferas em repolho, 1989. Hortic. Bras. 8: 24- 25.

Castelo Branco, M. 1992. Flutuação populacional da traça-do-tomateiro na região do Distrito Federal. Hortic. Bras. 10: 33-34.

Castelo Branco, M., F.M.H. França & G.L. Villas Bôas. 1997. Artropódes de importância agrícola: Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*. Brasília, Embrapa Hortaliças, 4p. (Comunicado Técnico 4).

Charleston, D.S. & R. Kfir. 2000. The possibility of using Indian mustard, *Brassica juncea*, as a trap crop for the diamondback moth, *Plutella xylostella*, in South Africa. Crop Prot. 19:455–460.

- Cheng, L., G. Yu, Z. Chen & Z. Li. 2008.** Insensitive acetylcholine receptor conferring Resistance of *Plutella xylostella* to nereistoxin insecticides. *Agric. Sci. Chinese* 7: 847-852.
- Croft, B.A., B.A. Roft & B. Van. 1988.** Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. *Exp. Appl. Acarol.* 4: 277-300.
- Dobzhansky, T. 1951.** Genetics and the origin of species. 3rd ed. New York, Columbia Univ. Press. 364p.
- Downes, S., T.L. Parker & R.J. Mahon. 2010.** Characteristics of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry2Ab in a strain of *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae) isolated from a field population. *J. Econ. Entomol.* 6: 2147-2154.
- Ehrlich, P.R. & P.H. Raven. 1964.** Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.
- Falconer, D.S. 1996.** Introduction to quantitative genetics. Longman, University of Edinburgh, London.
- França, F. H. & M. Castelo Branco, 1987.** Resistência varietal a insetos e ácaros em hortaliças. *Hortic. Bras.* 5: 8-11.
- Furlong, M.J., D.J. Wright, L.M. Dossall. 2013.** Diamondback Moth Ecology and Management: Problems, Progress and Prospects. *Annu. Rev. Entomol.* 58: 517-541.
- Georghiou, G.P. 1983.** Management of resistance in arthropods, p. 769-792. In G.P. Georghiou, & T. Saito (eds.), *Pest resistance to pesticides: challenges and prospects*. New York, Plenum Press, 797p.
- Georghiou, G. & A. Lagunes-Tejada. 1991.** The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. An index of cases reported through 1989. Rome, FAO, 318p.
- Georghiou, G.P. & C.E. Taylor. 1977.** Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 653-658.
- Henniges-Janssen, K., D.G. Heckel & A.T. Groot. 2014.** Preference of diamondback moth larvae for novel and original host plant after host range expansion. *Insects* 5: 793-804.
- Huang, F., B.R. Leonard & X. Wu. 2007 b.** Resistance of sugarcane borer to *Bacillus thuringiensis*-Cry1Ab toxin. *Entomol. Exp. Appl.* 124: 117-123.
- Imenes, S.D.L., T.B. Campos, S.M. Rodrigues Netto & E.C. Ergmann. 2002.** Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em cultivo orgânico de repolho. *Arq. Inst. Biol.* 69: 81-84.

- Insecticide Resistance Action Committee.** Disponível em: <http://www.irac-online.org/about/resistance/>. Acesso: 21/06/2016.
- 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: 630-640.
- Muthugounder, M., S.N. Sushil, G. Selvakumar, J.C. Bhatt, G.T. Gujarb & H. Gupta. 2009.** S. Differential toxicity of *Bacillus thuringiensis* strains and their crystal toxins against high-altitude Himalayan populations of diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Pest Manag. Sci.* 65: 27-33.
- Oppenoorth, F.J. 1985.** Biochemistry and genetics of insecticide resistance, p. 731–773. In G.A. Kerkut & L.I. Gilbert. (eds.), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry And Pharmacology*. Oxford, Pergamon Press, 853p.
- Pivinick, K.A., B.J. Jarvis, C. Gillot, G.T. Slater & E.W. Underhill. 1990.** Daily patterns of reproductive activity and influence of adult density and exposure to host plants on reproduction and the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Environ. Entomol.* 19: 587-593.
- Ribeiro, L.M.S., V. Wanderley-Teixeira, H.N. Ferreira, Á.A.C. Teixeira & H.A.A. Siqueira. 2014.** Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Bull. Entomol. Res.* 8: 1-9.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** *Pesticide Bioassays with Arthropods*. 1st ed. CRC. Boca Raton, FL Press, 127p.
- Sato, E.M., M.Z. da Silva, K.G. Cangani & A. Raga. 2007.** Seleções para resistência e suscetibilidade, detecção e monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* ao acaricida clorfenapir. *Bragantia* 66: 89-95.
- Silva, J.E., H.A.A. Siqueira, T.B.M. Silva, M.R. de Campos & R. Barros. 2012.** Baseline susceptibility to chlorantraniliprole of Brazilian populations of *Plutella xylostella*. *Crop Prot.* 35: 97-101.
- Talekar, N.S. & A.M. Shelton. 1993.** Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 275-301.
- Torres, A.L., R. Barros & J.V. Oliveira. 2001.** Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotrop. Entomol.* 30:151-156.
- Uesugi, R., K. Goka & M.H. Osakabe. 2002.** Genetic basis of resistances to chlorfenapyr and etoxazole in the two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *J Econ. Entomol.* 95:1267–1274.

Yu, L., W. Tang, W. He, X. Ma, L. Vasseur, S.W. Baxter, G. Yang, S. Huang, F. Song & M. You. 2015. Characterization and expression of the cytochrome P450 gene family in diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). Sci. Report 5: 1-10.

Zalucki, M.P., A. Shabbir, R. Silva, D. Adamson, L. Shu-Sheng & M.J. Furlong. 2012. Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string? J. Econ. Entomol. 105: 1115-1129.

CAPÍTULO 2

PADRONIZAÇÃO DE POPULAÇÕES DE *Plutella xylostella* (L.) REFERÊNCIAS DE SUSCETIBILIDADE A INSETICIDAS E MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA A ABAMECTINA¹

JACONIAS E. LIMA NETO², GUSTAVO P. SILVA² KAYO C. T. DANTAS E HERBERT A. A. SIQUEIRA²

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

¹Lima Neto, J.E., Silva, G.P., Dantas, K.C.T. & H.A.A. Siqueira. Caracterização de populações de *Plutella xylostella* (L.) referências de suscetibilidade a inseticidas e monitoramento da resistência a abamectina. A ser submetido.

RESUMO – A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) é a principal praga da família Brassicaceae. Além disso, possui alta capacidade de desenvolver resistência a inseticidas. Na detecção e monitoramento da resistência a inseticida é fundamental que se tenha populações suscetíveis de referências. Por isso, o objetivo deste trabalho foi verificar um padrão de suscetibilidade para diferentes inseticidas em duas populações de laboratório de *P. xylostella* de Recife (REC) e Piedade (PIED); e fazer o monitoramento da resistência a abamectina em oito populações de campo (Chã Grande, Capitão Poço, Gravatá, Jupi, Bezerros, Clorfenapir-SEL, Camocim I e Camocim II). Para tanto, bioensaios de concentração-mortalidade foram feitos para 17 inseticidas pertencentes aos grupos avermectina, diamida, espinosina, oxadiazina, benzoiluréia, diacilhidrazina, análogo do pirazol, *Bacillus thuringiensis*, piretroide, organofosforado e carbamato. Baseado nas CL_{50s} (mg i. a./L), as populações de laboratório REC e PIED exibiram padrão de suscetibilidade para abamectina (0,017-0,020), milbemectina (0,028-0,031), ciantraniliprole (0,04-0,09), clorraniliprole (0,15-0,56), flubendiamida (0,03-0,17), espinosade (0,9-1,37), espinetoram (0,88-1,01), lufenuron (0,10-0,30), indoxacarbe (0,32-0,64), clorfenapir (1,01-1,06) e *Btk* (1,67-2,85). Além disso, verificamos que as populações de campo de *P. xylostella*, desenvolveram resistência a abamectina. As populações mais resistentes foram Jupi (RR = 33 vezes) Camocim II (RR = 155 vezes) e Camocim I (RR = 331 vezes).

PALAVRAS-CHAVE: Toxicidade, curva de concentração-resposta, mortalidade, padronização

STANDARDIZATION OF *Plutella xylostella* (L.) POPULATIONS REFERENCES OF
SUSCEPTIBILITY TO INSECTICIDES AND MONITORING OF ABAMECTIN
RESISTANCE

ABSTRACT – The diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) is the major pest of the Brassicaceae family, and well known for its ability to develop resistance to insecticides. In the detection and monitoring of insecticide resistance is essential to have susceptible populations for establishing resistance status. Therefore, the objective of this study was to determine a pattern of susceptibility to different insecticides in two laboratory populations of *P. xylostella* of Recife (REC) and Piedade (PIED). Also, to survey abamectin resistance in eight field populations of *P. xylostella*. Concentration-mortality bioassays were performed with 17 insecticides belonging to the avermectin, diamide, spinosyn, oxadiazine, benzoylurea, diacylhydrazine, pyrrazole analog, *Bacillus thuringiensis*, pyrethroid, organophosphate and carbamate. Based on LC₅₀ (mg i. a./L) values, laboratory populations REC and PIED showed high susceptibility to abamectin (0.017-0.020), mylbemectin (0.028-0.031), cyantraniliprole (0.04-0.09), chlorantraniliprole (0.15-0.56), flubendiamide (0.03-0.17), spinosad (0.9-1.37), spinetoram (0.88-1.01), lufenuron (0.10-0.30), indoxacarb (0.32-0.64), chlorfenapyr (1.01-1.06), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (1.67-2.85), and cartap (32.28-57.39). However, they were not much susceptible to pyrethroids (LC₅₀), organophosphate (LC₅₀) and carbamates (LC₅₀). Survey of abamectin resistance in field populations of *P. xylostella* showed that resistance is already developed in some of the local populations, as Jupi (RR = 33-fold) Camocim II (RR = 155-fold) and Camocim I (RR = 331-fold).

KEY WORDS: Toxicity, concentration-response curve, mortality, standardization

Introdução

A suscetibilidade de lepidópteros praga é um recurso natural cada vez mais escasso nos agroecossistemas. Provavelmente, isto ocorre por causa da alta pressão de seleção feita pela utilização indiscriminada de inseticidas. Muitas pragas que tem a capacidade de evoluir rapidamente para resistência são favorecidas. Neste sentido, destaca-se a traça-das-brássicas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), que é praga-chave da família Brassicaceae (Talekar & Shelton 1993) e possui registros de resistência a praticamente todos inseticidas. O número de registro de resistência vem aumentando consideravelmente (>780 registros) (*Arthropod Pesticide Resistance Database – APRD*, 2016). A tendência é aumentar, pois o controle químico é o principal método utilizado na supressão de *P. xylostella* (Talekar & Shelton 1993). Mais de quatro pulverizações por semana já foram registradas para o controle de *P. xylostella* no Estado de Pernambuco (Oliveira *et al.* 2011). De acordo com o APRD (2015), *P. xylostella* tinha evoluído para resistência a aproximadamente 91 compostos pertencentes aos grupos dos organoclorados, organofosforados, piretroides, nereistoxinas e seus derivados (p.e. cartap), análogos da benzoiluréia, *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), avermectinas, milbemectinas, espinosinas, diamidas, indoxacarbe e diacilhidrazida. Isso tem elevado os custos de produção de brássicas, já que o custo de controle de *P. xylostella* pode variar de 4 a 5 bilhões de dólares por ano no mundo (Zalucki *et al.* 2012, Furlong *et al.* 2013).

As populações de *P. xylostella* suscetíveis que são mantidas em laboratório possuem um importante papel na detecção e monitoramento da resistência. Além disso, são populações que geralmente apresentam um *background* genético diferenciado, quando comparado com as populações de campo. Portanto, podem ser utilizadas em cruzamentos com populações de campo para determinar o padrão de herança da resistência em populações de campo. Este tipo de investigação pode ser feita através de cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos entre as

populações suscetíveis e resistentes. Neste contexto, destacamos a população ROTH (UK), que foi utilizada nos cruzamentos recíprocos com populações de campo para obtenção da caracterização da resistência a abamectina (Pu *et al.* 2010) e deltametrina (Balasubramani *et al.* 2008). Nos Estados Unidos, a população Geneva-88 foi fundamental na primeira detecção de resistência de *P. xylostella* a *Bacillus thuringiensis* nas populações de campo na América Central (Honduras, Guatemala, Nicarágua e Costa Rica) (Perez & Shelton 1997).

Novas moléculas de inseticidas estão registradas na cultura do repolho para controle de *P. xylostella*. Alguns desses inseticidas, em determinadas áreas, ainda estão controlando a *P. xylostella* no nordeste do Brasil (Agreste de Pernambuco). Assim, podemos destacar a suscetibilidade de populações de campo para espinosade (Oliveira *et al.* 2011), clorfenapir (Lima Neto *et al.* 2016), indoxacarbe e lufenurom (Santos *et al.* 2011) e clorantraniliprole (Da Silva *et al.* 2012). A suscetibilidade de populações de campo para abamectina ainda não foi verificada para *P. xylostella* no Estado de Pernambuco. Para países como a China, Estados Unidos e a Índia, este inseticida é uma importante alternativa de controle de *P. xylostella*, mas apesar de não ser registrado para o controle da traça no Brasil, é relevante que se faça o levantamento da suscetibilidade para que futuramente possa também ser uma alternativa de controle de *P. xylostella*.

Desde 2009 o Laboratório de Interação Inseto-Tóxico (LIIT) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) tem monitorado e estudado o problema de resistência a inseticidas em *P. xylostella* no Agreste pernambucano, porém não foi verificada a adoção consistente das boas práticas de manejo da resistência entre os agricultores, como a rotação de inseticidas no controle de *P. xylostella*. Portanto, alguns dos inseticidas supracitados foram mais frequentemente utilizados, o que acelerou a evolução da resistência nas populações de campo.

Estudos mostraram que algumas populações de campo apresentaram altos níveis de resistência para clorantraniliprole (Ribeiro *et al.* 2014), lufenurom (Santos *et al.* 2011), clorfenapir e espinosade (Lima Neto *et al.* 2016). A detecção da resistência para estas inseticidas foi obtida através do método de toxicidade relativa (Robertson *et al.* 2007), utilizando populações de *P. xylostella* referência em suscetibilidade, mantidas no LIIT-UFRPE. No entanto, para quais inseticidas as populações do LIIT-UFRPE seguem um padrão de referência em suscetibilidade? Qual a suscetibilidade de populações de campo para abamectina? Portanto, o objetivo deste trabalho foi (i) verificar se as populações de *P. xylostella* do LIIT-UFRPE podem ser caracterizadas como padrão de suscetibilidade para diferentes inseticidas e (ii) realizar o levantamento da suscetibilidade de populações de campo de *P. xylostella* para abamectina.

Material e Métodos

Obtenção das Populações de *Plutella xylostella* de Laboratório. A primeira população de *P. xylostella* a ser mantida no LIIT foi originária do Município de Recife-PE (2006) e a segunda foi do Município de Piedade-SP (2009), as quais estão denominadas como REC e PIED, respectivamente. As populações foram coletadas em *Brassica oleracea* var. *capitata*. As populações possuem em seu histórico a exposição a piretroides, organofosforados e carbamatos. A criação foi mantida de acordo com um método adaptado de Barros & Vendramim (1999).

Bioensaios. Os bioensaios de concentração-mortalidade utilizados para a obtenção da toxicidade dos inseticidas para *P. xylostella* foi o método de imersão de folha N° 18 do IRAC (*Insecticide Resistance Action Comitte*) (www.irc-online.org). Primeiramente, foi feito um pré-teste para cada inseticida de modo que ocorresse mortalidade entre 0 e 100%. Os inseticidas utilizados neste trabalho foram: abamectina (Abamectin Nortox[®] 18 g/L – Nortox S/A) , milbemectina (Milbeknock 51,54 g/L – Ihara BR S/A), clorantraniliprole (Premio[®] 200 g/L – DuPont),

ciantraniliprole (Benevia[®] 100 g/L – DuPont), flubendiamida (Belt[®] 480 g/L – Bayer CropScience), espinosade (Tracer[®] 480 g/L – Dow AgroSciences), espinetoram (Delegate[®] 250 g/Kg – Dow AgroSciences), lufenuron (Match[®] 50 g/L – Syngenta), metoxifenoza (Intrepid[®] 240 g/L – Dow AgroSciences), indoxacarbe (Avatar[®] 150 g/L – DuPont), clorfenapir (Pirate[®] 240 g/L – Basf), *Bacillus thuringiensis* var. aizawai (Xentari[®] 540 g/kg - Sumitomo Chemical BR) *B. thuringiensis* var. kurstaki (Dipel[®] 33,60 g/L - Sumitomo Chemical BR), deltametrina (Decis[®] 25 g/L - Bayer CropScience), alfa-cipermetrina (Fastac[®] 100 g/L – Basf S/A), cartape (Cartap[®] BR 500 g/L – Sumitomo Chemical BR) e malatiom (Malathion[®] 500 g/L – Cheminova Brasil).

No mínimo, cinco concentrações foram testadas para obtenção da curva de concentração-mortalidade. Após cada concentração foi adicionado 0,01% de Triton (X-100) como surfactante, sendo que o controle foi apenas água e surfactante. Para cada concentração, quatro discos de folhas jovens de *Brassica oleracea* var. *acephala*, foram cortadas em formato circular com 5 cm de diâmetro e foram imersas durante 10 segundos na solução e colocados para secar em temperatura de sala. Os discos foram individualizados em placas de Petri (60 x 15 mm) contendo papel filtro (5 cm de diâmetro) umedecidos com água. No mínimo, dez lagartas de segundo ínstar foram transferidas para cada placa com o auxílio de pincel. Todos os bioensaios tiveram duas repetições e foram mantidos em câmaras climáticas (B.O.D.) com temperatura de $27 \pm 1^\circ \text{C}$, U.R. de $65 \pm 5\%$ e fotoperíodo 12 h. A mortalidade foi avaliada após 96 horas de exposição aos inseticidas dos grupos das diamidas, biológico (*Bt*) e fisiológicos (lufenuron e metoxifenoza). Para os demais inseticidas a mortalidade foi avaliada após 72 horas de exposição. O critério de mortalidade baseou-se nas lagartas que não conseguiram mover-se por pelo menos a extensão do seu comprimento.

No levantamento da suscetibilidade de populações de campo de *P. xylostella* para abamectina, foram utilizadas as populações originárias de Capitão Poço (PA), Gravatá (PE), Jupi (PE), Camocim de São Félix (PE) (Camocim I e II), Bezerros (PE), Chã Grande e uma população de Bezerros selecionada para resistência a clorfenpir (Clorfenpir-SEL). O método de bioensaio utilizado nesta avaliação foi o mesmo descrito anteriormente.

Análise de Dados. Os dados de mortalidade foram corrigidos, quando necessário, pela mortalidade do controle (Abbott 1925) e submetidos à análise de Probit (Finney 1971) utilizando o programa POLO – PLUS (Leora-Software 2005) para a obtenção das CL_{50s} e CL_{95s} . A razão de toxicidade foi calculada pelo método de Robertson *et al.* (2007).

Resultados

Os dados de mortalidade das lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* resultaram nas curvas de concentração-mortalidade para todos os inseticidas avaliados, as quais se ajustaram ao modelo de Probit (χ^2 não significativo, $P > 0,05$) (Tabela 1). Baseado nas CL_{50s} em mg i.a./L, os inseticidas mais tóxicos para as duas populações de laboratório foram abamectina (PIED=0,017; REC=0,020) e milbemectina (PIED=0,028; REC=0,030) (Avermectinas), ciantraniliprole (PIED=0,04; REC=0,09), flubendiamida (REC=0,03; PIED=0,17) e clorantraniliprole (REC=0,15; PIED=0,56) (Diamidas), lufenuron (REC=0,1; PIED=0,3) (Benzoiluréia), indoxacarbe (REC=0,32; PIED=0,64) (Oxadiazina), espinosade (REC=0,99; PIED=1,37) e espinetoram (REC=0,88; PIED=1,01) (Espinósinas), clorfenapir (PIED=1,01; REC=1,06) (Análogo do pirazol) e *Btk* (REC=1,67; PIED=2,85) (Microbiano) (Tabela 1). As populações foram menos suscetíveis a cartap (PIED=32,28; REC=57,39) (Tiocarbamato) e malation (REC=57,37; PIED=78,95) (Organofosforado). Aqueles que tiveram toxicidade intermediária foram deltametrina (REC=3,46; PIED=13,21) e alfa-cipermetrina (REC=30,77; PIED=141,60)

(Piretroide), *Bta* (REC=10,13; PIED=14,65) (Biológico) e metoxifenoza (REC=10,70; PIED=18,90) (Diacilhidrazina) (Tabela 1).

Quando verificada a toxicidade relativa (TR) (Robertson *et al.* 2007) baseada nas CL_{50} s (maior/menor), as populações REC e PIED diferiram em suscetibilidade para os inseticidas clorantniliprole (TR=3,76 – PIED), ciantraniliprole (TR=2,54 – REC), flubendiamida (TR=7,00 – PIED), lufenurum (TR=3,00 – PIED), indoxacarbe (TR=2,03 – PIED), *Btk* (TR=1,71 – PIED), deltametrina (TR=3,81 – PIED), metoxifenoza (TR=1,80 – PIED), alfa-cipermetrina (TR=4,60 – PIED) e cartape (TR=1,78 – REC).

No levantamento feito para abamectina, que incluiu as populações de *P. xylostella* de campo, os valores de CL_{50} variaram de 0,017 (PIED) a 6,89 mg i.a./L (Camocim I). As populações de campo mais suscetíveis a abamectina foram Capitão Poço (PA) (RR = 1,85 vezes), Bezerros (RR = 5,88 vezes), Gravatá (RR = 6,69 vezes), Clorfenapir-SEL (população selecionada com clorfenapir) (RR = 24,64 vezes), Jupi (RR = 33,0 vezes), Camocim II (RR = 154,57 vezes) e Camocim I (RR = 331,36 vezes) (Tabela 2).

Discussão

A suscetibilidade de populações de *P. xylostella* é um valioso recurso natural que vem se perdendo pelo uso indiscriminado de inseticidas. A resistência a inseticidas está cada vez mais recorrente e é um dos grandes entraves para o sucesso da produção de brássicas no mundo. A caracterização das populações de laboratório, no que se refere a suscetibilidade, contribui para a detecção, monitoramento e o manejo da resistência a inseticidas. Neste estudo, duas populações de laboratório (Recife e Piedade) mostraram-se suscetíveis à maioria dos inseticidas usualmente usados para a supressão de *P. xylostella*. No entanto, elas foram particularmente tolerantes a alguns grupos mais tradicionais como os piretroides, organofosforados e derivados de nereistoxinas. As

populações exibiram alta suscetibilidade para avermectinas e milbemicinas (abamectina e milbemectina, respectivamente), não diferindo de resultados observados anteriormente em outras regiões cujas populações de *P. xylostella* suscetíveis exibiram valores de CL₅₀ iguais a 0,020 e 0,021 (Zhang *et al.* 2016, Anjum & Wright 2016). Além disso, foram ainda mais suscetíveis do que as populações avaliadas por Castelo Branco & de Melo (2002) (CL₅₀ = 0,17), Liu *et al.* (2015 a) (CL₅₀=1,74), Xia *et al.* (2014) (CL₅₀ = 0,33) e Jiang *et al.* (2015) (CL₅₀ = 0,63). Os valores de CL₅₀ para abamectina não diferem também daqueles avaliados por Santos *et al.* (2011) e Oliveira *et al.* (2011) que observaram variações de CL₅₀ entre 0,01-0,74 e 0,007-0,136, respectivamente. Portanto, demonstrando que as populações refletem ainda aqueles resultados de suscetibilidade observados em gerações anteriores.

Quanto às diamidas (ciantraniliprole, clorantraniliprole e flubendiamida), as populações também apresentaram suscetibilidade semelhante às populações de laboratório dos estudos de Liu *et al.* (2015 a), Liu *et al.* (2015 b) e Zhang *et al.* (2016). Em populações de *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) (Campos *et al.* 2014) e *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae) (Wu *et al.* 2014) foi observado o mesmo padrão de suscetibilidade.

As espinosinas (espinosade e espinetoram) apresentaram alta toxicidade para as populações de laboratório (REC e PIED). Essas populações não possuem histórico de exposição para àquele grupo de inseticidas e esse padrão de suscetibilidade natural foi também observado por Xia *et al.* (2014), Liu *et al.* (2015 a), Jiang *et al.* (2015), e Anjum & Wright (2016). Contudo, as populações REC e PIED se mostraram mais tolerantes do que em algumas populações estudadas por Li *et al.* (2015 b) e Zhang *et al.* (2016).

O representante das oxadiazinas neste trabalho é o indoxacarbe. Para este inseticida as populações REC e PIED foram altamente suscetíveis. Os valores de CL₅₀ para aquelas populações estão próximos dos valores obtidos por Eziah *et al.* (2008), Santos *et al.* (2011), Shao *et al.* (2013)

e Anjum & Wright (2016). No entanto, as populações deste estudo foram mais tolerantes que a população suscetível do Reino Unido (UK-LAB) (Sayyed *et al.* 2005). Outro composto importante no controle de *P. xylostella*, é o clorfenapir, que após a resistência a clorantraniliprole no Agreste pernambucano (Ribeiro *et al.* 2014), vem sendo maciçamente utilizado nas pulverizações. Para esse inseticida/acaricida, verificamos que as populações de laboratório também foram suscetíveis. Tal resultado está de acordo com Xia *et al.* (2014), Liu *et al.* (2015 b) e Jiang *et al.* (2015). A mesma tendência de suscetibilidade segue em *T. absoluta* (Silva *et al.* 2016). Assim, esses resultados indicam que as populações REC e PIED podem ser uma referência em suscetibilidade para indoxacarbe (Oxadiazina) e clorfenapir (Análogo do pirazol).

Com relação aos inseticidas reguladores de crescimento, observou-se que lufenuron (Inibidor da biossíntese de quitina) foi mais tóxico que metoxifenoazida (agonista da 20-hidroxiecdisona [acelerador de crescimento]). As populações REC e PIED foram mais suscetíveis a benzoiluréia do que as populações estudadas por Santos *et al.* (2011) e Nasir *et al.* (2013). E mais ainda do que as observadas por Shao *et al.* (2013), Xia *et al.* (2014), Jiang *et al.* (2015). Quanto a metoxifenoazida, a suscetibilidade das populações de laboratório não seguiu o mesmo padrão obtido para lufenuron, mas não deixa de ser uma população de referência em suscetibilidade, pois as populações de laboratório não apresentam histórico de exposição para aquele composto. Além disso, observou-se que a CL_{50} (10,70) e a CL_{95} (54,38) de REC foi 22 e 4,4 vezes menor que a dose de campo (240 mg/L), respectivamente.

O histórico de exposição de REC e PIED inclui piretroides, carbamatos e organofosforados. Esse fato pode explicar a baixa suscetibilidade daquelas populações para deltametrina, alfa-cipermetrina, cartape e malation. A população REC foi a mais suscetível para deltametrina ($CL_{50}=3,75$), no entanto, não seguiu os padrões de suscetibilidade a piretroides observados por Sayyed *et al.* (2005), Balasubramani (2008) e Anjum & Wright (2016). As formulações de *B.*

thuringiensis apresentaram toxicidade para REC e PIED semelhante à observada em populações suscetíveis estudadas por Wei & Fadomiro (2013) e Jiang *et al.* (2015). No entanto, REC e PIED foram mais tolerantes a *Bta*, com destaque para a população PIED. Mas já foram registradas populações altamente suscetíveis a *B. thuringiensis* (Idris *et al.* 2004). Os resultados deste trabalho refletem o fato das populações REC e PIED não terem em seus históricos exposição aos grupos das avermectinas, milbemectinas, diamidas, espinosinas, benzoiluréia, oxadiazina e análogos do pirazol. As populações REC e PIED podem ser referência em suscetibilidade para a maioria dos grupos de inseticidas estudados, com destaque para aqueles inseticidas relativamente novos e de risco reduzido.

O monitoramento feito para abamectina sugere que as populações de *P. xylostella* de campo das regiões de Jupi, Camocim II e Camocim I desenvolveram resistência a abamectina variando de moderada a alta. Apesar de em muitos países abamectina ter registro para controle de *P. xylostella*, no Brasil não ainda não há. Portanto, a resistência aqui registrada pode ser explicada pelo fato das populações serem sofrerem alta pressão de seleção por diferentes inseticidas e modos de ação, resultando em populações multirresistentes e com alta taxa metabólica detoxificativa.

Dentre os inseticidas utilizados para o controle de *P. xylostella*, clorfenapir é um dos mais recorrentes entre os produtores de brássicas do Agreste pernambucano. Neste sentido, é coerente considerar que a alta frequência do gene(s) de resistência presentes na população selecionada com clorfenapir (Clorfenapir-SEL), tenha levado tal população a responder diferentemente das linhagens suscetíveis (REC e PIED), o que pode explicar a resistência moderada encontrada para abamectina (RR=24 vezes), além de levantar a hipótese de resistência cruzada positiva.

Agradecimentos

À CAPES pela concessão de bolsa ao primeiro autor, ao CNPq pela concessão de bolsa ao quarto autor e ao Laboratório de Interações Inseto-Tóxico (LIIT) (UFRPE).

Literatura Citada

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265- 267.

Anjum, F. & D. Wright. 2016. Relative toxicity of insecticides to the crucifer pests *Plutella xylostella* and *Myzus persicae* and their natural enemies. *Crop Prot.* 88: 131-136.

Arthropods Pesticide Resistance Database. Disponível em: <http://www.pesticideresistance.org/search.php>. Acessado: 21/06/2016.

Balasubramani, V., A.H. Sayyed & N. Crickmore. 2008. Genetic characterization of resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from India. *J. Econ. Entomol.* 101: 1911-1918.

Barros, R. & J.D. Vendramim. 1999. Efeito de cultivares de repolhos utilizados para a criação de *Plutella xylostella* (L.) no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley, (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 28: 469-476.

Campos, M.R., A.R.S. Rodrigues, W.M. Silva, T.B.M. Silva, V.R.F. Silva, R.N. Guedes & H.A.A. Siqueira. 2014. Spinosad and the tomato borer *Tuta absoluta*: a bioinsecticide, an invasive pest threat, and high insecticide resistance. *Plos One.* 9:8 e103235.

Castelo Branco, M. & C.A. de Melo. 2002. Resistência a abamectin e cartap em populações de traça-das-crucíferas. *Hortic. Bras.* 4: 541-543.

Da-Silva, J.E., H.A.A. Siqueira, T.B.M. Silva, M.R. Campos & R. Barros. 2012. Baseline susceptibility to chlorantraniliprole of Brazilian populations of *Plutella xylostella*. *Crop Prot.* 35: 97-101.

Eziah, V.Y., H.A. Rose, A.D. Clift & S. Mansfield. 2008. Susceptibility of four field populations of the diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) to six insecticides in the Sydney region, New South Wales, Australia. *Australian J. Entomol.* 47: 355-360.

Finney, D. 1971. Probit analysis. Cambridge University Press, Cambridge, 50-80p.

Furlong, M.J., D.J. Wright & L.M. Dossall. 2013. Diamondback moth ecology and management: problems, progress and prospects. *Annu. Rev. Entomol.* 58: 517-541.

- Idris, A.B., A.K. Hussan, & M.T. Siti Hajar. 2004.** Response of three strains of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) on *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* and fipronil. J. Asia-Pac. Entomol. 7: 113-117.
- Insecticide Resistance Action Committee.** Disponível em: <http://www.irac-online.org/about/resistance/>. Acessado: 21/06/2016.
- Jiang, T., S. Wu, T. Yang, C. Zhu & C. Gao. 2015.** Monitoring Field Populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) for Resistance to Eight Insecticides in China. Fla. Entomol. 98: 65-73.
- LeOra Software. 2005.** PoloPlus, POLO for Windows, LeOra Software, Petaluma, CA. Disponível em: (www.LeOraSoftware.com).
- Li, W., J. Zhang, P. Zhang, W. Lin, Q. Lin, Z. Li, F. Hang, Z. Zhang & Y. Lu. 2015.** Baseline susceptibility of *plutella xylostella* (lepidoptera: plutellidae) to the novel insecticide spinetoram in china. J. Econ. Entomol. 108: 736-741.
- 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: 630-640.
- Liu, X., H. Wang, Y. Ning, K. Qiao & K. Wang. 2015a.** Resistance selection and characterization of chlorantraniliprole resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). J. Econ. Entomol. 4: 78-85.
- Liu, X., Y. Ning, H. Wang & K. Wang. 2015b.** Cross-resistance, mode of inheritance, synergism, and fitness effects of cyantraniliprole resistance in *Plutella xylostella*. Entomol. Exp. Appl. 157: 271-278.
- Nasir, M., M. Imran & M. Ahmad. 2013.** Pyrethroids synergize new chemical insecticides in field populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). J. Zool. 45: 629-633.
- Oliveira, A.C., H.A.A. Siqueira, J.E. Silva, J.V. Oliveira & M. Michereff Filho. 2011.** Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. Sci. Agric. 68: 154-159.
- Perez, C.J. & A.M. Shelton. 1997.** Resistance of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* Berliner in Central America. J. Econ. Entomol. 90: 87-93.
- Pu X., Y. Yang, S. Wu & Y. Wu. 2010** Characterisation of abamectin resistance in a field-evolved multiresistant population of *Plutella xylostella*. Pest Manag. Sci. 66: 371-378.
- Ribeiro, L.M.S., V. Wanderley-Teixeira, H.N. Ferreira, Á.A.C. Teixeira & H.A.A. Siqueira. 2014.** Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Bull. Entomol. Res. 104: 88-96.

- Robertson, J.L., N.E. Savin, K.P. Haiganoush, R.M. Russell. 2007.** Bioassays with arthropods. 2nd ed. Boca Raton. CRC Press, 224p.
- Santos, V.C., H.A.A. Siqueira, J.E. Da Silva & M.J.D.C. Farias. 2011.** Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco, Brazil. Neotrop. Entomol. 40: 264-270.
- Sayyed, A.H., M.N.R. Attique & A. Khaliq. 2005.** Stability of field-selected resistance to insecticide in *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae) from Pakistan. J. Appl. Entomol. 129: 542–547.
- Shao Z.R., X. Feng, S. Zhang, Z.Y. Li, J.D. Huang, H.Y. Chen & Z.D. Hu. 2013.** Technological rules for monitoring insecticide resistance in crucifer vegetables diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). China Agriculture Press, Beijing. NY/T2360-2013.
- Silva, T.B.M., W.M. Silva, M.R. Campos, J.E. Silva, L.M.S. Ribeiro & H.A.A. Siqueira. 2016.** Susceptibility levels of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to minor classes of insecticides in Brazil. Crop Prot. 79: 80-86.
- Talekar, N.S. & A.M. Shelton. 1993.** Biology, ecology, and management of the diamondback moth. Annu. Rev. Entomol. 38: 275-301.
- Wei, H. & H.Y. Fadamiro. 2013.** Sex-related larval susceptibility of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to some reduced-risk insecticides. J. Agric. Sci. Technol. 3: 870-877.
- Wu, M., S. Zhang, R. Yao, S. Wu, J. Su & C. Gao. 2014.** Susceptibility of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae), to flubendiamide in China. J. Econ. Entomol. 107: 1250-1255.
- Xia, Y.M., Y.H. Lu, J. Shen, X.W. Gao, H. Qiu & J.H. Li. 2014.** Resistance monitoring for eight insecticides in *Plutella xylostella* in central China. Crop Prot. 63: 131-137.
- Zalucki, M.P., A. Shabbir, R. Silva, D. Adamson, L. Shu-Sheng & M.J. Furlong. 2012.** Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string? J. Econ. Entomol. 105: 1115–1129.
- Zhang, S., X. Zhang, J.S.K. Mao, H. You & J. Li. 2016.** Susceptibility of field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to a selection of insecticides in Central China. Pest. Biochem. Physiology. 132:38-46.

Tabela 1. Toxicidade relativa de diferentes inseticidas para larvas de segundo ínstar de *Plutella xylostella*. T: 25 ± 1°C; U.R.: 65 ± 5% e fotofase de 12 h.

Inseticida	População	N(G) ¹	χ^2 (gl) ²	Inclinação±EP ³	CL ₅₀ (IC95%) ^{4,5}	CL ₉₅ (IC95%) ⁵	TR ₅₀ (IC95%) ⁶
Abamectina	PIED	482(136)	0,73(03)	1,69±0,15	0,017(0,013-0,021)	0,158(0,11-0,23)	-
	REC	543(436)	11,0(06)	1,66±0,13	0,020(0,014-0,027)	0,190(0,12-0,44)	1,20(0,88-1,63)
Milbemectina	PIED	654(147)	3,94(05)	0,77±0,08	0,028(0,019-0,040)	0,370(0,14-1,45)	-
	REC	469(447)	5,12(05)	2,11±0,25	0,030(0,019-0,044)	0,183(0,11-0,39)	1,11(0,69-1,80)
Ciantraniliprole	PIED	534(144)	11,37(06)	0,66±0,07	0,04(0,01-0,09)	12,39(3,55-25,65)	-
	REC	527(444)	13,83(07)	0,97±0,07	0,09(0,05-0,17)	5,00(2,00-18,00)	2,54(1,31-4,91)*
Flubendiamida	REC	470(445)	3,83(07)	0,86±0,15	0,03(0,004-0,06)	2,00(1,01-6,03)	-
	PIED	440(145)	10,85(06)	0,61±0,08	0,17(0,02-0,60)	84,68(20,24-329,00)	7,00(1,51-32,5)*
Clorantraniliprole	REC	472(444)	6,06(05)	1,04±0,09	0,15(0,07-0,26)	5,53(2,83-14,70)	-
	PIED	429(144)	9,73 (05)	1,01±0,10	0,56(0,20-1,18)	23,60(8,23-74,00)	3,76(2,01-7,03)*
Lufenuron	REC	400(430)	11,63(07)	0,90±0,09	0,10(0,04-0,21)	8,39(3,11-44,00)	-
	PIED	401(130)	9,70(06)	0,70±0,08	0,30(0,11-0,71)	71,70(15,52-161,60)	3,00(1,43-6,31)*
Indoxacarbe	REC	693(443)	9,52(05)	1,40±0,13	0,32(0,15-0,50)	4,70(2,78-11,65)	-
	PIED	665(143)	1,54(05)	1,90±0,18	0,64(0,47-0,83)	4,71(3,62-6,66)	2,03(1,34-3,09)*
Espinosade	REC	445(454)	8,74(06)	1,43±0,19	0,99(0,48-1,54)	13,86(8,00-34,91)	-

Tabela 1. Continuação.

	PIED	620(154)	5,88 (05)	2,80±0,24	1,37 (1,14-1,63)	5,31 (4,00-8,20)	1,39(0,95-2,04)
Espinetoram	REC	445(454)	4,08(04)	1,82±0,19	0,88 (0,57-1,26)	7,06 (4,24-17,00)	-
	PIED	355(154)	7,70(04)	1,76±0,19	1,01 (0,53-1,66)	8,63 (4,50-34,00)	1,02(0,65-1,60)
Clorfenapir	PIED	459(142)	12,0(07)	2,74±0,25	1,01(0,77-1,30)	4,04(2,81-7,24)	-
	REC	544(442)	18,5(11)	1,81±0,14	1,06(0,75-1,42)	8,58(5,77-14,98)	1,05(0,80-1,37)
<i>Btk</i>	REC	429(446)	10,4(10)	1,52±0,14	1,67(1,21-2,23)	20,00(12,52-39,02)	-
	PIED	539(146)	7,56(04)	1,43±0,12	2,85(1,57-4,62)	40,14(20,20-134,60)	1,71(1,17-2,49)*
Deltametrina	REC	717(445)	13,0(06)	1,44±0,09	3,46(2,07-5,59)	48,52(28,33-106,1)	-
	PIED	593(145)	6,10(04)	2,63±0,27	13,21(8,83-19,34)	55,85(34,43-135,7)	3,81(1,70-8,54)*
<i>Bta</i>	REC	454(443)	8,31(06)	1,67±0,16	10,13(6,20-14,67)	98,66(57,70-253,24)	-
	PIED	443(143)	9,14(05)	2,29±0,29	14,65(7,85-22,25)	77,00(45,30-241,00)	1,44(0,36-5,84)
Metoxifenoziada	REC	387(435)	3,20(05)	2,33±0,24	10,70(9,00-13,10)	54,38(38,20-37,00)	-
	PIED	327(135)	10,42(06)	1,50±0,13	18,90(12,00-29,00)	233,90(123,10- 680,00)	1,80(1,25-2,50)*
Alfa-cipermetrina	REC	457(448)	6,47(04)	1,75±0,21	30,77(12,90-49,63)	268,12(152,06- 896,46)	-
	PIED	455(148)	6,90(05)	4,17±0,67	141,60(91,50-181,)	351,56(263,40-	4,60(3,15-6,72)*

							682,20)	
Cartap	PIED	433(149)	5,87(05)	2,00±0,20	32,28(22,72-42,37)	213,72(144,02-	-	
						405,19)		
	REC	481(449)	3,97(05)	3,57±0,38	57,39(50,06-65,12)	165,58(135,35-	1,78(1,39-2,29)*	
						221,10)		
Malation	REC	411(453)	9,37(07)	1,32±0,11	57,37(38,80-83,97)	992,19(521,78-		
						2695,0)		
	PIED	529(153)	8,16(08)	1,95±0,24	78,95(53,06-105,6)	548,56(372,96-	1,34(0,94-1,90)	
						1019,6)		

¹Número total de insetos utilizados e Geração. ² Qui-quadrado e Grau de liberdade. ³ Erro padrão. ⁴ Miligramas de ingrediente ativo por litro de água. ⁵ Intervalo de confiança a 95% das estimativas das CL_s. ⁶ Razão de toxicidade: razão das estimativas da CL₅₀ entre a população resistente e suscetível, calculada através do método de Robertson et al. (2007) e. * Razão de toxicidade significativa uma vez que o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

Table 2. Toxicidade relativa de abamectina para larvas de segundo ínstar de *P. xylostella*. T: $27 \pm 1^\circ\text{C}$; U. R. $65 \pm 5\%$ e 12

h fotofase.

População	N ¹	$\chi^2(\text{gl})^d$	Inclinação \pm EP ^b	CL ₅₀ (CI95%) ^c	CL ₉₅ (CI95%) ^c	TR ₅₀ (IC95%) ^e
PIED – SP	241	0,36(3)	1,69 \pm 0,23	0,017(0,011-0,023)	0,16(0,11-0,30)	...
REC – PE	284	8,45(5)	1,20 \pm 0,20	0,020(0,007-0,038)	0,46(0,15-14,94)	1,00(0,59-1,71)
Chã Grande - PE	237	5,70(6)	1,38 \pm 0,19	0,021(0,014-0,028)	0,32(0,18-0,83)	1,00(0,63-1,59)
Capitão Poço - PA	237	8,57(5)	2,17 \pm 0,30	0,038(0,020-0,062)	0,22(0,12-0,89)	1,85(1,11-3,10)*
Bezerros – PE	270	1,80(5)	1,33 \pm 0,31	0,122(0,022-0,261)	2,10(1,12-6,96)	5,88(1,90-17,34)*
Gravatá – PE	248	4,37(7)	0,92 \pm 0,15	0,139(0,020-0,029)	8,71(3,39-77,00)	6,69(2,17-16,40)*
Clorfenapir-SEL	230	3,56(5)	1,13 \pm 0,14	0,512(0,318-0,780)	14,56(7,47-39,79)	24,64(14,24-42,75)*
Jupi – PE	310	9,29(6)	0,80 \pm 0,14	0,68(0,023-2,840)	78,19(19,0-69,99)	33,01(9,29-117,00)*
Camocim II- PE	283	8,39(4)	1,62 \pm 0,22	3,213(1,045-5,47)	33,20(16,44-35,87)	154,5(97,46-245,1)*
Camocim I- PE	252	8,10(5)	1,62 \pm 0,20	6,893(4,000-12,00)	71,13(31,92-367,0)	331,3(211,9-518,1)*

¹Número total de insetos utilizados e Geração. ² Qui-quadrado e Grau de liberdade. ³ Erro padrão. ⁴ Miligramas de ingrediente ativo por litro de água. ⁵ Intervalo de confiança a 95% das estimativas das CL_s. ⁶ Toxicidade Relativa: razão das estimativas da CL₅₀ entre a população resistente e suscetível, calculada através do método de Robertson et al. (2007) e. * Razão de toxicidade significativa uma vez que o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

CAPÍTULO 3

GENÉTICA DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:
PLUTELLIDAE) A CLORFENAPIR: HERDABILIDADE, HERANÇA E CUSTO
ADAPTATIVO¹

JACONIAS E. LIMA. NETO² E HERBERT A. A. SIQUEIRA²

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

¹ Lima-Neto, J.E. & H.A.A. Siqueira. Herança e custo adaptativo da resistência de *Plutella xylostella* (L.) a clorfenapir. A ser submetido.

RESUMO - A *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) é praga-chave das Brassicaceae em todo mundo. A resistência a inseticida tem evoluído para várias moléculas incluindo o clorfenapir, observada em alta frequência em populações do Agreste de Pernambuco. Esta resistência ainda não foi caracterizada quanto aos aspectos genéticos e se existem custos adaptativos, objetivos do presente trabalho. Uma população mista representativa do Agreste (*PxClf-SEL*) foi selecionada em laboratório com concentrações crescentes de clorfenapir (por cinco gerações) e os valores de CL_{50} foram estimados para todas as gerações de seleção utilizando bioensaio de imersão de folha. Estimou-se a herdabilidade e o número de genes a partir destes dados. Cruzamentos recíprocos foram feitos entre as linhagens suscetível e selecionada, além de retrocruzamentos para determinar o padrão de herança da resistência clorfenapir. Por fim, o custo adaptativo (desempenho) da resistência de *P. xylostella* a clorfenapir foi avaliado através de tabelas de vida e fertilidade para as linhagens suscetível, heterozigótica e resistente. A seleção aumentou a resistência de *PxClf-SEL* a clorfenapir [CL_{50} variou de 27,6 (F_1) a 256,5 (F_5) mg clorfenapir/L], com valores de razão de resistência (RR_{50}) variando de 33 vezes (F_1) a 310 vezes (F_5). A herdabilidade realizada (h^2) da resistência de *P. xylostella* para clorfenapir foi 0,90. O padrão da herança da resistência foi autossomal, monogênico e incompletamente dominante. Os indivíduos resistentes tiveram desempenho inferior quanto a taxa líquida de crescimento (R_0), taxa intrínseca de crescimento (r_m), viabilidade larval e peso de pupas quando comparados aos indivíduos suscetíveis. Esses resultados sugerem um custo adaptativo da resistência a clorfenapir em *P. xylostella*.

PALAVRAS-CHAVE: Pirazol, manejo de resistência a inseticidas, evolução da resistência, Lepidoptera, *fitness*

GENETICS OF RESISTANCE OF *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)
TO CHLORFENAPYR: HERITABILITY, INHERITANCE AND ADAPTATIVE COSTS

ABSTRACT - The *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) is a key pest of Brassicaceae worldwide. Insecticide resistance has evolved to various molecules including chlorfenapyr, that was observed at high frequency in the Agreste populations of Pernambuco. This resistance has not yet been characterized as to genetic aspects and there are fitness costs, the goals these work. A representative mixed population of Agreste (*PxClf-SEL*) was selected in the laboratory with increasing concentrations of chlorfenapyr (five generations) and the LC_{50} values were estimated for all generations of selection using leaf-dipping bioassay. The heritability was estimated and the number of genes from these data. Reciprocal crosses were made between susceptible and selected lines, and backcrossing to determine the inheritance pattern of chlorfenapyr resistance. Finally, life table and fertility for the susceptible, heterozygous, and resistant strains evaluate the adaptive value (fitness) of *P. xylostella* resistance to chlorfenapyr. Selecting increased resistance *PxClf-SEL* to chlorfenapyr [LC_{50} ranged from 27.6 (F1) to 256.5 (F5) chlorfenapyr mg/L], with resistance ratio values (RR_{50}) ranging from 33-fold (F1) 310-fold (F5). The realized heritability (h^2) of resistance in *P. xylostella* to chlorfenapyr was 0.90. The pattern of resistance inheritance was autosomal, monogenic and incompletely dominant. The resistant individuals underperformed as the R_0 , r_m , larval viability and pupal weight when compared to susceptible individuals. These results suggest an fitness costs of resistance to chlorfenapyr in *P. xylostella*.

KEYWORDS: Pyrrol, resistance management to insecticides, evolution of resistance, Lepidoptera, fitness

Introdução

A *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Plutellidae) é uma praga altamente destrutiva para a família Brassicaceae e muitos são os fatores que contribuem para seu sucesso como praga na agricultura. Dentre esses fatores destacamos o período curto de geração, alta fecundidade, o caráter oligófoga (Talekar & Shelton 1993) e a sua habilidade de evoluir rapidamente para resistência a inseticidas (Sun *et al.* 2010). Várias populações de campo de *P. xylostella* têm evoluído para a resistência a novos inseticidas como chlorantraniliprole (Ribeiro *et al.* 2014), espinosade (Sayyed & Wright 2006) e indoxacarbe (Nehare *et al.* 2010). A resistência está associada com um custo anual estimado em US\$ 5 bi, que é atribuído ao controle de *P. xylostella* (Furlong *et al.* 2013).

O clorfenapir é um dos inseticidas que recentemente vem sendo amplamente utilizado para o controle de *P. xylostella* no Brasil. Este composto é um pró-inseticida e a remoção oxidativa do grupo N-etoximetil de sua molécula o converte para sua forma tóxica. Nestas condições, após o composto chegar à mitocôndria provoca perdas de prótons H^+ . Consequentemente, tal distúrbio afeta a produção de ATP resultando na falta de energia e morte dos indivíduos suscetíveis expostos (Raghavendra *et al.* 2011). A resistência a clorfenapir em *P. xylostella* é invariavelmente controlada por no mínimo um gene que está presente nos indivíduos de campo e que abre a oportunidade para uma seleção artificial que pode aumentar a frequência na população, levando a uma redução da suscetibilidade dos indivíduos de um determinado agroecossistema.

O sucesso do manejo da resistência a inseticida depende do conhecimento detalhado de suas bases genéticas e do mecanismo envolvido na resistência (Balasubramani *et al.* 2008). Nesse sentido, os estudos da genética quantitativa podem contribuir com o monitoramento, detecção, avaliação de risco e manejo da resistência, particularmente antes da resistência ser detectada (Sayyed *et al.* 2008). Assim, a obtenção da herdabilidade (h^2) (ou herdabilidade em sentido

restrito) é um importante parâmetro para avaliar o risco de evolução da resistência. Tal parâmetro é a razão da variância genética aditiva (V_A) e a variância fenotípica (V_P) (Brookfield 2012). Assim, a herdabilidade no sentido restrito determina o quanto da variação fenotípica se deve ao efeito de fatores aditivos genéticos (Jallow & Hoy 2006), ou a proporção da variância fenotípica que é resultado dos fatores genéticos. A herdabilidade é baseada na estatística de uma ‘partição de variância’, onde podemos perceber as principais variáveis que influenciam na variância fenotípica de uma população. Essa variância pode surgir de diferentes causas (Brookfield 2012). Pelo fato da resistência a inseticida ser um caractere hereditário, estudos genéticos são necessários para o entendimento e desenvolvimento de técnicas que minimizem a rápida evolução da resistência. Através de cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos é possível descobrir padrões monogênicos ou poligênicos de herança. Neste sentido, podemos dizer que é a parte da genética quantitativa que pode resultar no quantitativo de expressão daquele gene(s) na população, identificando aqueles que influenciam em uma propriedade biológica (Griffiths *et al.* 2008).

Outro fator não menos importante a respeito da resistência é o custo adaptativo que pode está relacionado aqueles indivíduos resistentes. Dentre os vários registros a respeito do custo da resistência destacamos os achados de Wang & Wu (2014), Ribeiro *et al.* (2014), Liu *et al.* (2015), para a resistência a abamectina, clorfaniliprole e ciantraniliprole, respectivamente. O conhecimento do “*fitness costs*” associado com a resistência pode ajudar a retardar o desenvolvimento da resistência inseticida tornando o manejo da resistência mais eficiente.

Os produtores do Estado de Pernambuco (particularmente dos municípios de Jupi e Bezerros) têm verificado falhas de controle na utilização de clorfenapir no processo de supressão de *P. xylostella*, e tal fato sugere o desenvolvimento de resistência naquelas áreas. A seleção artificial possibilita investigar o grau de contribuição genética na resistência de *P. xylostella* para clorfenapir, o padrão da herança e o custo adaptativo. Portanto, o objetivo desse estudo foi estimar

a herdabilidade (no sentido restrito), número de genes, herança e custo adaptativo da resistência de *P. xylostella* a clorfenapir.

Material e Métodos

Insetos. As populações de *P. xylostella* foram coletadas de *Brassica oleracea* das áreas produtoras do Estado de Pernambuco (Municípios de Jupi, Bezerros e Boas Novas). Larvas, adultos e pupas foram mantidas no Laboratório de Interação Inseto-Tóxico (LIIT), sendo que as larvas foram alimentadas com folhas de *B. oleracea* var. *acephala* livres de inseticidas e os adultos com solução de mel a 10%, seguindo metodologia adaptada de Barros & Vendramim (1999).

Seleção para Resistência a Clorfenapir em *Plutella xylostella*. Para o experimento de seleção, larvas de segundo ínstar de *P. xylostella* foram expostas a doses crescentes de clorfenapir (Pirate[®], Solução Concentrada, 240 g i.a./L, BASF Brasil) no tratamento de folhas de *B. oleracea* var. *acephala* pelo bioensaio de imersão de folha. A população *P. xylostella* usada para a seleção para a resistência a clorfenapir foi uma população sintética (nomeada *PxClf-SEL*), que compreendia uma mistura de três subpopulações (Bezerros e Boas Novas). Tais populações foram as mais tolerantes a clorfenapir em estudos prévios de suscetibilidade (Lima Neto 2014). Para cada geração 2.000 a 2.500 larvas foram para as concentrações crescentes de clorfenapir. As folhas tratadas foram fornecidas apenas uma vez para as larvas (36h de exposição), em seguida foi fornecido folhas livres de inseticidas até a empupação. Um experimento paralelo foi feito utilizando 100 larvas para verificar a percentagem de sobrevivência em cada geração. As concentrações usadas foram 40, 56, 75, 100 e 150 mg de clorfenapir/L para as gerações F₁, F₂, F₃, F₄ e F₅, respectivamente.

Bioensaios. Bioensaios de imersão de folhas (para cada geração) foram feitos utilizando larvas de segundo ínstar de *P. xylostella* para estimar curvas de concentração-resposta para clorfenapir. Previamente, testes preliminares foram feitos para estabelecer várias concentrações (seis a oito concentrações) entre as respostas variando de 0 a 100% de mortalidade. A formulação de clorfenapir foi diluída em água e Triton X-100 (0,01%) como surfactante usado em todos os bioensaios. Discos de folha de *B. oleracea* var. *acephala* (6 cm de diâmetro) foram imersos nas diferentes soluções e no controle [água + Triton X-100 (0,01%)] durante 10s e colocadas para secar em temperatura de sala por 1–2h (Silva *et al.* 2012). Os discos de folhas foram então transferidos para placas de Petri individualizadas (6 cm diâmetros) forradas com papel filtro umedecido com água. Em seguida, larvas de segundo ínstar (no mínimo 10/ Placa de Petri) foram colocadas em cada disco tratado. Os bioensaios foram mantidos a $27 \pm 0,2$ ° C, umidade relativa de $65 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12:12 (L:E) h. A mortalidade foi avaliada após 48h de exposição. Todos os bioensaios foram repetidos duas vezes na mesma geração.

Herança da Resistência. A herança da resistência foi feita na geração F₇ por causa de uma acentuada queda populacional que justificou a não obtenção da curva de concentração-mortalidade na F₆, optando por dar continuidade com a seleção somente, com a utilização da mesma concentração de seleção da F₅. Para realização desse experimento foram feitos cruzamentos recíprocos entre as populações suscetível (S) e resistente (R). Os adultos virgens foram mantidos em duas gaiolas: (i) contendo primeiro grupo de 25 casais (S ♀ x R ♂) para obtenção da F1 e (ii) contendo segundo grupo de 25 casais (R ♀ x S ♂) para obtenção da F1'. Para cada linhagem foi feito bioensaio de concentração-mortalidade como descrito anteriormente. Para verificar a ligação da resistência com o sexo, as CL_{50s} das curvas da F1 e F1' foram comparadas juntamente com um teste de paralelismo, que levou em conta a inclinação de ambas as curvas. Caso houvesse diferença naqueles parâmetros, não poderíamos considerar a hipótese de

resistência autossomal. As CL_{50s} das F1 e F1' também foram utilizadas para calcular o grau de dominância (D) da resistência (Stone 1968). A estimativa da dominância efetiva dependente da concentração (h) foi obtida através de bioensaio de concentração-mortalidade com as linhagens suscetível, F1-agrupado e resistente (Hartl 2000). Seis concentrações (1,5; 16; 50; 120; 240 e 500 mg a.i./L) e o controle (água com 0,01% TritonX-100) foram utilizadas para submeter os indivíduos F1-agrupado dos cruzamentos recíprocos ($n = 50-55$), resistente ($n = 23-30$) e suscetível ($n = 23-30$). O padrão monogênico da resistência a clorfenapir foi testado através do retrocruzamento entre a F1-agrupada e a linhagem mais distante fenotipicamente, no caso a suscetível (Rec-SS). Neste sentido, a geração F2 obtida do retrocruzamento [(F1-RS ♀ x SS♂), (SS ♀ x F1-RS ♂)], larvas de segundo ínstar foram submetidas a bioensaio de concentração-resposta com clorfenapir em um teste direto para identificar um padrão mono ou polifatorial da resistência. A segregação de 50% do genótipo RS (F1) é a condição para não exclusão da hipótese monogênica da resistência.

Tabela de Vida e Fertilidade de *P. xylostella* sobre Folhas de *Brassica oleracea* L. var. *acephala*. Foram feitas três tabelas de vida para as linhagens suscetível (SS), heterozigota (RS) e resistente (RR) de *P. xylostella*. O objetivo desse experimento foi verificar possível custo adaptativo da resistência a clorfenapir. Para tanto, foi comparado os parâmetros biológico entre os diferentes genótipos. Antes de efetivar o experimento a população selecionada foi mantida sem pressão de seleção por três gerações para minimizar o efeito subletal de clorfenapir. O experimento foi conduzido iniciando com novos cruzamentos recíprocos entre suscetível e resistente como descrito anteriormente, que foram mantidos numa gaiola A. Em uma B, foi mantido somente suscetíveis e na gaiola C, somente resistentes. Vinte casais foram mantidos em cada gaiola. De cada linhagem (suscetível-SS, heterozigoto-RS e resistente-RR) foram coletadas aleatoriamente 100 larvas recém-eclodidas. Em seguida, para cada tratamento foram formados

grupos de 10 larvas, que foram colocadas em placas de Petri (8 cm de diâmetro) perfazendo um total de 10 repetições por tratamento/genótipo. As larvas foram avaliadas até chegarem à fase de pupa. As pupas de machos e fêmeas foram pesadas após 24 horas de idade. Após a emergência dos adultos, 10 casais de cada genótipo (suscetível-SS, heterozigoto-RS e resistente-RR) foram formados e avaliados os períodos pré-reprodutivo, reprodutivo e pós-reprodutivo, razão sexual, número total de ovos por fêmea, número de ovos diário por fêmea e longevidade dos adultos. As avaliações foram feitas uma vez ao dia e sempre às 09:00 horas. A metodologia de criação foi à mesma descrita anteriormente. O número de fêmeas, a idade, número de ovos, razão sexual e sobrevivência foram utilizados para a obtenção dos parâmetros biológicos: A taxa líquida de reprodução (R_0), tempo médio de geração (T), taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m), taxa finita de crescimento (λ) e o tempo para duplicar a população. Esses parâmetros foram obtidos através da metodologia descrita por Birch (1948). O experimento foi mantido a $27 \pm 0,2$ ° C, umidade relativa de $65 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12:12 (L:E) h.

Análise Estatística. Os dados de concentração-mortalidade foram submetidos à análise de Probit (Finney 1971) usando o software Polo-Plus (LeOra Software Co., Petaluma, CA, USA) com a correção da mortalidade no controle (Abbott 1925).

Herdabilidade e Número de Genes. A herdabilidade no sentido restrito (h^2) da resistência a clorfenapir foi estimada usando fórmula $h^2 = R/S$, onde R é a resposta de seleção e S é seleção diferencial (Falconer 1996). O aumento de 10-vezes na resistência a clorfenapir foi estimada usando a fórmula $G = R^{-1}$. A resposta da seleção (R) foi calculada pela fórmula $R = (L_f - L_i)/n$, onde L_f e L_i são respectivamente o log da CL_{50} da 1ª e 5ª gerações e n é o número de gerações submetidas a seleção. A Seleção diferencial (S) foi estimada usando fórmula $S = i \cdot \sigma_F$, onde i é a intensidade de seleção e σ_F é o desvio padrão fenotípico. A intensidade de seleção (i) foi estimada por p , que é a percentagem de indivíduos sobreviventes da seleção. O desvio padrão fenotípico

(σ_F) foi estimada usando fórmula $\sigma_F = \frac{1}{2}(b_i + b_f)^{-1}$, onde b_i e b_f são as inclinações inicial e final das curvas de concentração-mortalidade, respectivamente (Falconer 1996).

Dois métodos foram usados para estimar o número de genes independentes com efeitos aditivos na expressão da resistência inseticida (padrão quantitativo). De acordo com a fórmula de Raymond *et al.* (1987), o número de genes (n_E) foi estimado para cada geração, $n_E = \log_{10} (\% \text{ sobreviventes}) / \log_{10} (1/2)$. O segundo método foi feito de acordo com Lande (1981): $n_E = (\theta_2 - \theta_1)^2 / 8\sigma_s^2$, onde θ_1 e θ_2 correspondem ao $\log_{10} (CL_{50})$ da população suscetível e resistente, respectivamente. Já σ_s^2 pode ser estimado através da fórmula: $\sigma_s^2 = 2 \sigma_{rc}^2 - 2 \sigma_{F1}^2 - 0,5 \sigma_1^2 + 0,5 \sigma_2^2$, onde σ_{rc}^2 , σ_{F1}^2 , σ_1^2 e σ_2^2 correspondem às variâncias da progênie retrocruzada, da F1-agrupada, da população suscetível e resistente, respectivamente. O grau de dominância da resistência a clorfenapir foi calculado de acordo com o método de Hartl (2000) e Stone (1968), usando a fórmula $D = (2.L_2 - L_1 - L_3) / (L_1 - L_3)$, onde L_1 , L_2 , e L_3 são os valores dos logs da CL_{50} s do resistente, F1e suscetível, respectivamente. Portanto, se $D = 1$, indica dominância completa; $0 < D < 1$, indica dominância incompleta; $-1 < D < 0$, indica recessividade incompleta; e $D = -1$ indica recessividade completa. O erro padrão do grau de dominância foi calculado utilizando a fórmula descrita por Lehmann (1966), e interpretado segundo Preisler *et al.* (1990).

A estimativa da dominância (h) foi calculada para cada concentração: $h = (w_{11} - w_{22}) / (w_{12} - w_{22})$; onde w_{11} , w_{12} , e w_{22} representa os valores de desempenho verificado para homozigotos resistentes ($P \times Clf$ -SEL), heterozigotos e homozigotos suscetíveis (Rec-SS), respectivamente. Assim, o valor de desempenho do homozigoto resistente foi considerado 1.0, enquanto que o valor de desempenho do heterozigoto foi calculado pela razão entre a taxa de sobrevivência observada do F1-agrupado do cruzamento recíproco e a taxa de sobrevivência da linhagem resistente. Os valores de h variam entre 0 (recessividade completa) e 1 (dominância completa). Se h corresponde a 0,5 (codominante ou aditivo) ou está entre $0 < h < 0,5$ (recessividade incompleta)

e $0,5 < h < 1$ (dominância incompleta). Para testar a hipótese monogênica foi obtida a mortalidade dos indivíduos da F2 submetidos a 10 diferentes concentrações. Em seguida, foi feito um teste de qui-quadrado entre a mortalidade observada e esperada (mortalidade esperada na concentração $x = 0,5$ (% mortalidade F1-agrupado em $x +$ % mortalidade de Rec-SS em x)).

O experimento da tabela de vida e fertilidade para as diferentes linhagens foi inteiramente casualizado. Para fazer as inferências estatísticas sobre r_m , a variância foi verificada usando o método jackknife descrito por Meyer *et al.* (1986). O desempenho relativo da linhagem resistente foi obtido através da fórmula $R_0(\text{Resistente})/R_0(\text{Suscetível ou heterozigoto})$. Os dados da tabela de vida foram submetidos à análise variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Quando necessário, os dados foram transformados por $(x + 0,5)^{1/2}$. O pacote estatístico utilizado foi o SAS, PROC GLM (SAS Institute 1999).

Resultados

Seleção para Resistência a Clorfenapir em *Plutella xylostella*. A seleção da população $P_x\text{Clf-SEL}$ com clorfenapir aumentou a resistência consistentemente para altos níveis. Todas as curvas de concentração-mortalidade ajustaram bem ao modelo de Probit (χ^2 não significativo $P > 0,05$) (Tabela 1). A CL_{50} variou de 27,6 (10,2 – 44,7) na geração F_1 para 256,5 (137,6 – 384,7) (mg a. i. /L) na geração F_5 para $P_x\text{Clf-SEL}$, que resultou no aumento da razão de resistência (RR) de 33-vezes para 310-vezes comparado com a população de referência em suscetibilidade ($CL_{50} = 0,83$ mg i. a./L) (Tabela 1).

Herdabilidade e Número de Genes. A percentagem de sobrevivência na seleção F_1 e F_5 foi 54 e 62% nas concentrações de 40 e 150 mg i. a./L, respectivamente (Tabela 2). A intensidade de seleção (I), a resposta de seleção (R) e a seleção diferencial (S) foram 0,61; 0,19 e 0,21; respectivamente (Tabela 2). O desvio padrão fenotípico (σ) foi 0,35 (Tabela 2). Nós verificamos

alta estimativa da herdabilidade ($h^2=0,90$), com um aumento de 10-vezes no nível da resistência em ~ 5 gerações (Tabela 2). O número de genes envolvidos na resistência a clorfenapir obtidos a partir do método de Raymond *et al.* (1987) foi aproximadamente 1.0 para F₁ e menos que 1.0 para as outras gerações (Tabela 3), sugerindo que a resistência a clorfenapir é controlado por somente um único gene. Usando a fórmula de Lande (1981), o número de genes que segregaram através de cinco gerações foi estimado em 1,07 genes (Tabela 3), sugerindo que a resistência a clorfenapir é controlado por 1 genes.

Herança da Resistência. A mortalidade apresentada nas linhagens suscetível, resistente, F₁/F₁' e F₁-agrupado também tiveram um bom ajuste para o modelo de Probit (χ^2 não significativo $P>0,05$). A progênie F₁ dos cruzamentos recíprocos entre resistente e suscetível não apresentaram diferença significativas nos valores CL_{50s} de F₁ e F₁' (Tabela 4; Fig. 1). Sugerindo que a resistência não está ligada ao sexo. O grau de dominância (D) apresentado pela progênie F₁-agrupada foi 0,26 (Tabela 4). A dominância da resistência a clorfenapir na progênie F₁ foi dependente da concentração com tendência a ser mais dominante com a diminuição das concentrações (Tabela 5). Assim, a resistência foi recessiva em 500 mg i. a./L ($h=0$), parcialmente recessiva em 240 ($h=0,15$) e 120 ($h=0,17$), codominante em 50 mg a.i./L ($h=0,53$) e completamente dominante em 16 ($h=0,94$) e 1,5 mg i. a./ L ($h=1$).

Teste para Resistência Monogênica. Para as 10 concentrações utilizadas no teste direto entre mortalidade esperada e observada para a herança monogênica da resistência a clorfenapir, somente houve diferença significativa na concentração de 24 mg de i.a./L ($\chi^2= 5,60$ $df= 1$, $P=0,05$) (Tabela 6). Esse resultado sugere um padrão monofatorial para a resistência a clorfenapir.

Tabela de Vida e Fertilidade de *Plutella xylostella* sobre Folhas de *Brassica oleracea* L. var. *acephala*. Os parâmetros biológicos obtidos a partir das tabelas de vida e fertilidade para as

diferentes linhagens de *P. xylostella* apresentaram diferenças para os seguintes parâmetros: período pupal e pré-reprodutivo, razão sexual, n° de fêmeas/fêmea (R_0), n° de fêmeas/fêmea/dia (r_m), n° fêmeas/dia (λ), viabilidade de ovo, larva e peso de pupas. O período pupal da linhagem resistente (3,91) foi estatisticamente maior que o da suscetível (3,43) ($F = 10,90$; $P < 0,0001$), porém é igual ao do heterozigoto (3,67). O período pré-reprodutivo da linhagem resistente superior (1,80) a suscetível (0,80) e semelhante ao heterozigoto (1,10) (Tukey [$\alpha = 0,05$]; $F = 3,54$; $P = 0,04$). A razão sexual foi menor para a linhagem resistente (0,36), que diferiu estatisticamente da suscetível (0,55) e heterozigota (0,62), as quais não diferiram entre si (Tukey [$\alpha = 0,05$]; $F = 10,55$; $P = 0,0004$) (Tabela 7). O R_0 para linhagem suscetível (22,61) e heterozigota (20,6) não diferiram entre si pelo intervalo de confiança a 95% e foram superiores a resistente (5,1) (Tabela 7). Ainda na mesma tabela, o r_m da suscetível (0,270) também não diferiu da heterozigota (0,250) e a resistente foi estatisticamente inferior (0,132) pelo intervalo de confiança a 95%. O valor de λ foi inferior para a linhagem resistente (1,14) quando comparado com as linhagens suscetível (1,31) e heterozigota (1,14) (Tabela 7).

A viabilidade de ovo da suscetível (86,56) foi significativamente superior ao resistente (58,9), não diferindo da linhagem heterozigota (77,05) (Tukey [$\alpha = 0,05$]; $F = 3,64$; $P = 0,039$) (Tabela 8). A viabilidade larval para suscetível (68) foi superior às linhagens heterozigota (48) e resistente (35) (Tukey [$\alpha = 0,05$]; $F = 37,87$; $P < 0,0001$) (Tabela 7). O peso de pupa fêmea da linhagem resistente (4,75) foi significativamente inferior às linhagens suscetível (5,34) e heterozigota (5,31) (Tukey [$\alpha = 0,05$]; $F = 38,91$; $P < 0,0001$) (Tabela 7). O peso de pupa macho da linhagem heterozigota (4,90) foi significativamente superior às linhagens suscetível (4,60) e resistente (4,30) (Tukey [$\alpha = 0,05$]; $F = 38,91$; $P < 0,0001$) (Tabela 8). Não houve diferença significativa na sobrevivência das diferentes linhagens ($\chi^2 = 5,55$; $GL = 2$, $P = 0,063$), mas foi possível verificar uma tendência para um período maior de sobrevivência para a linhagem

resistente quando comparada com suscetível e heterozigota (Fig. 2). O desempenho relativo da linhagem resistente foi 0,23 e 0,25 quando comparado com a suscetível e heterozigota, respectivamente.

Discussão

O clorfenapir está entre os últimos inseticidas registrados para o controle de *P. xylostella* e tem se mostrado eficiente em grande parte das propriedades produtoras de brássicas do agreste pernambucano. Porém, sabemos da alta capacidade de evolução da resistência a inseticida em *P. xylostella* (Talekar & Shelton 1993). Neste trabalho, o desenvolvimento da resistência a clorfenapir foi maximizado pela seleção que aumentou em praticamente 10 vezes a resistência de *P. xylostella* em poucos ciclos de seleção (G₁-G₅). Esse aumento acentuado é coerente, haja vista que o *background* da população de *P. xylostella* sintética derivada das regiões de Bezerros e Boas Novas já tinha uma moderada resistência a clorfenapir no campo, e isso aumento sugere um grande efeito aditivo de gene (s) contribuindo no resultado observado. Considerando somente a herdabilidade ($h^2=0,90$), nossos resultados indicam um alto risco do desenvolvimento da resistência a clorfenapir em *P. xylostella* comparado com flubendiamida ($h^2=0,15$) (Yan *et al.* 2014), clorantraniliprole ($h^2=0,26$) (Gong *et al.* 2014), espinosade ($h^2=0,02$) (Sayyed & Wright 2006), indoxacarbe ($h^2=0,40$) (Nehare *et al.* 2010) e *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* ($h^2=0,19$) e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* ($h^2=0,21$) (Sayyed *et al.* 2000). Contudo, verifica-se que todas as herdabilidades supracitadas foram baseadas na seleção de laboratório, onde a frequência inicial era baixa. No presente trabalho, nossos resultados foram baseados em populações que já apresentavam moderada resistência. A alta h^2 da resistência de *P. xylostella* para clorfenapir pode ser explicada pela alta pressão de seleção no processo de supressão de *P. xylostella*, que tem aumentado a frequência do alelo (s) de resistência a clorfenapir. Além do

mais, os vários cultivos de brássicas o ano todo contribuem para uma baixa variância ambiental nas áreas de Bezerros e Boas Novas. Tais condições podem explicar a razão de termos obtido a alta influência dos fatores aditivos genéticos na variação fenotípica (90,0%).

Baseado nos resultados dos bioensaios para F1 e F1' dos cruzamentos recíprocos entre as linhagens suscetível (Rec-SS) e resistente (*PxClf-SEL*), verificamos que não houve diferença nas CL_{50s} e nem na inclinação das curvas, indicando que a herança de *P. xylostella* a clorfenapir foi herdada autossomicamente. As metodologias de Raymond *et al.* (1987) e Lande (1981) indicam que a resistência a clorfenapir possui um traço monogênico. Baseado na CL_{50} da progênie F1, a resistência foi considerada incompletamente dominante. Esse resultado foi semelhante ao da herança da resistência a clorfenapir obtida para *Tetranychus urticae* Koch. (Uesugi *et al.* 2002), no entanto, a resistência foi completamente dominante (RR=483-vezes). O modo da herança para a mesma espécie de ácaro foi autossomal, poligênica e incompletamente recessiva (Van Leeuwen *et al.* 2004). No trabalho realizado por Ullah *et al.* (2016), esses autores verificaram que a herança da resistência a clorfenapir em *Oxycarenus hyalinipennis* Costa (Lygaeidae: Hemiptera) diferiu, sendo autossomal, poligênica e incompletamente dominante (RR=150-vezes). A dominância incompleta da resistência em *P. xylostella* já foi verificada para a resistência a outros inseticidas como fentoato (Park *et al.* 2004) e deltametrina (Sayyed *et al.* 2005).

Quando a seleção a inseticida ocorre no laboratório é provável o isolamento de mais de um gene. Além disso, a frequência inicial de alelos de resistência durante o processo de seleção é parte da função que pode resultar em diferentes modos da herança (Sayeed *et al.* 2005). Já foi registrado para a resistência a abamectina a herança incompletamente recessiva (Liang *et al.* 2003) como também incompletamente dominante (Pu *et al.* 2010) em *P. xylostella*. No entanto, para as diamidas verificaram certo padrão da herança incompletamente recessiva tanto para

clorfantriliprole (Wang *et al.* 2013) como para ciantraniliprole (Liu *et al.* 2015). Esse mesmo padrão de herança ocorreu para espinosade (Zhao *et al.* 2002).

A dominância da resistência para clorfenapir em *P. xylostella* depende da concentração. Portanto, a resistência foi recessiva em altas concentrações. É importante considerar que na dose de campo (240 mg/L) os indivíduos F1 (heterozigotos) do cruzamento entre *PxClf-SEL* e *Rec-SS*, não foram totalmente eliminados (88,46% de mortalidade). De acordo com a tabela de vida percebemos que estes indivíduos possuem um bom desempenho, semelhante à linha suscetível. Assim, com cruzamento entre heterozigotos, tem-se 25% de homozigotos resistentes. Como as populações de *P. xylostella* são multivoltinas, o manejo da resistência pode ser comprometido. No entanto, verificamos que os indivíduos resistentes a clorfenapir tiveram desempenho inferior às linhagens suscetível e heterozigota, sugerindo um custo adaptativo da resistência. Tal custo pode estar fracionado em parâmetros de crescimento populacional como R_0 , r_m e λ . Semelhante ao que ocorreu na resistência a ciantraniliprole (Liu *et al.* 2015), onde a linhagem resistente exibiu baixo desempenho para R_0 e r_m , comparado com a suscetível. Além disso, a resistência a clorfenapir também pode estar relacionado a outros parâmetros como o peso de pupas e viabilidade de ovo e de larvas, como ocorreu para a linhagem resistente a abamectina (Wang & Wu 2014). Os estudos de Ribeiro *et al.* (2014) mostraram que doses subletais afetaram o peso de pupa e de larva, além de prolongarem o período pupal e larval de uma população resistente a clorfantriliprole ($RR = 27.703$ -vezes), quando comparada com a linhagem suscetível. Os resultados deste trabalho mostraram que o desempenho da linhagem resistente a clorfenapir foi bastante afetada, pois o desempenho relativo foi 0,23 comparado com a linhagem suscetível (1,0). Na resistência a tebufenozida em *P. xylostella*, Cao *et al.* (2006) e Sun *et al.* (2012) obtiveram um desempenho relativo de 0,3 e 0,5, respectivamente, para as linhagens resistentes.

Em suma, podemos concluir que (i) existe um alto risco do desenvolvimento da resistência a clorfenapir no campo para as populações de Bezerros e Boas Novas, (ii) que o modo da herança da resistência a clorfenapir em *P. xylostella* foi autossomal, monogênico e incompletamente dominante e (iii) que a resistência a clorfenapir estar relacionada a um custo adaptativo. Diferente das característica genéticas, o manejo do agroecossistema é um dos fatores que podem ser controlados a favor do manejo da resistência. Neste sentido, a variância ambiental é dependente das condições da cultura ou do manejo. Assim, quanto mais diversificada as condições de campo há uma grande probabilidade de redução da herdabilidade (Falconer 1996) e conseqüentemente do risco do desenvolvimento da resistência. Portanto, a contínua pressão com inseticidas, em particular com clorfenapir, a proximidade de muitos cultivos de brássicas durante o ano todo, promovem certa uniformidade para o desenvolvimento acelerado da resistência resultando no alto custo de produção de brássicas. Assim, o monitoramento da resistência, a rotação de cultura, o ataque múltiplo com inseticidas de diferentes modos de ação podem ser práticas sensíveis para mitigar os problemas de controle químico efetuado nas populações de campo de *P. xylostella*.

Agradecimentos

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, a CAPES e a FACEPE pelo fornecimento da bolsa de estudo para o primeiro autor.

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Balasubramani, V., A.H. Sayyed & N. Crickmore. 2008.** Genetic characterization of resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from India. J. Econ. Entomol. 101: 1911-1918.

- Barros, R. & J.D.Vendramim. 1999.** Efeito de cultivares de repolho, utilizadas para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). An. Soc. Entomol. Brasil 28: 469-476.
- Birch, L.C. 1948.** The intrinsic rate of natural increase of an insect population. J Anim. Ecol. 17: 15-26.
- Brookfield, J.F.Y. 2012.** Heritability. Curr. Biol. 22: 217-219.
- Cao, G. & Z. Han. 2006.** Tebufenozide resistance selected in *Plutella xylostella* and its cross-resistance and fitness cost. Pest Manag. Sci. 62: 746-751.
- Falconer, D.S. 1996.** Introduction to quantitative genetics. London: University of Edinburgh, 480p.
- Finney, D.J. 1971.** Probit Analysis. London, Cambridge University Press, 333p.
- Furlong, M.J., D.J. Wright & L.M. Dossall. 2013.** Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. Annu. Rev. Entomol. 58: 517-54.
- Gong, Y-J., Z-H. Wang, B-C. Shic, Z-J. Kang, L. Zhue, G-H. Jinf & S-H. Weig. 2013.** Correlation between pesticide resistance and enzyme activity in the diamondback moth, *Plutella xylostella* J. Insect Sci. 13: 1-13.
- Griffiths, J., K. Murase, I. Rieu, R. Zentella & Z.L. Zhang. 2006.** Genetic characterization and functional analysis of the GID1 gibberellin receptors in Arabidopsis. Pl. Cell 18: 3399–3414.
- Hartl, D.L. 2000.** A primer of population genetics. 3rd ed. Sunderland: Sinauer, 221p.
- Jallow, M.F.A. & C.W. Hoy. 2006.** Quantitative genetics of adult behavioral response and larval physiological tolerance to permethrin in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). J. Econ. Entomol. 99: 1388-1395.
- Lande, R. 1981.** The minimum number of gene contributing to quantitative variation between and within populations. Genetics 99: 541-553.
- Lehmann, E.L. 1966.** Testing statistical hypotheses. New York, Wiley.
- LeOra-Software. 2005.** POLO-Plus, POLO for Windows computer program, version 2.0. LeOra-Software, Petaluma, CA.
- Liang, P., X-W. Gao & B-Z. Zheng. 2003.** Genetic basis of resistance and studies on cross-resistance in a population of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Pest Manag. Sci. 59:1232-1236.
- 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: 630-640.

- Liu, X., Y. Ning, H. Wang & K. Wang. 2015.** Cross-resistance, mode of inheritance, synergism, and fitness effects of cyantraniliprole resistance in *Plutella xylostella*. *Entomol. Exp. Appl.* 157: 271-278.
- Meyer, J.S., C.G. Ingersoll, L.L. McDonald & M.S. Boyce. 1986.** Estimating uncertainty in population growth rates: Jackknife vs. Bootstrap techniques. *Ecology* 67: 1156- 1166.
- Nehare, S., B.S. Ghodik, G.K. Lande, V. Pawade & A.S. Takare. 2010.** Inheritance of resistance and cross resistance pattern in indoxacarb-resistant diamondback moth *Plutella xylostella* L. *Entomol. Res.* 40: 18-25.
- Park, N., S. Oh, Y. Choi, K. Choi & K.Y. Cho. 2004.** Inheritance and cross resistance of phenthoate-selected diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *J. Asia-Pac. Entomol.* 2: 233-237.
- Preisler, H.K., M.A. Hoy & J.L. Robertson. 1990.** Statistical analysis of modes of inheritance for pesticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 83: 1649-1655.
- Pu X., Y. Yang, S. Wu & Y. Wu. 2010** Characterisation of abamectin resistance in a field-evolved multiresistant population of *Plutella xylostella*. *Pest. Manag. Sci.* 66: 371-378.
- Raghavendra, K., T.B. Barik, R.M. Bahtt, H.C. Srivastava, U. Sreehari. & A.P. Dash. 2011.** Evaluation of the pyrrole insecticide chlorfenapyr for the control of *Culex quinquefasciatus* Say. *Acta Trop.* 118: 50-55.
- Raymond, M., N. Pasteur & G.P. Geoghiou. 1987.** Inheritance of chlorpyrifos in *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) and estimation of number of genes involved. *Heredity* 58: 351-356.
- Ribeiro, L.M.S., V. Wanderley-Teixeira, H.N. Ferreira, Á.A.C. Teixeira & H.A.A. Siqueira. 2014.** Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Bull. Entomol. Res.* 8: 1-9.
- Robertson, J.L., N.E. Savin, K.P. Haiganoush, R.M. Russell. 2007.** *Bioassays with arthropods*, 2nd ed. Boca Raton. CRC Press, 224p.
- SAS Institute Inc. 1999.** *STAT User's guide computer program, version 8.0.* By SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sayyed, A.H., H. Robert, H. Salvador, J. Ferré & D.J. Wright. 2000.** Genetic and biochemical approach for characterization of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in a field population of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1509-1516.
- Sayyed, A.H., M.N.R. Attique & A. Khaliq. 2005.** Stability of field selected resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from Pakistan. *J Appl Entomol* 129: 542-547.

- Sayyed, A.H. & D.J. Wright. 2006.** Genetics and evidence for an esterase-associated mechanism of resistance to indoxacarb in a field population of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Pest Manag. Sci.* 62: 1045-1051.
- Sayyed, A. H., M. Ahmad & M.A. Saleem. 2008.** Cross-resistance and genetics of resistance to indoxacarb in *Spodoptera litura* (Lepidoptera : Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 101: 472-479..
- Silva, J.E., H.A.A. Siqueira, T.B.M. Silva, M.R. Campos & R. Barros. 2012.** Baseline susceptibility to chlorantraniliprole of Brazilian populations of *Plutella xylostella*. *Crop Prot.* 35: 97-101.
- Stone, B.F. 1968.** A formula for determining degree of dominance in cases of monofactorial inheritance of resistance to chemicals. *Bull. World Health Organ.* 38: 325-326.
- Sun, J., P. Liang & X. Gao. 2010.** Inheritance of resistance to a new non-steroidal ecdysone agonist, fufenozide, in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Pest Manag. Sci.* 66:406–411.
- Sun, J., P. Liang, & X. Gao. 2012.** Cross-resistance patterns and fitness in fufenozide-resistant diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Pest Manag. Sci.* 68: 285-289.
- Talekar, N.S. & A.M. Shelton. 1993.** Biology, Ecology, and Management of the Diamondback Moth. *Ann. Rev. Entomol.* 38: 275-301.
- Uesugi, R., K. Goka & M.H. Osakabe. 2002.** Genetic basis of resistances to chlorfenapyr and etoxazole in the two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 95:1267–1274.
- Ullah, S., R.M. Shah & S.A. Shad. 2016.** Genetics, realized heritability and possible mechanism of chlorfenapyr resistance in *Oxycarenus hyalinipennis* (Lygaeidae: Hemiptera). *Pest. Biochem. Physiol.* 133: 91-96.
- Van Leeuwen, T., V. Stillatus, L. Tirry, 2004.** Genetic analysis and cross-resistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 32: 249-261.
- Wang, X.L., S.K. Khakame, C. Ye, Y.H. Yang & Y.D. Wu. 2013.** Characterisation of field-evolved resistance to chlorantraniliprole in the diamondback moth, *Plutella xylostella*, from China. *Pest Manag. Sci.* 69: 661-665.
- Wang, R. & Y. Wu. 2014.** Dominant fitness costs of abamectin resistance in *Plutella xylostella*. *Pest Manag. Sci.* 10: 1872-1876.
- Yan, H-H., C-B. Xue, G-Y. Li, X-L. Zhao, X-E. Che & L-L. Wang. 2014.** Flubendiamide resistance and Bi-PASA detection of ryanodine receptor G4946E mutation in the diamondback moth (*Plutella xylostella* L.). *Pest Biochem. Physiol.* 115: 73-77.

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

Tabela 1. Toxicidade de clorfenapir para larvas de segundo ínstar de *Plutella xylostella* para diferentes gerações. T: 25 ± 1 °C, UR: $65 \pm 10\%$, fotofase: 12 horas.

População	G ¹	N ²	χ^2 (GL) ³	CL ₅₀ (IC95%) ⁴	Inclinação \pm EP ⁵	RR ₅₀ ⁶ (IC95%) ⁴
Rec-RR	F ₃₄₀	221	7,5 (6)	0,83 (0,4 - 1,4)	1,41 \pm 0,19	1 (0,65 - 1,55)
PxClf-SEL	F ₁	184	5,9 (5)	27,6 (10,2 - 44,7)	4,13 \pm 0,85	33,4 (20,1 - 55,4)*
	F ₂	164	1,9 (4)	34,6 (18,1 - 53,8)	2,11 \pm 0,51	41,9 (23,6 - 74,3)*
	F ₃	244	0,7 (4)	117,1 (87,2 - 162,4)	1,34 \pm 0,18	141,3 (91,4 - 218,3)*
	F ₄	200	7,5 (5)	118,2 (51,5 - 67,1)	1,34 \pm 0,17	142,9 (90,0 - 226,9)*
	F ₅	211	2,5 (5)	256,5 (137,6 - 384,7)	1,60 \pm 0,34	309, (176,8 - 542,9)*

¹ Gerações. ² Número de indivíduos usados no bioensaio. ³ Qui-quadrado e grau de liberdade ⁴ Intervalo de confiança a 95%. ⁵ Erro Padrão. ⁶ Razão de resistência pelo método de Robertson et al. (2007) e (*) diferença significativa quando o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

Tabela 2. Parâmetros da herdabilidade realizada (h^2) para a resistência de a clorfenapir em *Plutella xylostella* e número de gerações (G) para aumentar a resistência em 10 vezes baseado na CL_{50} inicial.

Parâmetros	Geração (F ₁ – F ₅)	
	Log ₁₀ (CL ₅₀ Inicial)	1,45
Resposta estimada	Log ₁₀ (CL ₅₀ Final)	2,41
	Resposta da seleção (R)	0,19
	Sobrevivência pós-seleção (S)	62 %
	Intensidade de seleção (I) ¹	0,61
	Inclinação inicial ± EP	4,13
Estimativas da seleção diferencial	Inclinação Final ± EP	1,60
	Desvio padrão do fenótipo (σ)	0,35
	Seleção diferencial (S)	0,21
	h^2	0,90
	G	5,20

¹Falconer (1996).

Tabela 3. Sobrevivência e estimativa do número de genes contribuindo para resistência de *Plutella xylostella* a clorfenapir em gerações seguidas de seleção.

Geração	Concentração (mg a.i./L)	Sobrevivência (%)	Nº de genes (n) ¹
F ₁	40	54	0,94
F ₂	56	65	0,62
F ₃	75	66	0,60
F ₄	100	75	0,42
F ₅	150	62	0,62
Média	-	62,66	0,64

¹Raymond *et al.* (1987).

Tabela 4. Toxicidade relativa das linhagens suscetível, resistente e progênes dos cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos em *Plutella xylostella*. T: 27 ± 1 °C, UR: 65 ± 10%, fotofase: 12 horas.

População	n ¹	CL ₅₀ (95%IC) ²	Inclinação(±EP) ³	χ ² (GL) ⁴	DD ₅₀ (±EP) ³⁵	RR ₅₀ (95%IC) ⁶⁷
Rec-RR	510	1,02(0,76-1,32)	1,47±0,13	6,24(6)	-	1
PxClf-SEL	462	432,85(361,32-515,59)	1,81±0,14	1,92(5)	-	421,58(302,98-586,60)*
F1 (S ♀ x R ♂)	190	43,01(26,19-63,20)	2,60±0,33	5,90(4)	0,24±0,11	41,92(29,16-60,27)*
F1' (R ♀ x S ♂)	198	50,41(29,50-75,97)	2,09±0,26	5,63(4)	0,29±0,13	49,17(33,63-71,90)*
F1 agrupado	386	45,94(29,55-65,10)	2,30±0,21	8,78(4)	0,26±0,14	44,82(32,24-62,30)*
F1 agrupado x SS	248	9,83(5,99-14,83)	1,20±0,13	6,60(8)		9,59(5,66-16,25)*

¹ Número total de insetos utilizados e Geração. ² Miligramas de ingrediente ativo por litro de água. ³ Erro padrão. ⁴ Qui-quadrado e Grau de liberdade. ⁵ Grau de dominância. ⁶ Intervalo de confiança a 95% das estimativas das CL₅₀. ⁷ Razão de Resistência: razão das estimativas da CL₅₀ entre a população resistente e suscetível, calculada através do método de Robertson et al. (2007) e. * Razão de Resistência significativa uma vez que o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

Tabela 5. Mortalidade, sobrevivência e dominância efetiva da resistência a clorfenapir baseado na concentração de clorfenapir para suscetível (Rec-SS), resistente (Bez-RR) e progênie F1 agrupado dos cruzamentos recíprocos de *Plutella xylostella*. T: 25 ± 1 °C, UR: 65 ± 10%, fotofase: 12 horas.

Concentração (mg/L)	Linhagem	N	Mortalidade (%)	Sobrevivência	h ¹
1,50	Rec-SS	23	56,52	0,43	1
	F1-RS	50	0	1,00	
	Bez-RR	23	0	1,00	
16,00	Rec-SS	29	89,65	0,10	0,94
	F1-RS	56	5,35	0,95	
	Bez-RR	30	0	1,00	
50,00	Rec-SS	32	100	0,00	0,53
	F1-RS	55	47,27	0,53	
	Bez-RR	36	0	1,00	
120,00	Rec-SS	23	100	0,00	0,17
	F1-RS	56	85,71	0,14	
	Bez-RR	23	17,90	0,82	
240,00	Rec-SS	25	100	0,00	0,15
	F1-RS	52	88,46	0,12	
	Bez-RR	26	21,43	0,79	
500,00	Rec-SS	30	100	0,00	0
	F1-RS	53	100	0,00	
	Bez-RR	30	56,7	0,43	

¹A dominância estimada (h) varia de 0 (completamente recessivo) para 1 (completamente dominante), onde 0,5 corresponde a codominância, 0<h<0,5 corresponde a incompletamente recessivo e 0,5<h<1,0 corresponde a incompletamente dominante.

Tabela 6. Mortalidade observada e esperada de *Plutella xylostella* (F1 agrupado x SS) para teste direto da herança monogênica da resistência a clorfenapir. T: 25 ± 1 °C, UR: 65 ± 10%, fotofase: 12 horas.

Concentração (mg/L)	Mortalidade observada (%)	Mortalidade esperada (%) ¹	χ^2
0,38	7,14	9,62	0,637
1,50	27,27	28,26	0,035
6,00	43,48	48,33	0,487
12,00	50,00	45,73	0,398
15,70	52,38	48,93	0,244
24,00	47,62	66,98	5,60*
62,50	80,00	80,00	-
125,00	90,91	93,45	0,070
250,00	95,65	96,80	0,014
500,00	100,00	99,35	0,004
Total	-	-	7,489

¹ Mortalidade esperada na dose x = 0,5 (% mortalidade de F1 agrupado em x + % mortalidade de Rec-SS em x). *significativo a 5% de probabilidade com base no teste de qui-quadrado.

Tabela 7. Parâmetros biológicos obtidos por meio da tabela de vida e fertilidade para as linhagens de *P. xylostella* suscetível (SS), heterozigoto (RS) e resistente (RR) ao inseticida clorfenapir.

Parâmetros biológicos	Linhagens ¹				
	Suscetível	Heterozigoto	Resistente	F	Prob
R_0 (fêmeas/fêmea)	22,61 (13,4-31,80) a	20,6 (12,8-28,5) a	5,1 (2,7-7,5) b	-	-
r_m (fêmeas/fêmea/dia)	0,270 (0,228-0,312) a	0,250 (0,220-0,280) a	0,132 (0,092-0,171) b	-	-
T (em dias)	11,5 (11-12) a	12 (11-13) a	12,5 (12-13) a	-	-
λ (fêmeas/dia)	1,31 (1,26-1,36) a	1,28 (1,24-1,32) a	1,14 (1,09-1,18) b	-	-
TD (em dias)	3 (2-4) a	3 (2-4) a	5 (4-7) a	-	-
Razão sexual	0,55 ± 0,06 a	0,62 ± 0,03 a	0,36 ± 0,01 b	10,55	0,0004
Viabilidade de ovo	86,56 ± 2,17 a	77,05 ± 7,37 ab	58,90 ± 10,18 b	3,64	0,039
Viabilidade de larva	68,00 ± 2,49 a	48,00 ± 2,90 b	35,00 ± 2,68 c	37,87	< 0,0001
Viabilidade de pupa	86,76 ± 3,11 a	72,72 ± 9,20 a	83,33 ± 8,33 a	1,35	0,273
Peso de pupa (fêmea)	5,34 ± 0,03 a	5,31 ± 0,07 a	4,75 ± 0,06 b	38,91	< 0,0001
Peso de pupa (macho)	4,6 ± 0,05 b	4,9 ± 0,06 a	4,3 ± 0,03 c	38,28	< 0,0001

¹Médias ± EP da mesma linha seguida por mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, bem como pelo intervalo de confiança a 95%, estimado pelo método de Jakkenife. ^a $R_0 = \sum (lx mx)$, onde lx = proporção de fêmeas acasaladas no tempo x , e mx = idade específica da fecundidade multiplicada pela respectiva razão sexual de suscetível, heterozigoto e resistente. ^b $r_m = \ln R_0 / T$. ^c $T = \sum (x lx mx) / (lx mx)$. ^d $\lambda = e^{r_m}$.

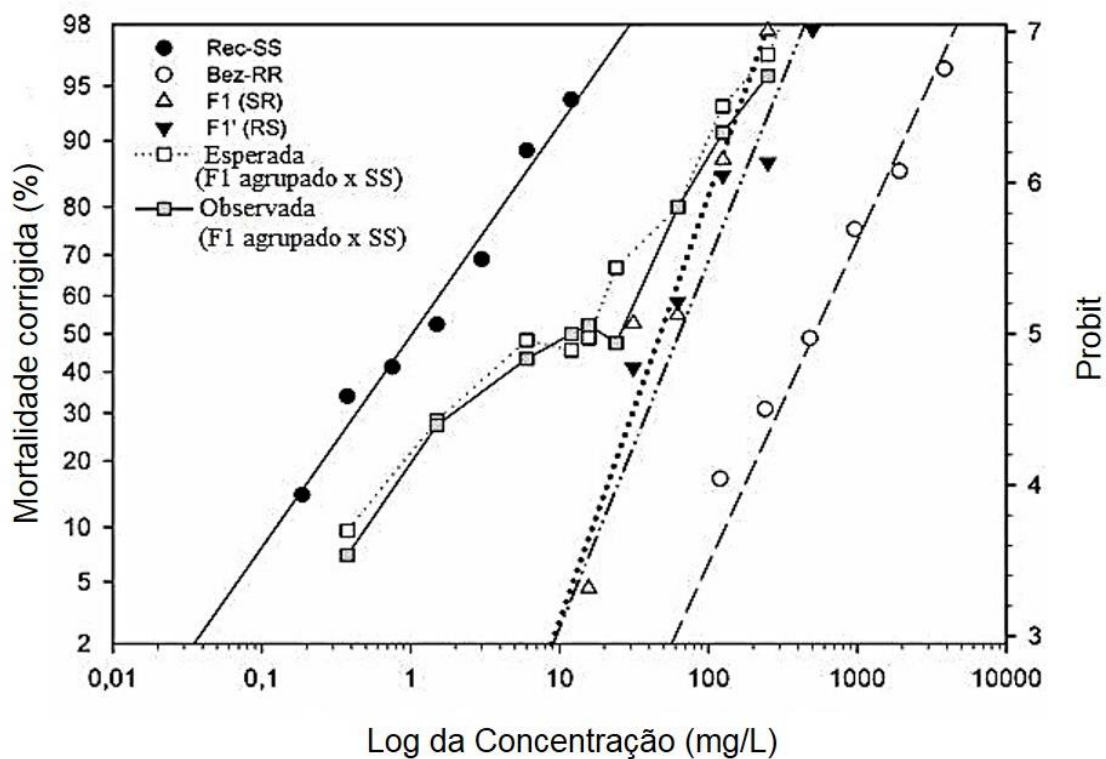


Figura 1. Curvas de concentração-mortalidade para as linhagens suscetível (SS), resistente (RR), progênie F1 dos cruzamentos recíprocos e progênie F2 (F1 agrupado x SS) de *P. xylostella*.

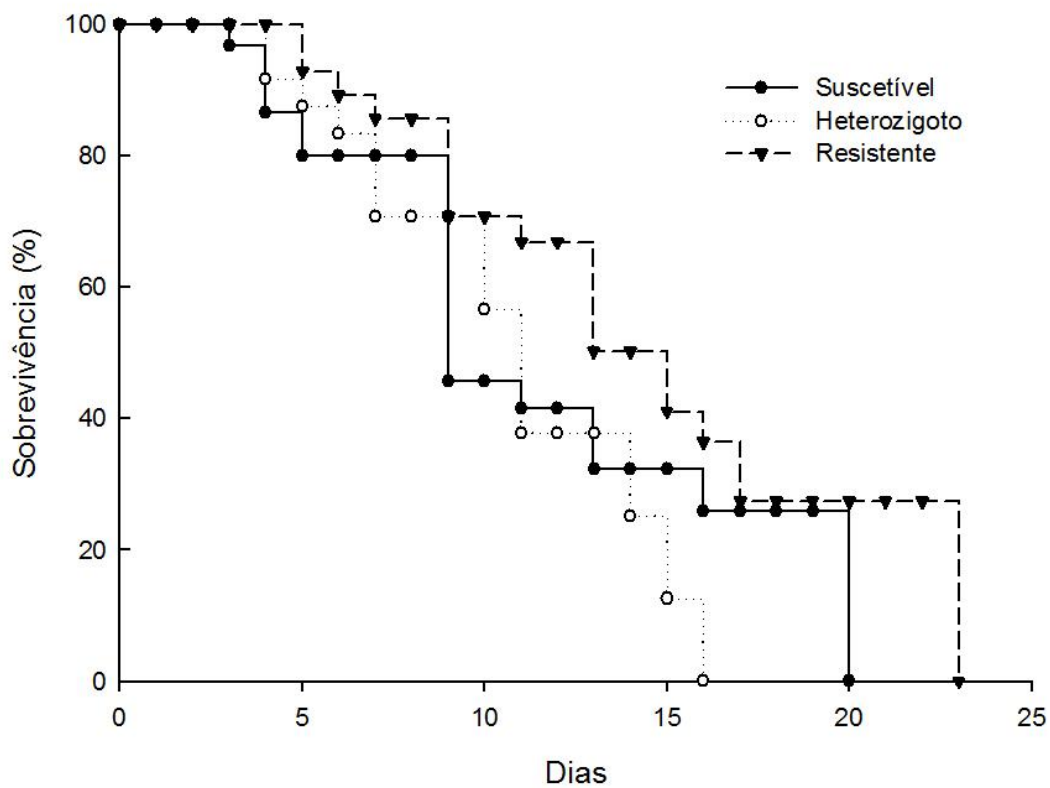


Figura 2. Sobrevivência de diferentes linhagens (suscetível, heterozigota e resistente a clorfenapir) de *P. xylostella* alimentadas com *Brassica oleracea* L. var. *acephala*. Não houve diferença significativa na sobrevivência das linhagens através do teste de Log-Rank ($\chi^2 = 5,55$; GL= 2, P = 0,063).

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que o Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo e a resistência a inseticidas é um dos fatores que contribui para esta realidade. A abordagem dos resultados deste trabalho é importante para o delineamento de um programa de manejo da resistência a inseticida em *P. xylostella* para o Agreste de Pernambuco, com vistas à redução dos impactos ocasionados por esse fenômeno, como por exemplo, os altos índices de resíduos nas culturas. Se o manejo da resistência a inseticida é parte fundamental do Manejo Integrado de Pragas, a suscetibilidade das populações de pragas que são mantidas em laboratório é crucial para a detecção e monitoramento da resistência a inseticidas. Neste sentido, para os principais inseticidas utilizados no controle de *P. xylostella*, as populações de referências em suscetibilidade de laboratório do LIIT-UFRPE podem ser utilizadas como um padrão de suscetibilidade para a detecção da resistência, como ocorreu no monitoramento da resistência a abamectina detectada neste trabalho. Outro ponto não menos importante, é a avaliação de risco de resistência, que pôde ser verificada pela alta herdabilidade e pelo padrão de herança da resistência a clorfenapir, mostrando um alto risco de desenvolvimento da resistência, porém com custo adaptativo verificado pela inferioridade dos parâmetros de crescimento populacional de *P. xylostella*. Além disso, sabe-se que a obtenção do mecanismo de resistência, bem como a estabilidade da mesma é de crucial importância para direcionar o manejo da resistência a clorfenapir. Estes parâmetros não foram inclusos nesta pesquisa. Portanto, com tais fatores adicionados aos já obtidos neste trabalho, certamente as bases para o manejo da resistência a clorfenapir serão mais eficientemente delineadas para *P. xylostella*.