

SUSCETIBILIDADE E HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.)

(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) A LUFENUROM

por

LUCAS SOUZA ARRUDA

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

RESUMO

Plutella xylostella, conhecida como traça-das-brássicas, é a praga mais importante das Brassicaceae no Brasil. Uma população proveniente do município de Bezerros (BZR) foi detectada como muito resistente ao lufenurom, inseticida regulador de crescimento (IRC) que interfere na muda dos insetos. O presente trabalho estudou a suscetibilidade de populações de *P. xylostella* do Agreste de Pernambuco, o padrão de herança da resistência ao lufenurom e a resistência cruzada ao metoxifenoizida. Curvas de concentração-mortalidade foram estimadas para cinco populações, também para os parentais (suscetível e resistente), gerações F₁s e retrocruzamento, através de bioensaios por ingestão de folhas de couve tratadas com lufenurom. Além disso, a mortalidade na dose recomendada foi avaliada usando a mesma metodologia. O bioensaio de dosagem recomendada de lufenurom causou mortalidade de lagartas superior a 80% apenas para duas populações (Piedade e Recife), para as demais populações, sugeriu falhas de controle. O metoxifenoizida causou mortalidade superior a 80% para as cinco populações testadas, sugerindo que não há resistência cruzada entre esses reguladores de crescimento testados. A população de Bezerros foi a mais resistente (11.283 vezes) quando comparada com a população de Recife (padrão de suscetibilidade), mas as demais populações de campo também apresentaram alta resistência (>10.000 vezes) ao lufenurom. O padrão de herança da resistência foi

incompletamente recessivo e autossomal. Além disso, a resistência é monofatorial, sugerindo que um único gene esteja envolvido na resistência ao lufenurom. Os resultados deste trabalho constituíram uma etapa crucial para o entendimento da evolução da resistência a lufenurom na região do Agreste de Pernambuco. No entanto, trabalhos futuros, acerca do mecanismo de resistência, devem ser realizados para refinar os programas de manejo de resistência aos inseticidas, reduzindo o impacto deste fenômeno nos campos de produção.

PALAVRAS-CHAVE: Regulador de crescimento de insetos, falhas de controle, resistência cruzada, genética, benzoilureia, dominância efetiva

SUSCETIBILITY AND INHERITANCE OF RESISTANCE OF *Plutella xylostella* (L.) TO
LUFENURON

by

LUCAS SOUZA ARRUDA

(Under direction of Professsor Herbert Álvaro Abreu de Siqueira)

ABSTRACT

Plutella xylostella, known as diamondback moth, is the most important pest of Brassicaceae in Brazil. A population from Bezerros (BZR) municipality was detected as very resistant to lufenuron, an insect growth regulator (IGR) that interferes with the insect molting. The present study aimed to investigate the susceptibility of *P. xylostella* populations from the Agreste of Pernambuco region, the inheritance pattern of resistance to lufenuron and cross-resistance to methoxyfenozide. Dose-mortality curves were estimated for five populations, also for parental (susceptible and resistant), F₁s and backcross generations, by the method of ingestion of treated cabbage leaves. Also, mortality was assessed at the recommended dosage using the same methodology. The recommended dosage of lufenuron (Match) caused greater than 80% mortality of larvae for only two populations (Piedade and Recife), whereas for the others, it suggested control failure. The methoxyfenozide caused greater than 80% mortality of all five tested populations, suggesting that there is no cross-resistance between both insect growth regulators. The Bezerros population was the most resistant (11,283 times) compared to Recife population (susceptible control), but the other field populations also showed high resistance (> 10,000-fold) to lufenuron. The pattern of inheritance of resistance was incompletely recessive and autosomal, e.g., it is neither sex-linked nor has maternal effect. In addition, it was found that resistance is monofactorial, suggesting the involvement of a single gene in the resistance to lufenuron. These

results constitute a crucial step in understanding the evolution of resistance to lufenuron in the Agreste of Pernambuco; however further work, particularly on the mechanism involving this gene should be performed to refine the management programs of insecticide resistance reducing the impact of this phenomenon in the production fields.

KEY WORDS: Insect growth regulators, control failure, cross resistance, genetics, benzoylphenylurea, effective dominance

SUSCETIBILIDADE E HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.)
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) A LUFENUROM

por

LUCAS SOUZA ARRUDA

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

RECIFE - PE

Julho – 2014

SUSCETIBILIDADE E HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.)
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) A LUFENUROM

por

LUCAS SOUZA ARRUDA

Comitê de Orientação:

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira – UFRPE

Jorge Braz Torres – UFRPE

Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

SUSCETIBILIDADE E HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.)
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) A LUFENUROM

por

LUCAS SOUZA ARRUDA

Orientador:

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira – UFRPE

Examinadores:

Agna Rita dos Santos Rodrigues – IFGO

Lilian Maria da Solidade Ribeiro – PDJ/CNPq

DEDICATÓRIA

*Dedico exclusivamente a minha linda família,
meu pai Ismael Abreu de Arruda, minha mãe Alice Souza Arruda e
meu irmão Fernando Souza Arruda.*

AGRADECIMENTOS

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Herbert Álvaro Abreu de Siqueira pelas suas orientações em todos os momentos em que precisei e pela paciência em esclarecer todas as minhas dúvidas.

Aos demais Professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE, que participaram da minha nova etapa de formação profissional. Professores Edmilson Jacinto Marques e Jorge Braz Torres, por me acolherem em seus laboratórios e os ensinamentos do dia-a-dia.

Aos colegas de laboratório Prof. Tadeu Silva, Prof. Alberto Filho, Mateus Campos, Lilian Ribeiro, Jaconias Neto, Liliane Silva, Rebeqa Alves, Wellington Silva, Paolo Augustus e Jefferson Silva.

As amigas da turma de mestrado 2012/2, Sibebe Tapajós (Bocó), Márcia da Silva, Cristiane Silva.

Dr. Martin Oliveira por ter me ajudado no início de tudo, aqui em Recife.

Dra. Agna Rodrigues pela recepção no prédio da Fitossanidade, pelas diversões e ajudas profissionais.

Aos amigos conquistados durante o curso Nicolle Ribeiro, Ana Paula Fonseca, Alice Araújo, Mamãe Cinthia Silva, Eliana Passos, José Wagner Melo, Cleiton Araújo

Kamilla Dutra pela paciência em escutar alguns dos meus problemas e conversas sadias que tivemos ao longo de todo o período do curso, desejo a ela todo sucesso que precisa.

Eduardo Barros, o conterrâneo presente em Recife, Felipe Batista, famoso Colares, por me acolherem em momentos difíceis que passei e pelas diversões que passamos juntos e momentos felizes. Paulo Barbosa, Robério Neves, Guilherme Rolim por participarem dessa jornada.

Rafael de Oliveira, Thiago de Oliveira, Milca Ribeiro, Nádia Campos, Lais Arruda, Lilian Roberta, Tonyeliton Arruda e Tiago Arruda meus primos que gosto tanto.

Priscila Malta, minha namorada, que sempre esteve do meu lado nos momentos difíceis e que me apoiou até o fim dessa etapa.

SUMÁRIO

	Página
DEDICATÓRIA	viii
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	01
LITERATURA CITADA.....	05
2 HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE <i>Plutella xylostella</i> (L.) AO LUFENUROM.....	09
RESUMO	10
ABSTRACT	11
INTRODUÇÃO	12
MATERIAL E MÉTODOS	13
RESULTADOS.....	19
DISCUSSÃO.....	22
AGRADECIMENTOS.....	25
LITERATURA CITADA.....	25

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O Estado de São Paulo destaca-se por ser o maior produtor de brássicas do Brasil (Carvalho *et al.* 2013), já na região Nordeste do país, o Estado de Pernambuco sobressai como um dos principais produtores dessas hortaliças (Michereff *et al.* 2003). Em Pernambuco, a região do Agreste, conhecida como cinturão de produção de hortaliças do estado, produz a maior parte desses vegetais. Geralmente são cultivados em pequenas propriedades ($\leq 10.000 \text{ m}^2$), representando uma importante fonte de renda para a agricultura familiar (Batista 2011). Um dos principais fatores que limitam a produção de brássicas é a ocorrência de pragas, como a traça-das-brássicas (TDB), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae).

A traça-das-brássicas é considerada espécie oligófaga, ou seja, se alimenta somente de plantas da família das Brassicaceae. Essa família possui catalogada cerca de 350 gêneros e mais de 3200 espécies (Watson & Dallwitz 1992). A traça-das-brássicas tem como provável origem a região do Mediterrâneo, onde teve origem a principal espécie de brássica selvagem (Talekar & Shelton 1993, Yang *et al.* 1994, Monnerat *et al.* 2004). Entretanto, especulações, indicam a África do Sul como possível local de origem, onde foi feito o primeiro registro de ocorrência como praga (Charleston & Kfir 2000), devido a diversidade de espécies hospedeiras endêmicas. É considerada atualmente uma espécie cosmopolita. Esta espécie é de clima temperado e tropical, no qual pode produzir mais de 20 gerações por ano (Verkerk & Wright 1996), como na região do Agreste de Pernambuco

O status de praga da TDB é devido à alta capacidade reprodutiva (pode aumentar a população cerca de 60 vezes em apenas uma geração) e voracidade, no entanto a densidade

populacional encontram-se quase sempre acima do nível de controle. As injúrias são observadas nas plantas ocasionadas pelas lagartas. Nos dois primeiros ínstaes alimentam-se do parênquima foliar (formando pequenas galerias), passando a alimentar-se da epiderme da parte inferior das folhas nos ínstaes seguintes, resultando em perfurações, que deprecia o produto para a comercialização (Imenes *et al.* 2002), conseqüentemente acarretando perda de mais de 90% da produção (Verkerk & Wright 1996, Charleston & Kfir 2000, Castelo Branco & Gatehouse 2001).

O nível de dano para o cultivo do repolho consiste em seis furos nas quatro folhas centrais (Castelo Branco *et al.* 1996). Já o monitoramento dos adultos, pode ser feito mediante uso iscas com feromônio sexual sintético (Castelo Branco *et al.* 1997). Devido às características do inseto, o controle químico tem sido o método mais empregado na redução populacional de *P. xylostella*. Todavia, seu uso intensivo em alguns sistemas de cultivo pode levar ao surgimento de populações resistentes.

Os inseticidas reguladores de crescimento agem principalmente nas lagartas recém-eclodidas. Esses inseticidas produzem seus efeitos no momento em que as lagartas realizam o processo de muda ou ecdise. São de ação lenta comparado com os inseticidas neurotóxicos (Ishaaya & Horowitz 1998). A ecdise é um processo natural que ocorre nos artrópodes, que permite o crescimento do indivíduo, e resulta na mudança da cutícula (composta por quitina). A quitina é um polissacarídeo de N-acetilglucosamina que representa 50% do peso seco dos insetos. De fato a quitina é o principal constituinte da cutícula dos insetos, que contribui na estrutura corporal íntegra (Cohen 1987). A síntese de quitina nos insetos é controlada por hormônios. Quando os hormônios entram em contato com os receptores específicos, inicia-se uma cascata de reações, tendo como produto final o substrato, UDP-N-Acetil-D-glucosamina (GlcNAc). Este é catalisado pela enzima quitina sintase presente na membrana do complexo de Golgi (Horst & Walker 1993), em vesículas intracelulares (Sentandreu *et al.* 1984) e na membrana plasmática das

células epidérmicas (Duran *et al.* 1975, Vardanis 1979). A cutícula (exoesqueleto) é de grande importância para sobrevivência dos insetos, tornando-se objeto de estudo para os cientistas que buscaram o desenvolvimento de inseticidas que inibissem o processo de formação de nova cutícula (Merzendorfer 2006). Então é no momento da apólise e a deposição da nova cutícula, que ocorre a interferência dos reguladores de crescimento, em particular as benzoilureias (Cohen 1987, Cohen 1993).

As benzoilureias são moléculas inibidoras de quitina que foram descobertas na década de 70, quando surgiu o diflubenzurom como uma promessa no mercado, pois possuía todas as vantagens de um inseticida de risco reduzido e seletivo (Cohen 1993, Yu 2008). Mais tarde, outros inseticidas do grupo foram desenvolvidos, como por exemplo, teflubenzurom, clorfluazurom, hexaflumurom e lufenurom. O modo de ação desse grupo de inseticida não está bem elucidado, porém há três hipóteses (Miyamoto *et al.* 1993) de que essas moléculas de benzoilureias podem inibir a enzima quitina sintase, proteases ou inibir a formação de vesículas. Em consequência, impede o transporte da GlcNAc para fora da célula, ocorrendo a má formação da nova cutícula que deixa o tegumento mais frágil e levando o inseto à morte por não suportar a pressão corporal (Matsumura 2010). Mesmo quando o indivíduo sobrevive, apresenta efeitos subletais como a não emergência do adulto, má formação de adultos, diminuição da fecundidade, etc (De Bortoli *et al.* 2006).

A *P. xylostella* possui vários casos de resistência à maioria dos inseticidas usados para o seu controle (Talekar & Shelton 1993), embora a quantidade de inseticidas recomendados para o controle dela seja bem diversificada em questão de ingrediente ativo (De Bortoli *et al.* 2013). Os relatos da resistência a inseticida têm sido feito em diversos locais como Estados Unidos, América Central, Ásia e também no Brasil. A espécie tem desenvolvido resistência para as principais classes de inseticida incluindo *Bacillus thuringiensis* Berliner (Shelton *et al.* 1993, Zago *et al.*

2014) e inseticida reguladores de crescimento (Sun 1992), que são utilizados no controle de lagartas. No Brasil existem relatos de resistência de *P. xylostella* aos inseticidas indoxacarbe, espinosade, clorfenapir, clorantraniliprole, deltametrina e lufenurom (Castelo Branco & Amaral 2002, Oliveira *et al.* 2011, Santos *et al.* 2011, Ribeiro *et al.* 2014, Neto Lima 2013).

O desenvolvimento da resistência a inseticida é resultado de seleção direcional. A resistência a inseticidas é definida como a habilidade herdada de um organismo de tolerar as doses de um inseticida que seriam letais para a maioria dos indivíduos da espécie (Croft *et al.* 1988). Também caracteriza-se por ser pré-adaptativa e hereditária. Mesmo antes de qualquer uso de inseticida em uma determinada área, um ou vários genes presentes em baixa frequência controla(m) o(s) mecanismo(s) de resistência (Dobzhansky 1951, Yu 2008). Estudos tem sido realizados no intuito de conhecer como essa resistência é passada de geração em diferentes espécies (Tabashnik *et al.* 2002, Sayyed *et al.* 2005, Crowder *et al.* 2008, Basit *et al.* 2011). Além da clássica resistência a um produto específico, a resistência cruzada é caracterizada pela capacidade do inseto tolerar a partir de um único mecanismo de resistência, dois ou mais inseticidas de grupos químicos diferentes (Zhang *et al.* 1998).

No processo de resistência, alguns mecanismos estão sendo expresso em decorrência da interação genótipo/ambiente. Os principais mecanismos de resistência aos produtos químicos são: redução na penetração do inseticida, aumento na taxa de metabolismo do inseticida (pela atividade de esterases, monooxigenases dependentes do citocromo P450 e glutathione *S*-transferases), e por alterações no sítio de ação do produto (Oppenoorth 1984, Yu 2008). Especificamente para lufenurom, estudos indicam que há provavel envolvimento de monooxigenases dependentes do citocromo P450 na destoxificação desse inseticida contribuindo para a resistência (Bogwitz *et al.* 2005). No entanto, faz-se necessário estudos refinados no intuito

de entender todos os parâmetros que influenciam no desenvolvimento da resistência, como o genético, biológico e operacional (Georghiou & Taylor 1977).

No ano de 2011, o primeiro caso de resistência ao inseticida lufenurom foi relatado no Agreste de Pernambuco (município de Bezerros), observando-se alto nível de resistência (Santos *et al.* 2011). Desde então, não houve nenhum tipo de monitoramento da resistência. Conhecimentos básicos de genética da resistência para lufenurom são úteis para o manejo. Também a detecção, monitoramento e avaliação do risco de resistência podem fornecer informações sobre a evolução desta (Imai & Mori 1996). O entendimento da genética, dinâmica da resistência em campo e da sua estabilidade é necessário para se obter sucesso no manejo da resistência. No entanto, estas informações são importantes quando a resistência ainda não se desenvolveu em níveis altos em campo. Porém, o fato é que estudos sobre a resistência são feitos em geral quando a resistência já está desenvolvida ou estabelecida em determinada área (Talekar & Shelton 1993), como no caso da população de Bezerros, PE. No entanto, em outras áreas onde a resistência a lufenurom não tenha ainda se desenvolvido, o manejo das populações pode se beneficiar dos resultados deste estudo.

Pelo fato da resistência a inseticida ser um caráter 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 monofatoriais de herança: um processo de descoberta do gene, identificando genes que influenciam uma propriedade biológica (Griffiths *et al.* 2008). Desta forma, o presente trabalho objetivou investigar a suscetibilidade e o padrão de herança da resistência a lufenurom em população de *P. xylostella* do Agreste de Pernambuco, bem como testar a resistência cruzada a metoxifenoazida (ecdisteroide).

Literatura Citada

- Basit, M., A.H. Sayyed, M.A. Saleem & S. Saeed. 2011.** Cross-resistance, inheritance and stability of resistance to acetamiprid in cotton whitefly, *Bemisia tabaci* Genn (Hemiptera: Aleyrodidae). *Crop Prot.* 30: 705-712.
- Batista, F.C. 2011.** Interação tritrófica de cultivares de repolho, traça-das-crucíferas e do parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae). Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco Recife.
- Bogwitz, M.R., H. Chung, L. Magoc, S. Rigby, W. Wong, M. O'Keefe, J.A. McKenzie, P. Batterham & P.J. Daborn. 2005.** Cyp12a4 confers lufenuron resistance in a natural population of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102: 12807-12812.
- Carvalho, C., R.R. Beling & D.N. Silveira. 2013.** Anuário brasileiro de hortaliças 2013. Editora Gazeta Santa Cruz, Santa Cruz do Sul, 88 p.
- Castelo Branco, M. & A.G. Gatehouse. 2001.** A survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 30: 327-332.
- Castelo Branco, M. & P.S.T. Amaral. 2002.** Inseticidas para controle da traça-das-crucíferas: como os agricultores os utilizam no Distrito Federal? *Hortic. Bras.* 20: 410-415.
- Castelo Branco, M., G.L. Villas Bôas & F.H. França. 1996.** Nível de dano de traça-das-crucíferas em repolho. *Hortic. Bras.* 14: 154-157.
- Castelo Branco, M., F.H. França & G.L. Villas Boas. 1997.** Traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*): Artrópodes de importância econômica. 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.
- Cohen, E. 1987.** Chitin biochemistry - synthesis and inhibition. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 71-93.
- Cohen, E. 1993.** Chitin synthesis and degradation as targets for pesticide action. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 22: 245-261.
- Croft, B.A., B.A. Roff & B. Van. 1988.** Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. *Exp. Appl. Acarol.* 4: 277-300.
- Crowder, D.W., C. Ellers-Kirk, C.M. Yafuso, T.J. Dennehy, B.A. Degain, V.S. Harpold, B.E. Tabashnik & Y. Carriere. 2008.** Inheritance of resistance to pyriproxyfen in *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae) males and females (B biotype). *J. Econ. Entomol.* 101: 927-932.

- De Bortoli, S.A., R.T. Thuler & B.S. Lopes. 2006.** Efeito de lufenuron e azadiractina sobre adultos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Científica* 34: 53–58.
- De Bortoli, S.A., R.A. Polanczyk, A.M. Vacari, C.P. De Bortoli & R.T. Duarte. 2013.** *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): Tactics for Integrated Pest Management in Brassicaceae, p. 31-51. In S. Soloneski (ed.), *Weed and Pest Control- Conventional and New Challenges*. InTech, Croatia.
- Dobzhansky, T. 1951.** *Genetics and the origin of species*. 3 ed. Columbia Univ. Press. New York, 364 p.
- Duran, A., B. Bowers & E. Cabib. 1975.** Chitin synthetase zymogen is attached to the yeast plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72: 3952-3955.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zuchhi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia Agrícola*. FEALQ. Piracicaba, 920 p.
- Georghiou, G.P. & C.E. Taylor. 1977.** Genetic and Biological Influences in the Evolution of Insecticide Resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 319-323.
- Griffiths, A. F., S. R. Wessler, R. C. Lewontin & S. B. Carrol. 2008.** *Introdução à genética*. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A, 726p.
- Horst, M.N. & A.N. Walker. 1993.** Crustacean chitin synthesis and the role of the Golgi apparatus: in vivo and in vitro studies., p. 109-118. In R.A.A. Muzzarelli (ed.), *Chitin Enzymology*. Atec, Grottammare.
- Imai, K. & Y. Mori. 1996.** Inheritance and stability of resistance to *Bacillus thuringiensis* formulations in field population of diamondback moth, *Plutella xylostella*., p. 302–307. In A. Sivapragasam, W.H. Loke, A.K. Hussan & L. Guan-Soon (eds.), *The management of diamondback moth and other crucifer pests.*, 3 ed, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Imenes, S.D.I., T.B. Campos, S.M. Rodrigues Neto & E.C. Bergman. 2002.** Avaliação da atratividade de feromônio sintético da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho. *Arq. Inst. Biol.* 69: 81-84.
- Ishaaya, I. & A.R. Horowitz. 1998.** Insecticides with Novel Modes of Action: An Overview, p. 1-18. In I. Ishaaya & D. Degheele (eds.), *Insecticides with Novel Modes of Action: Mecanismos and Application*. Springer, Verlag.
- Lima Neto, J.E. 2014.** Detecção e Monitoramento da resistência de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) a inseticidas de risco reduzido. Dissertação de Mestrado, UFRPE Recife.

- Matsumura, F. 2010.** Studies on the action mechanism of benzoylurea insecticides to inhibit the process of chitin synthesis in insects: A review on the status of research activities in the past, the present and the future prospects. *Pestic. Biochem. Phys.* 97: 133-139.
- Merzendorfer, H. 2006.** Insect chitin synthase: a review. *J. Comp. Physiol.* 176: 1 – 15.
- Michereff, S.J., M.A. Noronha, O.M. Rocha Jr, J.A. Silva & E.S.G. Mizubuti. 2003.** Variabilidade de isolados de *Alternaria brassicicola* no estado de Pernambuco. *Fitopatol. Bras.* 28: 656-663.
- Miyamoto, J., M. Hirano, Y. Takimoto & M. Hatakoshi. 1993.** Insect growth regulators for pest control, with emphasis on juvenile hormone analogs: Present status and future prospects. *ACS Symp. Ser.* 524: 144-168.
- Monnerat, R.G., S.C.M. Leal-Bertioli, D.J. Bertioli, T.M. Butt & D. Bordat. 2004.** Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. *Hortic. Bras.* 22: 607-609.
- Oliveira, A.C., H.A.A. Siqueira, J.V. Oliveira, J.E. Silva & M. Michereff Filho. 2011.** Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. *Sci. Agric.* 68: 154-159.
- Oppenoorth, F.J. 1984.** Biochemistry of insecticide resistance. *Pestic. Biochem. Phys.* 22: 187-193.
- 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.
- Santos, V., H. Siqueira, J. Silva & M. 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.
- Sayed, A.H., M.N.R. Attique, A. Khaliq & D.J. Wright. 2005.** Inheritance of resistance and cross-resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Plutellidae) from Pakistan. *Pest Manag. Sci.* 61: 636-642.
- Sentandreu, R., A. Martinez-Ramon & J. Ruiz-Herrera. 1984.** Localization of chitin synthase in *Mucor rouxii* by an autoradiographic method. *J. Gen. Microbiol.* 130: 1193-1199.
- Shelton, A.M., J.L. Robertson, J.D. Tang, C. Perez, S.D. Eigenbrode, H.K. Preisler, W.T. Wilsey & R.J. Cooley. 1993.** Resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* subspecies in the field. *J. Econ. Entomol.* 86: 697-705.
- Sun, C.N. 1992.** Insecticide resistance in diamondback moth, p. 419-426. In N.S. Talekar (ed.), *Diamondback moth and other crucifer pests.*, 2 ed. AVRDC, Taiwan.

- Tabashnik, B.E., T.B. Liu, T.J. Dennehy, M.A. Sims, M.S. Sisterson, R.W. Biggs & Y. Carriere. 2002.** Inheritance of resistance to Bt toxin Cry1Ac in a field-derived strain of pink bollworm (Lepidoptera : Gelechiidae). *J. Econ. Entomol.* 95: 1018-1026.
- Talekar, N.S. & A.M. Shelton. 1993.** Biology, Ecology, and Management of the Diamondback Moth. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 275-301.
- Vardanis, A. 1979.** Characteristics of the chitin-synthesizing system of insect tissue. *Biochim. Biophys. Acta* 588: 142-147.
- Verkerk, R.H.J. & D.J. Wright. 1996.** Multitrophic interactions and management of the diamondback moth: a review. *Bull Entomol. Res.* 86: 205–216.
- Watson, L. & M.J. Dallwitz. 1992.** The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. Disponível em: <http://delta-intkey.com>. Acesso 27 de junho de 2014.
- Yang, J.C., Y.I. Chu & N.S. Talekar. 1994.** Studies on the Characteristics of Parasitism of *Plutella xylostella* (Lep, Plutellidae) by a Larval Parasite *Diadegma-Semiclausum* (Hym, Ichneumonidae). *Entomophaga* 39: 397-406.
- Yu, S.J. 2008.** The toxicology and biochemistry of insecticides. 1 ed. CRC Press. New York, p. 296.
- Zago, H.B., H.A.A. Siqueira, E.J.G. Pereira, M.C. Picanço & R. Barros. 2014.** Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. *Pest Manag. Sci.* 70: 488-495.
- Zhang, L., K. Harada & T. Shono. 1998.** Cross resistance to insect growth regulators in pyriproxyfen-resistant housefly. *Appl. Entomol. Zool.* 33: 195-197.

CAPÍTULO 2

HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Plutella xylostella* (L.) AO LUFENUROM¹

LUCAS SOUZA ARRUDA

Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,

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

¹ Arruda, L. S. Herança da Resistência de *Plutella xylostella* (L.) ao lufenurom. A Ser submetido a Journal of Economic Entomology.

RESUMO - *Plutella xylostella*, vulgarmente conhecida como traça das brássicas, é a praga mais importante da Brassicaceae no Brasil. Este estudo objetivou avaliar a suscetibilidade de *P. xylostella* e padrão de herança ao lufenurom, inseticida regulador de crescimento (IGR) que interfere na muda, bem como a resistência cruzada à metoxifenoazida. As curvas de concentração-mortalidade foram estimadas para todas as populações, também para os parentais (Recife-S e Bezerros-R), e as gerações F₁s e retrocruzamento, através do método de imersão da folha, que foi também utilizado para testar a dose recomendada. Populações desta praga coletadas no Agreste de Pernambuco foram detectada como muito resistentes ao lufenurom. A dose recomendada de lufenurom (Match 50 CE) causou mortalidade superior a 80% das larvas para apenas duas populações (Piedade e Recife). O metoxifenoazida causou mortalidade superior a 80% das larvas de todas as populações testadas, sugerindo que não há resistência cruzada entre os dois reguladores de crescimento. A população de Bezerros foi a mais resistente (11.283 vezes) comparada com a população de Recife (padrão suscetível). Resistência ao lufenurom foi herdada como autossômica e incompletamente recessiva, ou seja, nem ligada ao sexo nem tem qualquer efeito maternal. Além disso, a resistência ao lufenurom foi monofatorial, sugerindo que um único gene está envolvido na resistência. O resultado deste trabalho é fundamental para a compreensão da evolução da resistência ao lufenurom na região do Agreste de Pernambuco. Porém, outros estudos sobre o mecanismo e fitness irá enriquecer a compreensão da resistência a IGR para ajustar programas de manejo da resistencia.

PALAVRAS-CHAVE: Genética, regulador de crescimento de insetos, Brassicaceae

INHERITANCE OF RESISTANCE OF *Plutella xylostella* (L.) TO LUFENURON

ABSTRACT – *Plutella xylostella*, commonly known as diamondback moth, is the most important pest of Brassicaceae in Brazil. This study aimed to assess the susceptibility of *P. xylostella* and pattern of inheritance to lufenuron, an insect growth regulator (IGR) that impairs the insect molting, as well as the cross-resistance to methoxyfenozide. Concentration-mortality curves were estimated for all populations, also for parental (Recife-S e Bezerros-R), F₁s and backcross generations, through the leaf dipping method, which was also used to test the label dose. Populations of this pest collected in the Agreste region of Pernambuco were detected as highly resistant to lufenuron. The recommended dose of lufenuron (Match) caused more than 80% mortality of larvae for only two populations (Piedade and Recife). Methoxyfenozide caused more than 80% mortality of larvae of all tested populations, suggesting no cross-resistance between both insect growth regulators. The population of Bezerros was the most resistant (11,283 times) compared with Recife population (standard reference). Resistance to lufenuron was inherited as autosomal and incompletely recessive, i.e., neither sex-linked nor have any maternal effect. Also, resistance to lufenuron was monofactorial, suggesting that a single gene is involved in resistance. The result of this work was crucial to understanding the evolution of resistance to lufenuron in the Agreste region of Pernambuco; however further studies on the mechanism and fitness will enrich the understanding of resistance to IGRs to fine-tune IRM programs.

KEY WORDS: Genetics, insect growth regulator, Brassicaceae

Introdução

A traça das brássicas (TDB), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), é considerada uma das pragas mais destrutivas em todo o mundo. Atualmente o custo de controle desta praga está estimado entre 4 a 5 bilhões de dólares por ano (Zalucki *et al.* 2012). No entanto, isso parece não ser suficiente para a obtenção de controle efetivo de populações de TDB. A alta capacidade migratória, potencial biótico, multivoltinismo, e ausência de práticas de manejo adequado contribuem para o aumento populacional de *P. xylostella* (Talekar & Shelton 1993, Castelo Branco *et al.* 2001). Plantios sucessivos e a não eliminação de restos culturais são práticas usuais na maioria dos campos de produção (Castelo Branco *et al.* 2001). Desta forma, a disponibilidade de hospedeiros por longos períodos no campo tem requerido utilização intensa de inseticidas, durante todo o ciclo das culturas (Castelo Branco *et al.* 2001), o que tem levado ao desenvolvimento de populações resistentes aos inseticidas (Yu & Nguyen 1992). A *P. xylostella* é considerada hoje o inseto mais resistente a inseticidas no mundo (Whalon 2008), incluindo organofosforados (Yu & Nguyen 1992), piretroides, reguladores de crescimento (Santos *et al.* 2011), toxinas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Tabashnik *et al.* 1990, Zago *et al.* 2014), e mais recentemente as espinosinas (Zhao *et al.* 2002, Zhao *et al.* 2006b) e diamidas (Wang & Wu 2012, Ribeiro *et al.* 2014).

O desenvolvimento de resistência a inseticidas em populações de *P. xylostella* no Brasil é um problema muito sério que tem sido relatado em maior amplitude mais recentemente (Oliveira *et al.* 2011, Santos *et al.* 2011, Ribeiro *et al.* 2014, Zago *et al.* 2014). A perda da eficácia dos produtos é voltada ao controle de pragas. Por exemplo, as diamidas têm sido comprometidas pelo uso desmedido e ausência de práticas de manejo adequadas, principalmente na região Nordeste do Brasil. Nestas circunstâncias, muitos produtores tem feito uso de produtos mais baratos e em mistura, ou simplesmente retornado com produtos antes eficazes contra a *P. xylostella*, tais como

inseticidas do grupo dos inibidores da biossíntese de quitina, ou reguladores de crescimento (IRAC grupo 15, tipo 0). Essa classe de inseticida tem sido utilizada como uma ferramenta útil no manejo integrado de pragas (MIP) devido ao seu modo de ação (inibidor de quitina) ser diferente dos inseticidas tradicionais (neurotóxicos). Além disso, podem ser usados como um componente na rotação de produtos para evitar o desenvolvimento da resistência, e o acúmulo de resíduos tóxicos no meio ambiente (Ishaaya & Horowitz 1998, Matsumura 2010).

O lufenurom, que pertence ao grupo supracitado e integrado ao subgrupo das benzoilfeniluréias (IRAC 2014), é utilizado principalmente no controle de larvas de Lepidoptera, entrando em exposição com organismo principalmente via ingestão. Este apresenta ainda atividade a Coleoptera, e alguns Thysanoptera, Hemiptera e Diptera (FAO 2008) O uso de lufenurom em algumas áreas do Nordeste do Brasil tem aumentado após falha de controle por outros inseticidas (por exemplo clorantraniliprole), porém relatos de perda de eficácia a *P. xylostella* têm ocorrido entre os produtores da região, sugerindo uma forte pressão de seleção nas populações. Santos *et al.* (2011) já haviam relatado um caso de resistência de *P. xylostella* em população do município de Bezerros, PE. Contudo, desde então nenhum monitoramento da resistência foi feito com produtos à base de inseticidas regulador de crescimento em populações desta espécie no Brasil. Além disso, não se tem conhecimento das bases genéticas da resistência de *P. xylostella* ao lufenurom, e tais informações são importantes para o sucesso ou refinamento de estratégias de manejo (Georghiou & Taylor 1977). 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 de herança: um processo de descoberta do gene, identificando genes que influenciam uma propriedade biológica (Griffiths *et al.* 2008). Desta forma, o presente trabalho objetivou estudar a suscetibilidade, padrão de herança

e resistência cruzada a metoxifenoazida em população de *P. xylostella* do Agreste de Pernambuco frente ao inseticida lufenurum.

Material e Métodos

Populações de *P. xylostella* e manutenção. Uma população de laboratório denominada Recife (REC) oriunda da criação estoque do Laboratório de Biologia de Insetos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e quatro populações distintas de *P. xylostella* denominadas de acordo com os respectivos locais de coleta: Bezerros (BZR), Gravatá (GVT), Vitória de Santo Antão (VSA) e Piedade (PDD) foram mantidas individualmente no Laboratório de Interações Insetos-Tóxicos do Departamento de Agronomia da Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A manutenção da criação de *P. xylostella* foi conduzida conforme a metodologia descrita por Barros & Vendramim (1999).

Inseticidas. O produto formulado utilizado em todos os bioensaios foi o Match CE (lufenurum 50 i.a. g/L, Syngenta S.A., São Paulo-SP) e os resultados são expressos em ingrediente ativo (mg/L). Também, foi utilizado somente no experimento de dose recomendada o formulado Intrepid 240 SC (metoxifenoazida – 240 i.a. g/L, Dow Agrosience, São Paulo - SP), para investigar a hipótese de resistência cruzada.

Avaliação da dose recomendada de lufenurum e metoxifenoazida em *P. xylostella*. Para cada teste foi utilizado o método de bioensaio por ingestão com tratamento superficial do disco de folha de couve com o inseticida, sendo que a dose recomendada do lufenurum utilizada no controle da praga na cultura de repolho no Brasil (50 mg de i.a. lufenurum/L) (Brasil 2014) e a dose recomendada para metoxifenoazida foi 140 mg de i.a/L, concentração utilizada por Cordero *et. al* (2006). Três repetições com cinco replicatas foram feitas, nas quais cada placa tinha 10 lagartas de segundo instar, totalizando 150 lagartas. A leitura do bioensaio foi feita após 96 horas

utilizando o mesmo critério de mortalidade dos ensaios de concentração-resposta. Os resultados foram expressos em porcentagem de mortalidade corrigidas pela fórmula de Abbott (Abbott 1925). A mortalidade de 80% foi usada como referência, pois é o nível mínimo de eficiência requerido para registro de um novo inseticida no Brasil, determinado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2014).

Bioensaios de suscetibilidade de *P. xylostella* a lufenurom. Curvas de concentração-mortalidade foram estabelecidas para o inseticida Match CE, para as diferentes populações de *P. xylostella* através de bioensaios, onde se avaliou a mortalidade. Para cada população, testes preliminares com concentrações de fator 10 para o inseticida foram realizados para estabelecer o intervalo de concentrações onde ocorre mortalidade entre 0% e 100%.

De acordo com o método nº 018 do IRAC (2014), para a realização dos bioensaios com *P. xylostella* foram utilizadas folhas orgânicas de couve *Brassica oleracea* var. *acephala* sanitizadas em solução de hipoclorito de sódio a 5%, e posteriormente lavadas em água limpa. Após secagem com papel toalha, discos de 5cm de diâmetro foram cortados com o auxílio de tubo cilíndrico metálico. Foram preparados no mínimo cinco a sete concentrações com água destilada + Agr'Óleo como espalhante adesivo a 0,1%, e em seguida aplicados através de imersão dos discos de folhas em cada concentração por 10 segundos. Como testemunha foi usada apenas água destilada + Agr'Óleo como espalhante adesivo a 0,1%. As folhas foram dispostas em papel toalha, permanecendo até a secagem total em temperatura ambiente. Os discos foram transferidos para placas de Petri (60 x 15 mm), contendo papel filtro (5 cm) umedecidos com água destilada. Dez lagartas de segundo instar de *P. xylostella* foram transferidas com o auxílio de pincel para cada placa de Petri. As concentrações foram repetidas duas ou três vezes e os ensaios repetidos pelo menos duas vezes. As placas de Petri foram mantidas em câmaras climáticas (B.O.D) com temperatura de $25 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, U.R. de $65 \pm 5\%$ e fotoperíodo 12 h. A mortalidade foi avaliada após

96 horas de exposição ao inseticida. O critério de mortalidade baseou-se nas lagartas que não conseguiram mover-se por pelo menos a extensão do seu comprimento e, portanto, foram consideradas mortas (Tabashnik et al. 1990). 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). As razões de resistência e seus intervalos de confiança a 95% foram calculados segundo método descrito por Robertson et al. (2007), sendo a razão de toxicidade consideradas significativa quando o intervalo de confiança não incluía o valor 1,0 (Robertson *et al.* 2007).

Obtenção das populações de *P. xylostella* Suscetível e Resistente. A população suscetível (Recife - REC-S), mantida por aproximadamente 16 anos sem contato com inseticidas após coleta, e a resistente (Bezerros - BZR-R) foi coletada no início de abril de 2014, em cultivo de Brássicas no município de Bezerros, PE (8° 14' 33" S e 35° 47' 7" W). Os valores de CL50 para as duas populações parentais foram estimados a partir das curvas de concentração-resposta através de bioensaio como descrito acima. Para determinar a herança da resistência foram utilizados lagartas de 2° instar de ambas as populações. A criação dessas populações parentais foram feitas com folhas orgânicas de couve *B. oleracea* (L.) oferecidas diariamente para alimentação das lagartas. A população de BZR-R passou por uma pressão de seleção com o inseticida lufenurom por uma geração, aplicando dose recomendada pelo método de imersão das folhas de couve e oferecidas às lagartas para eliminar quaisquer genes envolvidos em outra resistência e obter uma resposta consistente da herança (eliminar heterozigose).

Herança da resistência. Para constatar se a resistência a lufenurom é autossômica ou se está ligada ao sexo, ou se existe algum efeito maternal, utilizou-se os adultos de REC-S e BZR-R para realizar os cruzamentos recíprocos entre machos (n=50) e fêmeas (n=50) virgens das duas populações, a fim de obter insetos de dois tipos de heterozigotos (progênie F1), os SR (♂

suscetível x ♀ resistente) e RS (♂ resistente x ♀ suscetível). Para garantir que os adultos não acasalassem, as pupas de cada população foram individualizadas em tubos tipo Eppendorf de 5 mL de fundo redondo até a emergência. Foram montadas duas gaiolas dos cruzamentos, no qual os adultos eram alimentados com solução de mel a 10%. E, diariamente eram retiradas as posturas e mantidas separadas, com o objetivo de obter lagartas para o bioensaio de concentração-mortalidade.

Os experimentos de dominância em função da concentração foi conduzido com 10 concentrações pré estabelecidas para as populações REC (S), BZR (R) e F1 (heterozigotos), utilizando bioensaio por ingestão com tratamento superficial do disco de folha de couve com o inseticida lufenurom. Os discos foram posteriormente acondicionados em condições controladas como descrito no bioensaio de suscetibilidade. A avaliação da mortalidade ocorreu após 96 horas do tratamento.

Para determinar o número de genes envolvidos na resistência e investigar se a resistência é monofatorial ou polifatorial, 50 machos e 50 fêmeas, ambos virgens de *P. xylostella* proveniente da progênie F1 foram retrocruzados com 50 machos e 50 fêmeas também virgens da população parental resistente (BZR-R), em consequência desta população apresentar o fenótipo mais distinto quando comparada a progênie F1. A oportunidade de escolha entre os indivíduos aumenta o poder do teste do retrocruzamento em diferenciar os padrões de herança (Tabashnik 1991). Assim, realizou-se os bioensaios concentração-mortalidade conforme descrito para os cruzamentos recíprocos.

Análises. As hipóteses de resistência autossômica ou ligada ao sexo em *P. xylostella* foram analisadas a partir das curvas de concentração-mortalidade obtidas para adultos da progênie F1, oriundos de cruzamentos recíprocos entre adultos da população suscetível (REC) e da população resistente (BZR). A partir da CL_{50} estimada para a progênie F1 (SR, RS e F1 agrupado) e para as

populações parentais suscetível (REC) e resistente (BZR), o grau de dominância da resistência foi determinado seguindo o método de Stone (1968): $D = [(2 \theta_3 - \theta_2 - \theta_1) / (\theta_2 - \theta_1)]$. Onde, D = grau médio de dominância; $\theta_1 = \log_{10} (CL_{50})$ da população suscetível; $\theta_2 = \log_{10} (CL_{50})$ da população resistente; e $\theta_3 = \log_{10} (CL_{50})$ da população heterozigota (progênie F1). Assim, se $D = 1$, indica dominância completa; $0 < D < 1$, indica dominância incompleta; $-1 < D < 0$, indica recessividade incompleta; e $D = -1$ indica recessividade completa. O erro padrão do grau de dominância foi calculado utilizando a fórmula descrita por Lehmann (1966), e interpretado segundo Preisler *et al.* (1990).

A herança monofatorial ou polifatorial em *P. xylostella* foi inicialmente estimada pela comparação entre as inclinações das retas e variâncias da população resistente, e das progênies F1 agrupado e retrocruzada. Já o teste direto para herança monofatorial foi baseado no ajuste entre a mortalidade observada da progênie oriunda do retrocruzamento a uma determinada concentração de lufenurom e a mortalidade esperada nesta mesma concentração, calculada como descrito por Tabashnik (1991): $Y_x = 0,5 (WF1 + WRR)$, onde WF1 e WRR correspondem às mortalidades observadas (W) da progênie F1 agrupado e da população resistente (BZR) na concentração x, respectivamente. O valor do qui-quadrado foi calculado a partir das mortalidades observadas no retrocruzamento e das mortalidades esperadas segundo a fórmula descrita por Sokal & Rohlf (1981): $\chi^2 = (F1 - pn) / pqn$, onde F1 corresponde ao número de mortos da progênie retrocruzada na concentração x; p corresponde à mortalidade esperada; n corresponde ao número total de indivíduos da progênie retrocruzada; e $q = 1 - p$. Desta forma, a hipótese de herança monofatorial é rejeitada ($P < 0,05$), se o valor de qui-quadrado calculado para cada concentração é maior que o tabelado considerando grau de liberdade igual a 1.

O número mínimo de genes (nE) influenciando a resistência foi obtido através do método de Lande (1981), utilizando a fórmula: $nE = (\theta_2 - \theta_1)^2 / 8\sigma_s^2$, onde θ_1 e θ_2 correspondem ao \log_{10}

(CL₅₀) da população suscetível e resistente, respectivamente. E, σ^2 pode ser estimado através da fórmula: $\sigma^2 = 2 \sigma_{rc}^2 + 2 \sigma_{F12} + 0,5 \sigma_{12} - 0,5 \sigma_{22}$, onde σ_{rc}^2 , σ_{F12} , σ_{12} e σ_{22} correspondem às variâncias da progênie retrocruzada, da F1 agrupado e das populações suscetível e resistente, respectivamente.

A dominância em função da concentração (h) foi calculada a partir da fórmula descrita por Hartl (1992): $h = (w_{12} - w_{22}) / (w_{11} - w_{22})$, onde w_{11} , w_{12} e w_{22} correspondem ao desempenho calculado para indivíduos homozigotos dominantes, heterozigotos e homozigotos recessivos, respectivamente. Para os indivíduos homozigotos dominantes, o fitness foi definido como 1. Já o fitness para heterozigotos e homozigotos recessivos foi obtido pela relação entre a sobrevivência observada das lagartas da progênie F1 agrupado ou da população suscetível (REC) e a sobrevivência observada das lagartas da população resistente (BZR). Os valores de h variam entre 0 (recessividade completa) e 1 (dominância completa). Se h corresponde a 0,5 (codominante ou aditivo) ou está entre $0 < h < 0,5$ (recessividade incompleta) e $0,5 < h < 1$ (dominância incompleta).

Resultados

A dosagem recomendada de lufenurum (Match) causou mortalidade de lagartas superior a 80% para as populações de PDD (81,3%) e REC (96,7%), enquanto que para as populações de VSA, BZR e GVT a mortalidade foi de 6,6; 4,0; e 0,0%, respectivamente (Fig. 1). O nível mínimo de mortalidade de 80% na concentração recomendada determinado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento não foi obtido, sugerindo falha de controle. Somente as populações de REC e PDD apresentaram a concentração de campo sobreposto ao intervalo de confiança no teste de suscetibilidade. Para a dose recomendada de metoxifenoazida, houve mortalidade de lagartas superior a 80% em todas as populações testadas (Fig. 1).

Todos os resultados de concentração-mortalidade ajustaram o modelo de Probit (χ^2 não significativo, $P > 0,05$). A população de REC apresentou a menor CL_{50} entre as populações, equivalente a 0,04 mg de i.a./L, indicando maior suscetibilidade, seguida da população de PDD com CL_{50} de 0,36 mg de i.a./L. As populações de VSA, GVT e BZR apresentaram valores de CL_{50} de 438,0; 450,6 e 479,4 mg de i.a./L, respectivamente. A maior inclinação foi da população de VSA (3,71) seguida de BZR (2,77) e GVT (2,25), ao contrário da população de REC (0,90) que mostrou uma inclinação com aproximadamente 4,1 vezes menor do que a população VSA. As razões de resistência para as populações de BZR, GVT e VSA foram 11.283-, 10.312-, 10.621- vezes em relação a população de REC, enquanto para PDD foi de apenas 8,44-vezes. Os valores de CL_{80} para as populações de REC, PDD, VSA, GVT e BZR foram de 0,36, 15,56, 819,9, 1.066,8 e 964,7 mg de i.a./L de lufenurom, respectivamente. A CL_{80} da população de BZR (a mais resistente) foi 2.679 vezes maior que a REC (suscetível) em relação a eficiência do produto (Tabela 1).

Os resultados do teste de toxicidade realizados com as populações parentais (REC e BZR) e progênies oriundas dos cruzamentos recíprocos (σ^7 REC x ϕ BZR (F_1) e σ^7 BZR X ϕ REC (F_1')) e retrocruzamentos estão apresentados na Tabela 2. As inclinações das curvas de concentração-mortalidade das populações suscetível (REC) e resistente (BZR) foram de 0,98 e 3,09 respectivamente. Já as inclinações estimadas para as progênies F_1 e F_1' foram de 0,52 e 0,93, respectivamente. As progênies F_1 foram agrupadas e a nova inclinação estimada correspondeu a 0,59.

Os valores de CL_{50} das populações suscetível e resistente foram correspondentes a 0,22 mg de i.a./L e 337,91 mg de i.a./L nessa ordem, com razão de resistência de aproximadamente 1.544 vezes (Tabela 2). As progênies F_1 e F_1' apresentaram CL_{50} de 1,00 e 0,89 mg de i.a./L, respectivamente. Além disso, foi observado que estas progênies não apresentaram CL_{50} s

significativamente diferentes entre si [RR₅₀(IC95%): (0,29-4,22)], sugerindo que os genes envolvidos na resistência estão presente nos cromossomos autossômicos. Portanto, os dados de mortalidade da progênie "F₁ agrupado" resultou em uma CL₅₀ de 1,01 mg de i.a./L, pois não houve diferença significativa entre as progênies. As razões de resistência para as progênies F₁, F₁' e F₁ agrupado foram de 4,57; 4,10; e 4,61, respectivamente em comparação a REC (Tabela 2).

De acordo com o método de Stone (1968), os graus de dominância da resistência ao lufenurom foram de -0,58; -0,61; e -0,58 para as progênies F₁, F₁' e F₁ agrupado, respectivamente (Tabela 2). Considerando os erros padrões estimados calculados pela fórmula de Lehmann (1966), a resistência ao lufenurom é incompletamente recessiva.

A inclinação da reta estimada para a progênie retrocruzada foi significativamente diferente da população resistente e da progênie F₁ agrupado ($\chi^2 = 21,00$; P=0,003), o que aponta um aumento da variação genética. O teste direto do modelo monogênico indicou que os desvios obtidos entre as mortalidades esperadas e observadas não foram significativos para oito das nove concentrações testadas. Exceto a concentração 0,97 mg de i.a./L produziu mortalidade observada (18,2%) significativamente inferior à mortalidade esperada (44,3%). Também, mortalidade variando em torno de 40% foi observada em quatro concentrações testadas, indicando resistência monofatorial. Entretanto, a diferença média entre as mortalidades esperadas e observadas para as nove concentrações utilizadas foi correspondente a 3,4% (Tabela 3). Pelo método de Lande (1981), o número mínimo de genes influenciando a resistência de *P. xylostella* ao lufenurom foi de aproximadamente 1.

A dominância baseada em concentrações (*h*) foi dependente da concentração utilizada. Na menor concentração, correspondente a 0,2 mg de i.a./L, a resistência foi considerada funcionalmente dominante (*h* = 0,90). Contudo, na maior concentração utilizada deste inseticida,

correspondente a 2000 mg de i.a./L, a resistência apresentou-se como funcionalmente recessiva ($h = 0$) (Tabela 4).

Discussão

O controle de *P. xylostella* no Brasil vem se tornando um grande desafio. A substituição de moléculas em sequência bem como a evolução de resistência a estas, parece ter chegado à situação de total ausência de controle. Esta realidade insustentável remonta ao fato que até mesmo classes de inseticidas recentes como diamidas têm perdido a eficácia de controle em populações desta espécie (Wang & Wu 2012, Ribeiro *et al.* 2014). Com isto, outras classes até então deslocadas pela alta eficácia das diamidas antranílicas foram ressurgindo no cenário como os inseticidas reguladores de crescimento, particularmente teflubenzurom e lufenurom. Contudo, a rápida resseleção de fenótipos resistentes a estes parece não atenuar o problema da resistência, aumentando a dependência de moléculas mais efetivas e cada vez mais escassas. Isso ficou claro neste estudo quando doses recomendadas de campo demonstraram total falha de controle pelo lufenurom em populações de campo (VSA, GVT e BZR) de *P. xylostella*. Ao contrário do inseticida lufenurom, o metoxifenoazida foi eficiente no controle de todas as populações testadas de *P. xylostella*, resultado também observado em experimentos em campo no estado da Virginia em anos consecutivos, mostrando que o inseticida metoxifenoazida foi eficiente no controle de *P. xylostella* (Cordero *et al.* 2006). Esta observação sugere que não há resistência cruzada entre os dois inseticidas em populações da região de estudo, pois tais populações nunca entraram em contato com o metoxifenoazida. Desta forma, a incorporação deste em programa de manejo da resistência, em rotação de produtos químicos, poderia aumentar a vida útil de outros inseticidas, mitigando o desenvolvimento da resistência (Sayyed *et al.* 2005). Contudo, melhor avaliação da

linha básica da suscetibilidade das populações ao metoxifenoazida esclarecerá se existe um padrão de resistência cruzada a outros inibidores de crescimento de insetos.

Altos níveis de resistência foram observados para as populações de campo (> 10.000 vezes) de *P. xylostella*, valores muito superiores do que o estimado em levantamento anterior (Santos *et al.* 2011), representando um aumento em torno de 12 vezes. Vale ressaltar, que na avaliação destes autores, a população se encontrava mais heterogênea em relação ao presente estudo. A inclinação da curva concentração-mortalidade da população mostrou-se três vezes maior, assim como as outras de campo, sugerindo que elas têm um alto grau de homogeneidade para o gene da resistência. O aumento pode estar relacionado com o uso contínuo do produto no controle de *P. xylostella* em cultivos de brássicas da região, bem como a existência de alta variabilidade na população de Bezerros (Santos *et al.* 2011). Produtores desse local tem relatado o uso de várias classes inseticidas, porém sem êxito no controle da *P. xylostella*. Sem acesso a tecnologias de monitoramento que determinem o momento adequado de entrar com o método químico, os produtores aplicam inseticidas rotineiramente.

Este é o primeiro relato do padrão de herança de *P. xylostella* ao inseticida lufenurum. Os padrões relatados acima (evolução da resistência relativamente rápida, altos níveis de resistência) são consistentes com a herança monofatorial. Além disso, a resistência ao lufenurum na população de Bezerros foi autossomal (sem ligação a sexo ou efeito maternal), com grau de dominância tendendo para recessividade incompleta. Este padrão de herança parece ser amplo para outros inseticidas reguladores de crescimento (ex.: clorfluazurom) no Japão (Kobayashi *et al.* 1990), sendo completamente recessivos e autossomal. Outros trabalhos apresentaram esse mesmo padrão de herança para outros inseticidas, como para o deltametrina, no Paquistão (Sayyed *et al.* 2005), espinosade no Hawaii (Zhao *et al.* 2002), *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* na Tailândia (Imai & Mori 1996). Ao contrário da herança da resistência de TDB ao lufenurum, na Índia o padrão foi

diferente, passando a ser incompletamente dominante para deltametrina (Balasubramani *et al.* 2008), também para indoxacarbe no Hawaii (Zhao *et al.* 2006a), mostrando que o grau de dominância pode variar de uma região para outra e de um inseticida para outro. Em algumas espécies de Lepidoptera tem sido relatados padrões de herança variados (Diez-Rodríguez & Omoto 2001, Alves *et al.* 2006, Nascimento 2013) incluindo Coleoptera (Rodrigues *et al.* 2013). Quando a herança é recessiva a frequência do gene da resistência pode aumentar rapidamente na população, já a taxa de crescimento populacional pode ser mais lenta quando o alelo é recessivo (Georghiou & Taylor 1977). No entanto, estes são fatores suficientes para rápida evolução da resistência quando se confia em única molécula e ausência de outras práticas de manejo, incluindo a inexistência de refúgio, que é um recurso importante para a manutenção de genótipos suscetíveis (Georghiou 1983).

A resistência de *P. xylostella* ao lufenurom na população de Bezerro é governada por um gene (herança monofatorial). O padrão monogênico é consistente com a resistência muito alta obtida após resseleção em espaço de tempo relativamente curto de uso do lufenurom em população de campo (Roush & McKenzie 1987). Os mecanismos de resistência nesta população ainda não foram elucidados. Em alguns casos, a resistência tem sido associada ao metabolismo detoxificativo, principalmente ao oxidativo (Bogwitz *et al.* 2005, FAO 2014). No entanto, a possibilidade de haver um receptor de membrana (sulfonilureia) como sítio alvo de IGRs envolvido na inibição de quitina (Abo-Elghar *et al.* 2004, Matsumura 2010) é grande, e a hipótese de que uma mutação de sítio alvo esteja associada a esta resistência não está descartada.

A resistência ao lufenurom foi detectado em populações do Agreste de Pernambuco no Nordeste do Brasil com padrão monogênico, autossomal de herança que foi incompletamente recessiva. Avaliação com outro inibidor de crescimento de insetos, porém um ecdisteroide, aparentemente não apresentou resistência cruzada, sugerindo que a herança da resistência a

benzoilureia seja específica. A avaliação com outras moléculas deste grupo poderia confirmar a especificidade e a probabilidade de alteração de sítio alvo estar envolvida na resistência. O conjunto destas informações demonstram que a resistência a benzoilureia pode desenvolver rapidamente no campo se a pressão em uma determinada população favorece apenas um biótipo, (indivíduo resistente), aumentando a frequência do gene responsável pela resistência. Com isso o manejo da resistência torna cada vez mais difícil de obter êxito, no entanto, deve-se tomar decisões planejadas para contornar o problema da resistência. O uso de níveis de controle para indicar o momento adequado de se controlar a praga, associado com o uso de hospedeiros resistentes às pragas e métodos culturais, pode ajudar a reduzir pela metade o número de pulverizações (Villas Bôas *et al.* 2003). A menor pressão de seleção sobre os indivíduos resistentes permitirá o restabelecimento da suscetibilidade, além de reduzir a quantidade de resíduos no meio ambiente (Guan-Soon 1990).

Agradecimentos

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e a CAPES pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor, possibilitando a realização deste trabalho.

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Abo-Elghar, G.E., P. Fujiyoshi & F. Matsumura. 2004.** Significance of the sulfonylurea receptor (SUR) as the target of diflubenzuron in chitin synthesis inhibition in *Drosophila melanogaster* and *Blattella germanica*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 34: 743-752.
- Alves, A.P., T.A. Spencer, B.E. Tabashnik & B.D. Siegfried. 2006.** Inheritance of resistance to the Cry1Ab *Bacillus thuringiensis* toxin in *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera : crambidae). *J. Econ. Entomol.* 99: 494-501.

- Balasubramani, V., A.H. Sayyed & N. Crickmore. 2008.** Genetic Characterization of Resistance to Deltamethrin in (Lepidoptera: Plutellidae) from India. *J. Econ. Entomol.* 101: 1911-1918.
- Barros, R. & J.D. Vendramim. 1999.** Efeito de cultivares de repolho utilizado para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 28: 469-476.
- Bogwitz, M.R., H. Chung, L. Magoc, S. Rigby, W. Wong, M. O'Keefe, J.A. McKenzie, P. Batterham & P.J. Daborn. 2005.** Cyp12a4 confers lufenuron resistance in a natural population of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102: 12807-12812.
- Brasil. 2014.** Agrofite. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>. Acesso 26 Julho 2014.
- Castelo Branco, M., F.H. França, M.A. Medeiros & J.G.T. Leal. 2001.** Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. *Hortic. Bras.* 19: 60-63.
- Cordero, R.J., T.P. Kuhar, J. Speese, R.R. Youngman, E.E. Lewis, J.R. Bloomquist, L.T. Kok & A.D. Bratsch. 2006.** Field Efficacy of Insecticides for Control of Lepidopteran Pests on Collards in Virginia. Disponível em: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2006/collard/>. Acesso 01 de julho de 2014.
- Diez-Rodríguez, G.I. & C. Omoto. 2001.** Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. *Neotrop. Entomol.* 30: 311-316.
- FAO. 2008.** Fao specifications and evaluations for agricultural pesticides: Lufenuron. Disponível em: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Lufenuron08.pdf. Acesso 25 de julho de 2014.
- FAO. 2014.** FAOSTAT. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>. Acesso 16 de julho de 2014.
- Finney, D.J. 1971.** Probit Analysis. London, Cambridge University Press, 333 p.
- Georghiou, G.P. 1983.** Management of resistance in arthropods., pp. 769-792. In G.P. Georghiou & T. Saito (eds.), *Pest resistance to pesticides*. Plenum., New York.
- Georghiou, G.P. & C.E. Taylor. 1977.** Genetic and Biological Influences in the Evolution of Insecticide Resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 319-323.
- Griffiths, A. F., S. R. Wessler, R. C. Lewontin & S. B. Carroll. 2008.** *Introdução à genética*. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A, 726p.

- Guan-Soon, L. 1990.** Integrated pest management of diamondback moth: practical realities, p. 565-576. In N.S. Talekar (ed.), The management of diamondback moth and other crucifer pests., 2 ed. AVRDC, Tainan, Taiwan.
- Imai, K. & Y. Mori. 1996.** Inheritance and stability of resistance to *Bacillus thuringiensis* formulations in field population of diamondback moth, *Plutella xylostella*., p. 302–307. In A. Sivapragasam, W.H. Loke, A.K. Hussan & L. Guan-Soon (eds.), The management of diamondback moth and other crucifer pests., 3 ed, Kuala Lumpur, Malaysia.
- IRAC. 2014.** Mode of Action Classification. Disponível em: http://cals.arizona.edu/crops/pdfs/IRAC%20MOA%20brochure_v4%202_Oct10.pdf. Acesso 15 de junho de 2014.
- Ishaaya, I. & A.R. Horowitz. 1998.** Insecticides with Novel Modes of Action: An Overview, p. 1-18. In I. Ishaaya & D. Degheele (eds.), Insecticides with Novel Modes of Action: Mecanismos and Application. Springer, Verlag.
- Kobayashi, S., S. Aida, M. Kobayashi & K. Nonoshita. 1990.** Resistance of Diamondback Moth to Insect Growth Regulators, p. 383 - 390. In N.S. Talekar (ed.), Diamondback moth and other crucifer pests, 2 ed. AVRDC, Tainan, Taiwan.
- Lande, R. 1981.** The Minimum Number of Genes Contributing to Quantitative Variation between and within Populations. *Genetics* 99: 541-553.
- Lehmann, E.L. 1966.** Testing statistical hypotheses. New York, Wiley, 369 p..
- Matsumura, F. 2010.** Studies on the action mechanism of benzoylurea insecticides to inhibit the process of chitin synthesis in insects: A review on the status of research activities in the past, the present and the future prospects. *Pestic. Biochem. Phys.* 97: 133-139.
- Nascimento, A.R.B. 2013.** Base genética e moleculares da resistencia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a lufenurom. Mestre, ESALQ/USP Piracicaba.
- Oliveira, A.C., H.A.A. Siqueira, J.V. Oliveira, J.E. Silva & M. Michereff Filho. 2011.** Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. *Sci. Agric.* 68: 154-159.
- 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. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. 1 ed. CRC Press. Boca Raton, 127 p.
- Robertson, J.L., R.M. Russell, H.K. Preisler & E. Savin. 2007.** Bioassays with Arthropods. 2 ed. CRC Press. Boca Raton U.S.A., 199 p.

- Rodrigues, A.R.S., J.B. Torres, H.A.A. Siqueira & D.P.A. Lacerda. 2013.** Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance in the predator lady beetle *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae). *Biol. Control*. 64: 217-224.
- Roush, R.T. & J.A. McKenzie. 1987.** Ecological Genetics of Insecticide and Acaricide Resistance. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 361-380.
- Santos, V., H.A.A. Siqueira, J.E. Silva & M.J.D.C. Farias. 2011.** Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 40: 264-270.
- Sayyed, A.H., M.N.R. Attique, A. Khaliq & D.J. Wright. 2005.** Inheritance of resistance and cross-resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Plutellidae) from Pakistan. *Pest Manag. Sci.* 61: 636-642.
- Sokal, R. & F. Rohlf. 1981.** Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 859p.
- Stone, B.F. 1968.** A formula for determining degree of dominance in cases of monofactorial inheritance of resistance to chemical. *Bull. World Health Organ.* 38: 325–326.
- Tabashnik, B.E. 1991.** Determining the Mode of Inheritance of Pesticide Resistance with Backcross Experiments. *J. Econ. Entomol.* 84: 703-712.
- Tabashnik, B.E., N.L. Cushing, N. Finson & M.W. Johnson. 1990.** Field Development of Resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback Moth (Lepidoptera, Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 83: 1671-1676.
- Talekar, N.S. & A.M. Shelton. 1993.** Biology, Ecology, and Management of the Diamondback Moth. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 275-301.
- Villas Bôas, G.L., M. Castelo-Branco, F.H. França, D.M.A. Velho & C.S. Simplício. 2003.** Manejo da traça-das-crucíferas utilizando-se genótipos resistentes associados ao nível de dano econômico. *Hortic. Bras.* 21: 338.
- Wang, X. & Y. Wu. 2012.** High Levels of Resistance to Chlorantraniliprole Evolved in Field Populations of *Plutella xylostella*. *J. Econ. Entomol.* 105: 1019-1023.
- Whalon, M.E. 2008.** Analysis of Global Pesticides Resistance in Arthropods, p. 5-31. In M.E. Whalon, D. Mota-Sanchez & R.M. Hollingworth (eds.), *Global Pesticides Resistance in Arthropods*, 1 ed. CABI, Cambridge.
- Yu, H. & S.N. Nguyen. 1992.** Detection and Biochemical Characterization of Insecticide Resistance in the Diamondback Moth. *Pestic. Biochem. Phys.* 4: 74-81.

- Zago, H.B., H.A.A. Siqueira, E.J.G. Pereira, M.C. Picanço & R. Barros. 2014.** Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. *Pest Manag. Sci.* 70: 488-495.
- Zalucki, M.P., A. Shabbir, R. Silva, D. Adamson, S.S. Liu & 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.
- Zhao, J., A.M. Shelton, H.L. Collins, M. Chen & R.F.L. Mau. 2006a.** Monitoring, characterization and management of diamondback moth resistance to spinosad and indoxacarb, pp. 258-263. In A.M. Shelton, H.L. Collins, Y. Zhang & Q. Wu (eds.), *The management of diamondback moth and other crucifer pest*, 5 ed. AVRDC, Beijing, China.
- 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. *J. Econ. Entomol.* 95: 430-436.
- Zhao, J.Z., H.L. Collins, Y.X. Li, R.F.L. Mau, G.D. Thompson, M. Hertlein, J.T. Andaloro, R. Boykin & A.M. Shelton. 2006b.** Monitoring of diamondback moth (Lepidoptera : Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. *J. Econ. Entomol.* 99: 176-181.

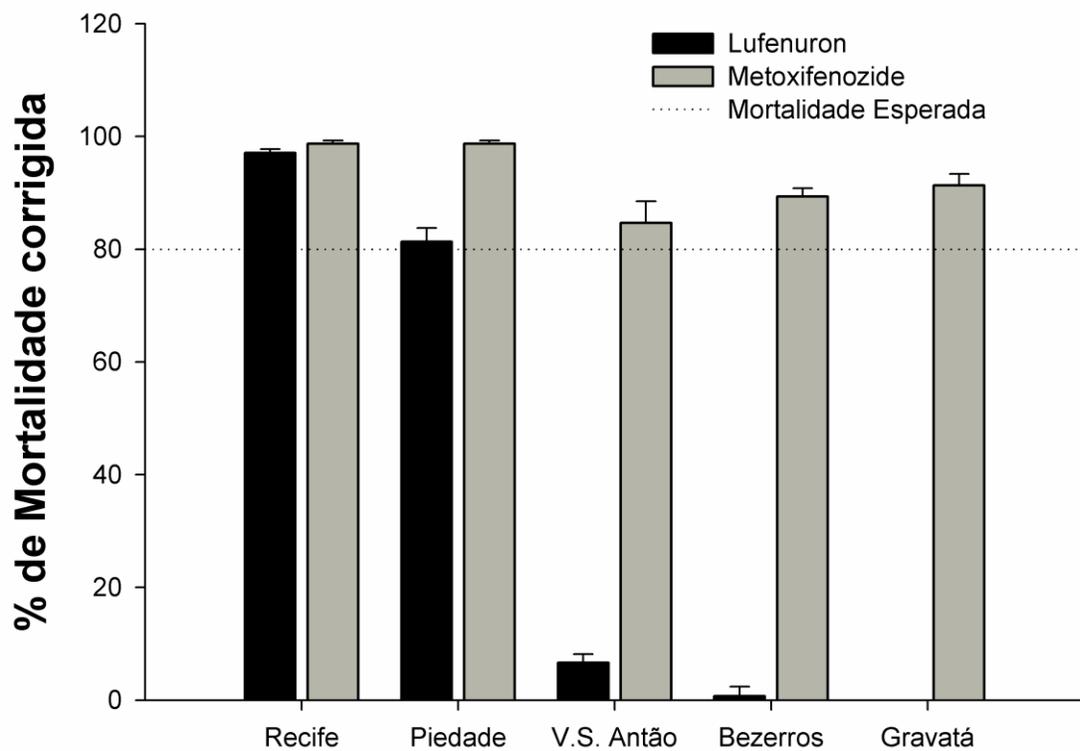


Figura 1. Mortalidade corrigida (%) de populações da traças-das-brássicas, *Plutella xylostella*, para doses recomendadas de lufenuron e metoxifenoziide. Temp.: $25 \pm 0,2$ °C; U.R.: 65 ± 5 % e fotoperíodo: 12 h.

Tabela 1. Suscetibilidade de populações de *Plutella xylostella* ao inseticida lufenurom. Temp.: $25 \pm 0,2$ °C; U.R.: 65 ± 5 % e fotoperíodo 12 h.

Populações	n ¹	GL ²	Inclinação \pm EP ³	CL ₅₀ (IC 95%) mg/L	CL ₈₀ (IC 95%) mg/L	χ^2	RR ₅₀ (IC 95 %) ⁴
Recife	182	5	0,90 \pm 0,22	0,04 (0,003 - 0,113)	0,36 (0,15 - 0,71)	4,05	-
Piedade	183	5	0,51 \pm 0,17	0,36 (0,001 - 1,366)	15,56 (6,34 - 150,5)	3,84	8,44 (0,67 - 1071,03)
Vitória	253	3	3,09 \pm 0,31	438,0 (335,6 - 578,9)	819,9 (615,2 - 1.289,1)	3,22	10.312 (3.382 - 31.438)
Gravatá	228	5	2,25 \pm 0,25	450,6 (324,1 - 670,2)	1.066,8 (709,7 - 2.083,7)	5,89	10.621 (2.607 - 44.200)
Bezerros	204	5	2,77 \pm 0,43	479,4 (371,7 - 603,6)	964,7 (752,0 - 1.392,7)	3,18	11.283 (2.631 - 44.509)

¹Número total de insetos em bioensaio ²Grau de liberdade ³Erro padrão ⁴Razão de Resistência: razão estimativas da CL₅₀ entre a população resistente e suscetível, e intervalo de confiança a 95% das estimativas da CL₅₀ calculadas através do método de Robertson *et al.* (2007).

Tabela 2. Toxicidade de lufenurom para populações suscetível (S), resistente (R), dos cruzamentos recíprocos F1 (♂ S x ♀ R) e (♂ R x ♀ S) e do retrocruzamento (F1 agrupado x S) de *Plutella xylostella*. Nota = n, número de adultos testados; GL, grau de liberdade; EP, erro padrão; e χ^2 , teste de qui-quadrado. Temp.: 25 ± 0,2 °C; U.R.: 65 ± 5 % e fotoperíodo 12 h.

População/Progênie ¹	n	GL	Inclinação ± EP	CL ₅₀ (IC _{95%}) ²	RR ₅₀ (IC _{95%}) ³	DD ₅₀ ±EP ⁴	χ^2
Recife (S)	120	4	0,98±0,17	0,22 (0,10-0,40)	-	-	3,00
Bezerros (R)	194	6	3,09±0,64	337,91 (229,02-439,29)	1.544,52 (753,82-3.164,61)	-	3,76
♂S x ♀R (F ₁)	265	12	0,53±0,09	1,00 (0,08-3,41)	4,57* (1,13-18,39)	-0,58±0,18	16,77
♂R x ♀S (F ₁ ')	176	6	0,93±0,15	0,89 (0,51-1,47)	4,10* (1,79-9,39)	-0,61±0,10	3,20
F ₁ agrupado	441	14	0,59±0,06	1,01 (0,38-2,04)	4,61* (1,86-11,40)	-0,58±0,11	19,33
F ₁ agrupado x R	265	7	0,59±0,09	23,01 (1,07-2.145)	194,95 (69,77-544,73)	-	40,70

¹Progênies resultantes dos cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos; ²CL - concentração (mg/L.de lufenurom) que produz mortalidade; ³Razão de Resistência: razão estimativas da CL₅₀ entre a população resistente e suscetível, e intervalo de confiança a 95% das estimativas da CL₅₀ calculadas através do método de Robertson *et al.* (2007); * Razão de Resistência não significativo, o IC_{95%} inclui valor 1; ⁴Grau de dominância.

Tabela 3. Teste direto para herança monogênica da resistência ao lufenurom em *Plutella xylostella*, comparando as mortalidades esperadas e observadas do retrocruzamento (F1 agrupado x BZR). Temp.: $25 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$; U.R.: $65 \pm 5\%$ e fotoperíodo 12 h

Concentração (mg/L)	Mortalidade Observada (%)	Mortalidade Esperada (%) ¹	χ^2
0,060	26,66	16,67	2,16 ^{ns}
0,245	20,00	10,00	3,33 ^{ns}
0,970	18,18	44,27	9,10*
3,900	46,66	40,45	0,48 ^{ns}
15,60	25,92	40,50	2,38 ^{ns}
62,50	32,25	49,15	3,54 ^{ns}
250,0	48,14	47,32	0,01 ^{ns}
1000	100	100	-
2000	100	100	-
Total	-	-	21,00*

¹Mortalidade esperada na concentração $x = 0,5$ (% mortalidade de F1 agrupado em $x +$ % mortalidade de R em x).

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

Tabela 4. Dominância efetiva para populações susceptível (REC) e resistente (Bez) e progênie F1 agrupado em *P. xylostella* sobreviventes quando submetidas ao tratamento com diferentes concentrações de lufenurom. Temp.: $25 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$; U.R.: $65 \pm 5\%$ e fotoperíodo 12 h.

Concentração (mg/L)	População/Progênie¹	n	Mortalidade (%)	Desempenho²	<i>h</i>³
0,2	REC	27	74,07	0,26	0,90
	BZR	29	10,34	1	
	F1 agrupado	28	7,14	0,93	
2,0	REC	28	92,86	0,07	0,36
	BZR	31	9,68	1	
	F1 agrupado	27	59,26	0,41	
20	REC	28	96,43	0,04	0,34
	BZR	27	7,41	1	
	F1 agrupado	30	63,33	0,37	
200	REC	26	96,15	0,04	0,16
	BZR	23	56,52	1	
	F1 agrupado	26	80,77	0,19	
2000	REC	25	100	0	0
	BZR	24	100	1	
	F1 agrupado	26	100	0	

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

²Desempenho corresponde a taxa de sobreviventes entre as populações suscetível (REC) e F1 agrupado, e a população resistente (BZR).

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