

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Chrysodeixis includens*  
(WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AO  
INSETICIDA TEFLUBENZURON**

**Leonardo Vinicius Thiesen**

Engenheiro Agrônomo

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Chrysodeixis includens*  
(WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AO  
INSETICIDA TEFLUBENZURON**

**Discente: Leonardo Vinicius Thiesen**

**Orientador: Prof. Dr. Guilherme Duarte Rossi**

**Coorientador: Dr. Rafael Major Pitta**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola).

T439h

Thiesen, Leonardo Vinicius

Herança da resistência de *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858)

(Lepidoptera: Noctuidae) ao inseticida teflubenzuron / Leonardo

Vinicius Thiesen. -- Jaboticabal, 2021

36 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Guilherme Rossi

Coorientador: Rafael Major Pitta

1. Benzoilureias. 2. Falsa medideira. 3. Manejo da resistência de  
insetos. 4. Herança ligada ao sexo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1858)  
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AO INSETICIDA TEFLUBENZURON

**AUTOR: LEONARDO VINICIUS THIESEN**


**ORIENTADOR: GUILHERME DUARTE ROSSI**

**COORIENTADOR: RAFAEL MAJOR PITTA**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA  
(ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. GUILHERME DUARTE ROSSI (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade) / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. CLAUDIO ROBERTO FRANCO (Participação Virtual)  
Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC / Lages/SC



Pesquisador Dr. REGIS FELIPE STACKE (Participação Virtual)  
Grupo Andre Maggi-Amaggi / Cuiabá/MT

Jaboticabal, 25 de fevereiro de 2021

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**Leonardo Vinicius Thiesen** - nascido em Curitiba-PR no dia 27 de maio de 1996. Em abril de 2014, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), câmpus de Sinop. Foi bolsista de iniciação científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) na Embrapa Agrossilvipastoril e desenvolveu projetos de monitoramento da resistência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas utilizados no Estado de Mato Grosso sob orientação do pesquisador Dr. Rafael Major Pitta. Em março de 2019, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) para a realização do mestrado sob a orientação do Prof. Dr. Guilherme Duarte Rossi e coorientação do Dr. Rafael Major Pitta com ênfase na área de Resistência de Insetos a Táticas de Controle.

*“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer.”*

*Mahatma Gandhi*

*Aos meus pais, Elcio Claudir Thiesen e  
Elisete de Amorim Thiesen por sempre  
acreditarem em minhas capacidades e  
apoiarem meus sonhos.*

**DEDICO E AGRADEÇO**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus pela dádiva da vida;

Ao Prof. Dr. Guilherme Duarte Rossi pela orientação, amizade e conselhos que levarei ao longo da vida;

Ao Dr. Rafael Major Pitta pela orientação, por ser um grande amigo, um exemplo e incentivador durante toda minha jornada;

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) que contribuíram grandemente para minha formação;

À pós-doutoranda Fátima Rampelotti-Ferreira da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) pela grande ajuda durante os estudos de herança da resistência e pela amizade ao longo desses anos;

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica dos Insetos da FCAV/UNESP, Ana Letícia Zéro, Carolina Veluci, Cíntia Gomes, Ciro Guidotti e Sandy Fonseca pela amizade, conselhos, risadas e suporte;

Aos colegas do Laboratório de Criação de Insetos da Embrapa Agrossilvipastoril, Amanda Wackholz, Almir Santos, Ezequiel Silva e Lorenzo Ferrazza pelo auxílio e amizade;

Ao Prof. Dr. Marcelo da Costa Ferreira e ao Prof. Dr. Raphael de Campos Castilho pela contribuição em minha formação e no Exame Geral de Qualificação;

Ao Prof. Dr. Claudio Roberto Franco da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) e ao Dr. Regis Felipe Stacke por aceitar o convite como Comissão Examinadora e pelos apontamentos valiosos na correção do trabalho;

Aos queridos amigos Joacir do Nascimento e Sandy Fonseca pelo acolhimento no último período de mestrado e por serem minha família aqui;

Aos excelentes amigos que fiz em Jaboticabal, especialmente, Ana Beatriz Spadoni, Daniel Nascimento, Joice Mendonça, Ketlyn Ribeiro, Luiz Silva, Mariana Bonfim, Marina Oba, Matheus Cardoso, Pedro Ferreira e Soraya Almeida pela amizade sincera, grande parceria e ótimos momentos de convívio;



Ao meu irmão Eduardo Rodrigo Thiesen por ser um exemplo de filho, irmão, amigo e profissional. Obrigado por ser essa pessoa maravilhosa em minha vida e por sempre me apoiar;

Aos amigos de Sinop-MT que considero meus irmãos de longa data, Higor Serafim, Hugo Barreto, Kennedy Rocha, Lucas Bortolanza, Lucas Ryba, Luiz Metz, Pedro Serafim e Vitor Barreto. Obrigado pelo incentivo e pelos momentos de descontração;

A toda minha família pelos momentos felizes e de amparo, em especial a minha avó Ericela Thiesen por me acolher em sua casa por tantos anos e ensinar tantas coisas;

A todas as pessoas que contribuíram para minha formação profissional e pessoal;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

**Muito obrigado!**

SUMÁRIO	Página
<b>RESUMO</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
2.1. Aspectos bioecológicos de <i>Chrysodeixis includens</i> .....	3
2.2. Monitoramento e controle de <i>Chrysodeixis includens</i> na cultura da soja.....	5
2.3. Resistência de <i>Chrysodeixis includens</i> a inseticidas .....	6
2.4. Inseticidas inibidores da biossíntese de quitina .....	8
2.5. Mecanismos de resistência de insetos a inseticidas inibidores da biossíntese de quitina .....	9
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
3.1. Linhagens de <i>Chrysodeixis includens</i> .....	11
3.2. Bioensaios para caracterização da resistência de <i>Chrysodeixis includens</i> ao teflubenzuron .....	11
3.3. Seleção da população de <i>Chrysodeixis includens</i> resistente ao teflubenzuron .....	13
3.4. Padrão de herança da resistência de <i>Chrysodeixis includens</i> ao teflubenzuron .....	13
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>16</b>
4.1. Caracterização da resistência de <i>Chrysodeixis includens</i> ao inseticida teflubenzuron .....	16
4.2. Dominância da resistência e número de genes associados .....	19
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>27</b>

## HERANÇA DA RESISTÊNCIA DE *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AO INSETICIDA TEFLUBENZURON

**RESUMO** - A lagarta falsa medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada praga chave da soja e potencial desfolhadora do algodão. Grande parte do manejo dessa espécie tem sido realizada por pulverizações de inseticidas químicos nos campos de produção. Os inseticidas químicos do grupo das benzoilureias são muito utilizados para o controle de lepidópteros e, dentro desse grupo, o ingrediente ativo teflubenzuron é amplamente utilizado para o controle dessa espécie. Porém, o uso intenso e contínuo desse inseticida tem elevado a pressão de seleção no campo e favorecido a seleção de populações resistentes a esse ingrediente ativo. Para contornar esse problema, as estratégias de Manejo da Resistência de Insetos devem ser empregadas para retardar a evolução da resistência. Dessa forma, estudos para compreender o padrão de herança da resistência são necessários principalmente para aprimorar o monitoramento das populações resistentes, permitindo acompanhar a evolução da resistência e definir qual a melhor estratégia para reestabelecer a suscetibilidade. O presente trabalho foi conduzido para caracterizar a herança da resistência de *C. includens* ao teflubenzuron em indivíduos expostos ao inseticida em campo. Para isso, pressões de seleção com o inseticida foram realizadas sobre as populações de campo a fim de selecionar em laboratório indivíduos resistentes homocigotos. Os estudos para observar a herança da resistência foram realizados a partir de cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos entre uma população sabidamente suscetível e a população resistente de laboratório. A população resistente selecionada apresentou uma razão de resistência superior a 10.613 vezes, enquanto a razão de resistência para os cruzamentos recíprocos não ultrapassou 10 vezes. Porém, quando analisada em concentrações elevadas do inseticida, a mortalidade dos heterocigotos descendentes de machos resistentes não obteve incremento. A hipótese da herança ser monogênica foi rejeitada. Testes demonstraram que, em altas concentrações do inseticida, herança da resistência é completamente recessiva. Nossos resultados sugerem que a herança da resistência de *C. includens* ao teflubenzuron é ligada ao sexo, poligênica e recessiva.

**Palavras-chave:** benzoilureias, falsa medideira, manejo da resistência de insetos, herança ligada ao sexo.

**INHERITANCE OF RESISTANCE TO TEFLUBENZURON IN *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**ABSTRACT** - The soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), is among the main pests of soybean and a potential pest in cotton farms. In most cases, soybean looper management has been made by spraying insecticides in fields. Benzoylureas represent an important class of insecticides used for the management of lepidopteran species and the active ingredient teflubenzuron is widely adopted for the management of soybean looper. However, the intense and continuous use of this active ingredient is increasing the selection pressure in field and favored the selection of teflubenzuron resistant populations. To overcome this problem, Insect Resistance Management strategies must be employed to delay the evolution of resistance. Thus, studies to understand the pattern of inheritance of resistance are required to improve the scouting of resistant populations, allowing to track the evolution of resistance and to define the best strategy to reestablish susceptibility. The present work was conducted to investigate the inheritance of resistance to teflubenzuron in a laboratory-selected population of *C. includens*. For this, a population of *C. includens* resistant to teflubenzuron was selected in laboratory using field-collected insects. Inheritance pattern of resistance was observed using reciprocal crosses between a teflubenzuron-susceptible and a teflubenzuron-resistant population. The teflubenzuron-resistant population presented a resistance ratio greater than 10,613-fold, but the resistance ratio for the offspring of the reciprocal crosses was never bigger than 10-fold. In high insecticide concentrations, the offspring obtained from crosses of male from the resistant population and susceptible females, no increase in mortality was observed. The hypothesis of monogenic inheritance was rejected, and the inheritance was completely recessive. Results suggest that inheritance to teflubenzuron is sex-linked, polygenic and recessive in *C. includens*.

**Keywords:** benzoylureas, soybean looper, insect resistance management, sex-linked inheritance.

## 1. INTRODUÇÃO

A lagarta falsa medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga polífaga que pode utilizar mais de 175 hospedeiros vegetais e destaca-se como uma importante praga desfolhadora das culturas da soja e algodão (Moscardi et al., 2012; Baldin et al., 2014; Specht et al., 2015).

Apesar da disponibilidade de plantas transgênicas de soja e algodão com atividade inseticida sobre lagartas de *C. includens* (Bernardi et al., 2012; Yano et al., 2016), o uso de inseticidas químicos em pulverização ainda é o principal método de controle para essa praga em determinadas regiões do Brasil (Bortolotto et al., 2015). Porém, casos de resistência de *C. includens* a inseticidas com princípios ativos como carbamatos, piretroides, organofosforados e, recentemente, as benzoilureias, foram relatados (Stacke et al. 2019; Mota-Sánchez e Wise, 2021).

Visando reduzir o número de aplicações nas lavouras de soja, a aplicação de inseticida com o ingrediente ativo teflubenzuron é comumente associada a pulverizações de herbicidas ou fungicidas. Tal associação tem sido adotada de maneira preventiva<sup>1</sup> e motivada pelo fato do teflubenzuron ser um inseticida fisiológico seletivo e com alta persistência na lavoura (Abo-Elghar et al., 2004; Sun et al., 2015). Essas características têm elevado o número de aplicações de teflubenzuron para o manejo de *C. includens* e aumentado a pressão de seleção nas populações de campo. Conseqüentemente, a eficiência de controle de teflubenzuron sobre *C. includens* tem diminuído em função do aumento da frequência de indivíduos resistentes ao ingrediente ativo nas populações de campo (Stacke et al., 2020).

O teflubenzuron é uma benzoilureia que atua na inibição da biossíntese de quitina, componente elementar do exoesqueleto dos insetos (Sun et al. 2015). É um ingrediente ativo classificado no grupo 15 do modo de ação dos inseticidas (Insecticide Resistance Action Committee – IRAC, 2021), apresenta toxicidade por contato, ingestão e inalação e é classificado como seletivo e com pouca toxicidade para humanos, abelhas e pássaros (Nauen et al. 2019).

As falhas no controle devido à resistência estão diretamente ligadas com a frequência do alelo da resistência no campo (Georghiou e Taylor, 1977). O fator mais

---

<sup>1</sup> Pitta RM (2019) (Embrapa Agrossilvipastoril). Comunicação Pessoal.

importante para o retardo da resistência é manter uma baixa frequência de indivíduos resistentes. Para tal, é necessário permitir que indivíduos suscetíveis estejam presentes no campo, seja por imigração, refúgio ou ausência de pressão de seleção. Assim, a frequência de indivíduos heterozigotos (resultantes do cruzamento de um indivíduo suscetível com um indivíduo resistente) será maior, e na ausência de pressão de seleção, há possibilidade de reverter a condição de uma população de resistente para suscetível, principalmente se houver custo adaptativo nos indivíduos resistentes (Crow, 1957; Georghiou e Taylor, 1977; Kliot e Ghanim, 2012).

Compreender o padrão de herança da resistência é fundamental para desenvolver cenários preventivos para minimizar falhas no controle. O conhecimento dos fatores genéticos associados à evolução da resistência como a caracterização da dominância da resistência pode auxiliar a definição de estratégias para o manejo da resistência a inseticidas em programas de MIP. Por exemplo, sabe-se que a evolução da resistência é mais rápida em populações com herança da resistência monogênica e dominante em relação a populações em que a herança da resistência é poligênica e recessiva (Georghiou e Taylor, 1977; Caprio, 1998).

Para o manejo de pragas, deve-se sempre adotar as estratégias descritas no MIP aliadas as estratégias do MRI. Quando é empregado os princípios do MIP, o manejo por moderação visto no MRI também é realizado, uma vez que para utilizar uma estratégia de controle deve-se respeitar o nível de controle com base no monitoramento. Se esse nível for respeitado, aplicações desnecessárias são evitadas, conseqüentemente o retardo da evolução da resistência e o reestabelecimento da suscetibilidade se torna possível devido a menor pressão de seleção (Onstad, 2008).

Motivado pela necessidade desses conhecimentos, o presente trabalho foi conduzido para caracterizar o padrão de herança da resistência de *C. includens* ao inseticida teflubenzuron. Foram investigadas em populações de campo selecionadas em laboratório a presença de herança ligada ao sexo, o grau de dominância resistência e o número de genes associados a resistência.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Aspectos bioecológicos de *Chrysodeixis includens*

A lagarta falsa medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga desfolhadora restrita ao hemisfério ocidental, comumente relatada desde o norte dos Estados Unidos até o sul da América do Sul (Kogan e Herzog, 1980; Moscardi et al., 2012). É considerada de hábito polífago visto que lagartas de *C. includens* são capazes de se alimentarem de 175 espécies de plantas classificadas em 39 famílias diferentes (Baldin et al., 2014; Specht et al., 2015). Apesar da grande variedade de hospedeiros, destacam-se os prejuízos causados por *C. includens* em cultivos de soja e algodão, sendo considerada praga chave da cultura da soja (Canerday e Arant, 1965; Moscardi et al., 2012; Funichello et al., 2019).

A importância de *C. includens* como praga primária da soja no Brasil é associada ao início dos anos 2000, data próxima ao surgimento da ferrugem asiática da soja (Yorinori e Lazzaroto, 2004). A correlação entre o início da ferrugem asiática com a elevação do status de *C. includens* como praga primária da soja é dada por observações que indicam que o uso de fungicidas para o controle da ferrugem asiática reduziu as populações naturais de fungos entomopatogênicos que mantinham as lagartas de *C. includens* em baixas densidades populacionais (Sosa-Gómez et al. 2003, 2010).

Lagartas de *C. includens* são muito vorazes, ocupam preferencialmente o terço inferior das plantas e consomem todo o limbo foliar, deixando apenas as nervuras das folhas (Zulin et al., 2018). Cada lagarta tem a capacidade de consumo foliar de 90 a 190 cm<sup>2</sup> o que pode ocasionar reduções acima de 10% na produtividade (Herzog, 1980; Mark Beach e Todd, 1988; Bueno et al., 2011; Moscardi et al., 2012; Andrade et al., 2016). O controle químico de *C. includens* é dificultado devido à tolerância natural dessa espécie a vários inseticidas e devido à menor exposição das lagartas aos produtos químicos aplicados por pulverização em função das lagartas se alojarem no terço inferior das plantas (Moscardi et al., 2012; Martins e Tomquelski, 2015; Funichello et al., 2019; Perini et al., 2019).

As lagartas de *C. includens* apresentam coloração verde claro e podem variar o tom de acordo com a fonte de alimento. Apresentam pontuações pretas ao longo do corpo, listras longitudinais brancas e apresentam de 40 a 45 mm de comprimento em seu último ínstar larval (Sosa-Goméz et al., 2014; Barrionuevo e Blas, 2016). O nome falsa medideira é dado devido ao deslocamento dessas lagartas ocorrer através do arqueamento do corpo que resulta em um movimento conhecido como mede palmo. Esse movimento ocorre em função dos 2 pares de pernas abdominais e 1 par de perna anal da extremidade posterior do corpo estarem posicionadas longe das pernas torácicas que estão posicionadas na extremidade anterior do corpo das lagartas (Sosa-Goméz et al., 2014).

Durante a fase larval, as lagartas passam por 5 a 6 ínstaes até a fase de pré-pupa (Barrionuevo e Blas, 2016). Nessa fase, secretam fios de seda em forma de invólucro que abrigam as pupas, geralmente aderidas na face abaxial das folhas. As pupas variam de amarelo pálido a verde claro e mudam a coloração para marrom escuro próximo da emergência dos adultos (Vázquez, 1988). A duração do ciclo de lagarta a adulto varia de acordo com a fonte de alimento. Por exemplo, o estágio de lagarta pode durar aproximadamente 26 dias em soja, 33 dias em algodão e 21 dias em girassol (Andrade et al., 2016).

Os adultos de *C. includens* apresentam manchas prateadas brilhantes na parte central do primeiro par de asas. Suas asas são dispostas em forma inclinada e apresentam coloração cinza escuro (Sosa-Goméz et al., 2014). A longevidade dos adultos pode variar de 13 a 15 dias (Mitchell, 1967; Andrade et al., 2016) e apresentam um período de oviposição de 4 a 7 dias (Canerday e Arant, 1967; Barrionuevo et al., 2012) com uma fecundidade de 320 a 600 ovos por fêmea (Barrionuevo et al., 2012; Andrade et al., 2016). Os ovos são de coloração creme claro, geralmente depositados de forma isolada ou em grupos de dois a seis (Rolim et al., 2013) com um período de incubação em torno de 3 a 5 dias até a eclosão da lagarta (Canerday e Arant, 1967; Barrionuevo e Blas, 2016).

A maior ocorrência de lagartas na cultura da soja é observada nos meses de janeiro e fevereiro, período reprodutivo da cultura (Zulin et al., 2018). Esses mesmos autores verificaram que as fêmeas de *C. includens* têm preferência de oviposição na parte inferior das plantas e que, principalmente, as lagartas maiores deslocam-se



entre os diferentes extratos da planta, comportamento que as tornam mais expostas em horários com temperaturas amenas. No algodão, foi verificado que as lagartas de *C. includens* também apresenta preferência alimentar no terço médio e inferior da cultura, geralmente sendo encontradas na face abaxial das folhas do algodoeiro (Funichello et al., 2019)

## 2.2. Monitoramento e controle de *Chrysodeixis includens* na cultura da soja

De maneira geral, o manejo de populações de *C. includens* na cultura da soja inicia-se pelo monitoramento da presença dessa praga nos campos de produção. O monitoramento é comumente feito através do pano de batida (1,0 x 1,4 m) (Stürmer et al., 2012) ou através de feromônios sintéticos (Meagher, 2001). Quando utilizado o pano de batida, o ideal é que a amostragem seja realizada semanalmente ou a cada quinze dias, até que o número de insetos ou a porcentagem de desfolha atinja o nível de controle (Bueno et al., 2012). O nível de controle adotado para a cultura da soja é de 20 lagartas grandes (maior que 1,50 cm) por pano de batida e/ou média de desfolha de 30% no estágio vegetativo e 15% no reprodutivo por ponto amostral (Bueno et al., 2013).

Quando o nível de controle é atingido, são registrados no Brasil pouco mais de 100 produtos comerciais para o controle de *C. includens*, incluindo os inseticidas químicos do grupo das benzoilureias, carbamatos, diacilhidrazinas, diamidas, organofosforados e piretroides (Martins e Tomquelski, 2015; MAPA, 2021). Além dos inseticidas químicos, os inseticidas biológicos têm demonstrado grande eficiência para controle de *C. includens*, inclusive em populações que apresentam resistência aos inseticidas (Godoy et al., 2019). Os inseticidas biológicos registrados para o controle de *C. includens* são principalmente derivados de bactérias (*Bacillus thuringiensis* Berliner) e vírus (*Chrysodeixis includens nucleopolyhedrovirus* - ChinNPV) (Bueno et al., 2011; Muraro et al., 2019; MAPA, 2021).

Dentre os inseticidas químicos, o uso de benzoilureias e diacilhidrazinas têm sido empregados em programas de MIP por apresentarem maior seletividade a inimigos naturais e boa eficiência de controle quando comparados a inseticidas de

amplo espectro como piretroides e organofosforados (Carmo et al., 2010; Bueno et al., 2011).

### 2.3. Resistência de *Chrysodeixis includens* a inseticidas

O controle químico de insetos pragas é amplamente utilizado em todo o mundo devido sua eficiência, praticidade e versatilidade (Schwinn, 1988; Sparks et al., 2020). Porém, em muitos casos, o uso de inseticidas para o controle químico de insetos é mal planejado, sem atenção ao nível de controle ou à tecnologia de aplicação. A falta de planejamento para o uso de inseticidas pode resultar no aumento da frequência de indivíduos resistentes no campo e, conseqüentemente, no estabelecimento de populações de insetos pragas resistentes aos inseticidas (Georghiou e Taylor, 1977).

Desde o primeiro caso de resistência de insetos a inseticidas documentado no mundo (Melander, 1914), o número total de casos documentados chega a 16570 que envolvem cerca de 603 espécies de insetos resistentes a 339 inseticidas e a 7 eventos de plantas que expressam a proteína derivada de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Sparks et al., 2020). Para os inseticidas inibidores da biossíntese de quitina, os casos individuais de resistência somam 231 (Mota-Sanchez e Wise, 2021), número que representa cerca de 1,4% do total de organismos resistentes apresentado por Sparks et al. (2020).

Até o momento, poucos casos de resistência de *C. includens* a inseticidas foram relatados quando comparados, por exemplo, com o número de casos observados para a lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Pouco mais de 20 casos isolados de resistência a inseticidas foram relatados para *C. includens* enquanto mais de 140 casos foram relatados para *S. frugiperda* (Mota-Sánchez e Wise, 2021).

O baixo número de casos de resistência a inseticidas observados para *C. includens* pode estar ligado a aspectos bioecológicos dessa espécie. Sugere-se que tais aspectos facilitam a ação de agentes de controle biológico natural que regulam as densidades populacionais no campo, reduzem a necessidade do uso contínuo de inseticidas e impedem a evolução da resistência a inseticidas nas populações de

campo. Por isso, de forma a preservar inimigos naturais, evidencia-se a importância do uso de produtos seletivos para o manejo de *C. includens* (Pereira et al., 2018).

O uso contínuo de inseticidas de amplo espectro comumente utilizados há décadas como carbamatos, ciclodienos, organofosforados e piretroides favoreceu o desenvolvimento de populações de *C. includens* resistentes a esses inseticidas. O maior número de casos de resistência foi documentado para permetrina no sul dos Estados Unidos nos anos 90 (Boethel et al., 1992). Estudos realizados na época indicaram que as falhas observadas no manejo de *C. includens* eram dadas principalmente em função das populações resistentes apresentarem razões de resistência (fator que indica o aumento necessário da concentração do ingrediente ativo para atingir valores de mortalidade semelhantes na população resistente em relação à população suscetível) acima de 50 vezes (Leonard et al., 1990, Portillo et al., 1993, Thomas et al., 1996).

Populações de *C. includens* coletadas em campos cultivados com algodão transgênico que expressava proteínas inseticidas derivadas do microrganismo entomopatogênico *B. thuringiensis* apresentavam baixa suscetibilidade a inseticidas à base de *B. thuringiensis var kurstaki* no Estado da Luisiana, EUA (Mascarenhas et al., 1998). Mais recentemente, pesquisas demonstraram que populações de campo de *C. includens* submetidas a pressões de seleção em laboratório podem apresentar uma razão de resistência (RR) acima de 120 vezes em apenas 6 gerações dessa praga (Rodrigues-Silva et al., 2019).

No Brasil, relatos recentes de resistência de *C. includens* a inseticidas têm sido registrados. Populações de *C. includens* coletadas nas safras de 2015/16 e 2016/17 apresentaram baixa suscetibilidade para lambda-cialotrina (RR = 38), metoxifenoazida (RR = 63), novaluron (RR = 1553), teflubenzuron (RR = 5215), lufenuron (RR=12) e spinosad (RR=8). (Stacke et al., 2019; Queiroz et al., 2020).

Uma população de *C. includens* resistente a teflubenzuron foi classificada como autossômica, recessiva, poligênica e associada a um custo adaptativo (Stacke et al., 2020). Nessa mesma população, foi verificada uma alta frequência de alelos resistentes (0.17) e apresentou resistência cruzada com outras benzilureias como o novaluron (RR = 6147) e o lufenuron (RR = 953). Através dos parâmetros de herdabilidade, é possível estabelecer estratégias eficazes para o manejo da

resistência de insetos (MRI). No caso indicado por Stacke et al. (2020), espera-se uma evolução da resistência na população de maneira mais lenta e mais propícia para reestabelecimento da suscetibilidade, quando comparada, por exemplo, a uma herança de caráter dominante, monogênica e sem custo adaptativo (Georghiou e Taylor, 1977, Tabashnik et al., 2009).

#### 2.4. Inseticidas inibidores da biossíntese de quitina

Inseticidas inibidores de crescimento (inibidores da biossíntese de quitina e análogos de hormônios), também conhecidos como inseticidas fisiológicos, representam cerca de 8% do mercado total de inseticidas e, dentre esses, as benzoilureias são responsáveis por cerca de 2% do mercado no qual o lufenuron é o principal representante com vendas superiores a U\$ 426,0 milhões em 2018 (Sparks et al., 2020).

Produtos inibidores da biossíntese de quitina são classificados pelo Comitê de Ação à Resistência a Inseticidas (IRAC, 2021) nos grupos 15 e 16. No grupo 15, estão contidos os inibidores da biossíntese de quitina tipo 0 com atividade inseticida sobre insetos da ordem Lepidoptera. No grupo 16, observam-se os ingredientes ativos do tipo 1 que apresentam atividade inseticida sobre insetos da ordem Hemiptera. No grupo 15, as benzoilureias são representadas por 14 ingredientes ativos, enquanto no grupo 16, apenas pelo ingrediente ativo buprofezin (Sparks et al., 2020, IRAC, 2021).

O mecanismo de ação dos inseticidas inibidores da biossíntese de quitina ocorre pela inibição da enzima quitina sintase (CHS1) que resulta na redução da polimerização de unidades de N-acetilglicosamina para a formação de quitina, componente elementar da cutícula presente no esqueleto dos insetos (Matsumura, 2010, Van Leeuwen et al., 2012). Organismos alvos suscetíveis expostos a inibidores da biossíntese de quitina apresentam problemas durante o processo de troca de cutícula (ecdise), visto que a quitina que compõe a nova cutícula não é apropriadamente sintetizada. Como consequência, esses insetos apresentam dificuldades de desenvolvimento que são letais, como vazamento de hemolinfa, dificuldades para descartar a cutícula antiga e perda de água excessiva durante a ecdise (Sun et al., 2015).

## 2.5. Mecanismos de resistência de insetos a inseticidas inibidores da biossíntese de quitina

Os meios pelos quais a resistência de insetos a táticas de controle se manifesta em uma população podem ser conferidos pela resistência metabólica, insensibilidade no sítio de ação do inseticida, resistência à penetração do inseticida, resistência comportamental ou uma combinação desses mecanismos (Feyereisen et al., 2015, IRAC, 2021).

A resistência metabólica de insetos a inseticidas inibidores da biossíntese de quitina foi verificada (Bogwitz et al., 2005). Nesse estudo, diagnosticou-se que uma superfamília de genes de monoxigenases citocromo P450 (*cyp12a4*) foi superexpressa na porção média do intestino de uma população de *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) resistente ao inseticida teflubenzuron. Outros trabalhos demonstraram que algumas espécies da ordem Diptera também apresentaram resistência ao inseticida diflubenzuron através do aumento da expressão das monoxigenases citocromo P450 (Kotze et al., 1997, Kotze e Sales, 2001). As monoxigenases citocromo P450 são comumente associadas a mecanismos de resistência a inseticidas, sendo registrados mais de 420 estudos sobre resistência de artrópodes ligados a essa enzima (Nauen et al., 2021).

Além das monoxigenases citocromo P450, foi constatado que o aumento da expressão de enzimas glutathione S-transferase (GST) implica na resistência de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) ao inseticida chlorfluazuron (Sonoda e Tsumuki, 2005).

Com o avanço dos estudos de Biologia Molecular associados à compreensão dos mecanismos da resistência de insetos a inseticidas, mutações gênicas nos sítios de ação (receptores) dos inseticidas têm sido detectadas. As benzoilureias atuam ao ligarem a posições específicas da enzima quitina-sintase (CHS1) de artrópodes. Estudos demonstraram que insetos resistentes possuem alterações na composição gênica de CHS1 que resulta na substituição de uma isoleucina por uma fenilalanina na posição 1017 da estrutura primária da enzima (I1017F). Tal alteração no sítio de ligação da enzima resulta na redução da compatibilidade da mesma com o inseticida

com consequente insensibilidade da população de ácaros a benzoilureia em estudo (Van Leeuwen et al., 2012).

Esse ponto de mutação foi verificado em outro grupo de insetos e foi confirmado que o local de mutação é conservado (Douris et al., 2016). A alteração gênica que resulta na substituição I1042M/F na composição da enzima quitina-sintase pode ser observada no domínio C-terminal transmembranar na população de *P. xylostella* resistente a diflubenzuron e triflumurom corresponde ao mesmo domínio com substituição I1017F observada em ácaros. Além disso, o mesmo tipo de mecanismo de resistência foi verificado para *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera:Thripidae) resistente a benzoilureias, no qual uma substituição de isoleucina por metionina foi observado (Suzuki et al., 2017).

Outra forma de resistência a inseticidas pode ser conferida por alterações na composição ou forma da cutícula de insetos que impedem ou reduzem a penetração do inseticida no corpo do inseto. Estudos constataram que a resistência de larvas de *Musca domestica* (L.) (Diptera: Muscidae) ao inseticida diflubenzuron era dada pela redução da penetração do inseticida através da cutícula (Pimprikar e Georghiou, 1979).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Linhagens de *Chrysodeixis includens*

Para o estudo de herança da resistência, uma população de *C. includens* mantida no laboratório de Criação Insetos da Embrapa Agrossilvipastoril (Sinop-MT) desde o ano de 2017 em dieta artificial (Parra 2001) sem pressão de seleção foi utilizada como população suscetível de referência (Sus).

A população resistente (Teflu-R) foi estabelecida através da coleta em campo de aproximadamente 150 indivíduos de nove municípios do Estado de Mato Grosso (Água Boa, Canarana, Cláudia, Dom Aquino, Lucas do Rio Verde, Nova Mutum, Nova Xavantina, Ribeirão Cascalheira e União do Sul). As lagartas coletadas foram acondicionadas em dieta artificial até a geração F<sub>1</sub> para a realização de bioensaios de concentração-diagnóstica com a finalidade de verificar a suscetibilidade dessas populações de campo.

Durante as fases de desenvolvimento, os indivíduos foram mantidos em câmaras climatizadas com temperatura de  $24 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

#### 3.2. Bioensaios para caracterização da resistência de *Chrysodeixis includens* ao teflubenzuron

O método de bioensaio adotado para o estabelecimento das curvas de concentração-reposta e concentração-diagnóstica foi o de ingestão mediante ao tratamento superficial da dieta artificial com inseticida em cada poço de placas acrílicas com 24 poços (Costar<sup>®</sup>). Cada poço (1,91 cm<sup>2</sup>) da placa foi preenchido com 1,5 mL de dieta artificial e as placas foram mantidas em câmara de fluxo laminar sob luz ultravioleta até a solidificação da dieta.

O inseticida comercial Nomolt<sup>®</sup> 150 (150 g/L de teflubenzuron - BASF S.A do Brasil, lote 036-17-23000) foi utilizado em todos os tratamentos que continham inseticida. O produto comercial foi diluído em água purificada por osmose reversa e posteriormente foi adicionado 0,1% (v/v) do adjuvante organossiliconado Break-Thru<sup>®</sup>

para aumentar a solubilidade e a capacidade de espalhamento do inseticida sobre a dieta. Com auxílio de um dispensador Multipette® M4, foram aplicados 20 µL do inseticida diluído de forma a produzir 2 concentrações para os bioensaios de dose diagnóstica (0,940 e 1,88 µg de i.a. cm<sup>-2</sup>) e de 8 a 10 concentrações para os bioensaios de concentração-resposta (0,033 - 785,340 µg de i.a. cm<sup>-2</sup>). As placas do tratamento controle receberam 20 µL de água contendo o adjuvante a 0,1% (v/v). As placas foram mantidas em câmara de fluxo laminar por, no mínimo, 1 hora até a secagem das soluções aplicadas sobre a superfície. Posteriormente, uma lagarta em 3º ínstar foi transferida para cada poço com o auxílio de um pincel. O delineamento foi inteiramente casualizado contendo de 5 a 14 repetições de 24 lagartas cada.

As placas foram mantidas em câmaras climatizadas conforme descrito anteriormente. A mortalidade foi avaliada 96 horas após a aplicação do inseticida. As lagartas foram consideradas mortas quando ao serem tocadas com o pincel não apresentavam movimentos coordenados, não retornavam à posição dorso ventral e/ou apresentavam sintomas característicos da ação do inseticida. Os sintomas eram observados próximo a cabeça das lagartas que apresentavam o rompimento do tegumento devido a menor deposição de quitina ou lagartas que apresentavam o tegumento do ínstar anterior ainda preso no corpo (Figura 1).



**Figura 1.** Lagartas de *Chrysodeixis includens* expostas ao inseticida teflubenzuron apresentam sintomas associados ao mecanismo de ação. Na figura da esquerda é possível verificar o extravasamento da hemolinfa da lagarta devido ao novo tegumento apresentar menor deposição de quitina, enquanto na figura da direita é possível verificar o tegumento antigo ainda preso no corpo. Nota-se dentro do círculo em vermelho que é possível reconhecer os primeiros pares de pernas verdadeiras do ínstar anterior.



### 3.3. Seleção da população de *Chrysodeixis includens* resistente ao teflubenzuron

Através da aplicação concentração-diagnóstica utilizando 0,940  $\mu\text{g}$  de i.a.  $\text{cm}^{-2}$  ( $\text{CL}_{95}$  da população Sus) aplicado em 336 lagartas (14 repetições de 24 lagartas) da geração  $F_1$  das populações coletadas em campo, foi constatado que algumas populações apresentaram suscetibilidade reduzida ao inseticida teflubenzuron. Os adultos dessas populações que apresentaram baixa suscetibilidade foram reunidos em gaiolas de criação para acasalamento aleatório.

A primeira pressão de seleção realizada em laboratório utilizou 2400 lagartas em 3<sup>o</sup> ínstar descendentes do mix das populações de campo com suscetibilidade reduzida. As lagartas foram expostas a uma concentração de 1,88  $\mu\text{g}$  de i.a.  $\text{cm}^{-2}$  (2 vezes a  $\text{CL}_{95}$  da população Sus). Os indivíduos que sobreviveram a esse bioensaio foram conduzidos para gerar a nova população resistente sem os indivíduos suscetíveis. Esse procedimento foi repetido por 2 gerações.

### 3.4. Padrão de herança da resistência de *Chrysodeixis includens* ao teflubenzuron

Pupas das linhagens Sus e Teflu-R foram separadas pelo sexo e mantidas separadamente em placas de Petri. À medida em que os adultos emergiam, cruzamentos recíprocos entre 20 casais (Teflu-R $\sigma$  x Sus $\text{f}$  [ $\text{H}_1$ ] e Teflu-R $\text{f}$  x Sus $\sigma$  [ $\text{H}_2$ ]) foram realizados em gaiolas para acasalamento (tubos de PVC de 20 cm de diâmetro x 20 cm de altura). As progênies dos cruzamentos recíprocos ( $F_1$ ) foram submetidas a bioensaios para a caracterização das curvas de dose-resposta para teflubenzuron e estimativa das  $\text{CL}_{50}$ .

Os bioensaios foram realizados conforme o método descrito anteriormente, utilizando de 72 a 120 lagartas de 3<sup>o</sup> ínstar para cada concentração do inseticida (0.033 a 33.374  $\mu\text{g}$  de i.a.  $\text{cm}^{-2}$ ), totalizando 3 a 5 repetições por concentração (24 lagartas por repetição). Os bioensaios foram repetidos duas vezes. Os dados de mortalidade foram submetidos a análise de Probit para estimar a  $\text{CL}_{50}$  (concentração necessária para matar 50% das lagartas) e  $\text{CL}_{95}$  (concentração necessária para matar 95% das lagartas), bem como seus intervalos de confiança (I.C. 95%) utilizando o software Polo Plus (LeOra Software 2002). A razão da resistência foi calculada pela

divisão dos valores obtidos da CL<sub>50</sub> das populações Teflu-R e cruzamentos recíprocos pelo valor obtido de CL<sub>50</sub> da população Sus.

A possibilidade da resistência estar ligada ao sexo foi verificada através da análise dos resultados obtidos nos cruzamentos recíprocos. O grau médio de dominância da resistência foi estimado através da comparação das CL<sub>50</sub> das progênes F<sub>1</sub> em relação às CL<sub>50</sub> das linhagens parentais, a partir da fórmula apresentada por Stone (1968):

$$D = \frac{2X_{RS} - X_{RR} - X_{SS}}{X_{RR} - X_{SS}}$$

Na qual:

$D$  = grau médio de dominância

$X_{SS}$  = log<sub>10</sub> (CL<sub>50</sub>) da linhagem Sus

$X_{RR}$  = log<sub>10</sub> (CL<sub>50</sub>) da linhagem Teflu-R

$X_{RS}$  = log<sub>10</sub> (CL<sub>50</sub>) da progênie heterozigota F<sub>1</sub>

O valor de  $D$  varia entre -1 e 1, sendo a resistência completamente dominante quando  $D = 1$ , incompletamente dominante quando  $0 < D < 1$ , incompletamente recessiva quando  $-1 < D < 0$  e completamente recessiva quando  $D = -1$ .

Complementar ao método proposto por Stone (1968), os dados de mortalidade dos bioensaios foram submetidos a fórmula proposta por Bourguet et al. (2000) para verificar se o grau da dominância era dependente da concentração de inseticida:

$$D = \frac{M_{RS} - M_{SS}}{M_{RR} - M_{SS}}$$

Na qual:

$D$  = grau médio de dominância

$M_{SS}$  = Mortalidade da linhagem Sus

$M_{RR}$  = Mortalidade da linhagem Teflu-R

$M_{RS}$  = Mortalidade da linhagem heterozigota F<sub>1</sub>

Os valores de D próximos a zero ( $D = 0$ ) significam herança completamente recessiva, enquanto valores próximos a 1 ( $D = 1$ ) significam herança completamente dominante para a resistência.

Para estimar o número de genes envolvidos na resistência, foram realizados retrocruzamentos da progênie  $F_1$  com o parental que apresentava o fenótipo mais distinto da  $F_1$  (Roush e Daly 1990). A possibilidade de herança monogênica foi testada através do teste do  $\chi^2$  entre os dados de mortalidade observada e esperada dos retrocruzamentos. A mortalidade esperada do retrocruzamento a uma determinada concentração foi calculada através da média de mortalidade entre a progênie  $F_1$  e os parentais (Georghiou 1969; Rohlf 1970):

$$\chi^2 = \frac{(Ni - \hat{p}ni)^2}{\hat{p}\hat{q}ni} \quad p = \frac{a + b}{2}$$

Nas quais:

$Ni$  = Mortalidade observada do retrocruzamento da progênie para a concentração  $i$

$\hat{p}$  = Proporção da mortalidade calculada pelo modelo Mendeliano ( $p$ )

$ni$  = Número de indivíduos da progênie que foram testados na concentração  $i$

$\hat{q}$  = Proporção da mortalidade esperada de sobrevivência  $\hat{q} = 1 - \hat{p}$

$a$  = Mortalidade da linhagem parental

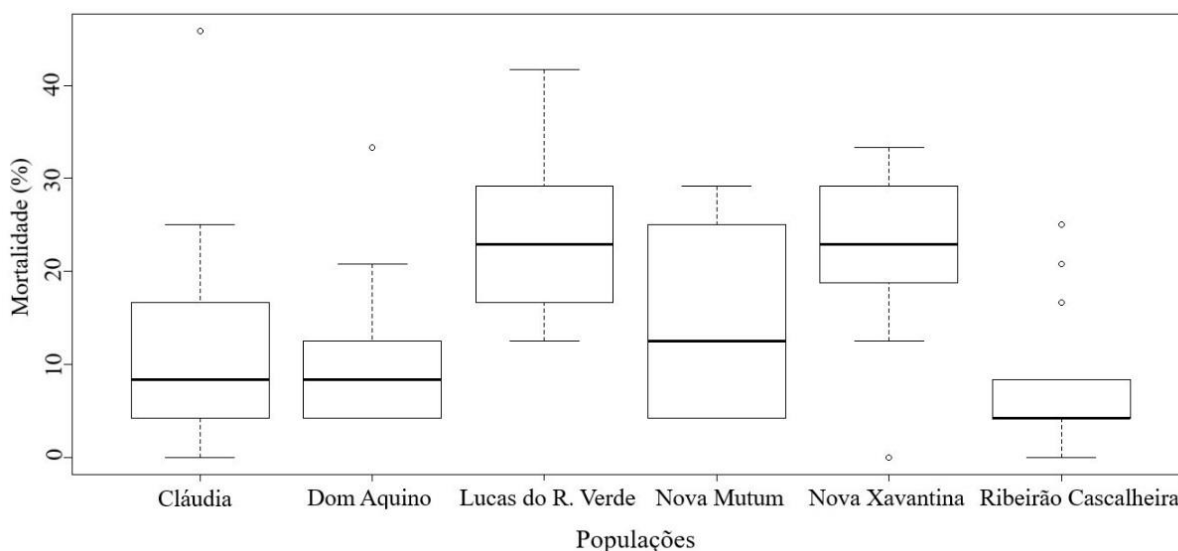
$b$  = Mortalidade da progênie heterozigota  $F_1$

A hipótese da herança ser monogênica é rejeitada quando  $\chi^2_{\text{calculado}} \geq \chi^2_{\text{tabelado}}$  com grau de liberdade igual a 1 ( $P < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Caracterização da resistência de *Chrysodeixis includens* ao inseticida teflubenzuron

Dentre as populações de campo submetidas a concentração-diagnóstica ( $CL_{95}$  da população Sus), os indivíduos provenientes dos municípios de Cláudia, Dom Aquino, Lucas do Rio Verde, Nova Mutum, Nova Xavantina e Ribeirão Cascalheira apresentaram mortalidades inferiores a 40% (Figura 2). Os descendentes do mix dessas populações que foram submetidos a pressão de seleção em laboratório deram origem a linhagem resistente (Teflu-R).



**Figura 2.** Mortalidade (%) das populações de campo de *Chrysodeixis includens* coletadas no Estado de Mato Grosso e submetidas a uma concentração-diagnóstica de 0,940  $\mu\text{g}$  de i.a.  $\text{cm}^{-2}$ .

Após a pressão de seleção em laboratório, a  $CL_{50}$  para população Teflu-R selecionada foi a maior concentração possível testada ( $>785,340 \mu\text{g}$  de i.a.  $\text{cm}^{-2}$  de dieta), enquanto a  $CL_{50}$  para a população suscetível foi de  $0,074 \mu\text{g}$  de i.a.  $\text{cm}^{-2}$ . Isso indica que população resistente selecionada em laboratório apresenta razão de resistência maior que 10.613 vezes comparada com população suscetível (Tabela 1).

Diferenças foram observadas para as estimativas de  $CL_{50}$  das populações de *C. includens* resistentes ou suscetíveis ao inseticida teflubenzuron e dos indivíduos obtidos de seus cruzamentos recíprocos. A  $CL_{50}$  (95% I.C.) estimada para os

indivíduos provenientes do cruzamento de Teflu-R ♂ x Sus♀ (H<sub>1</sub>) foi de 0,761 (0,263 – 1,537) µg de i.a. cm<sup>-2</sup>, enquanto para o cruzamento Teflu-R ♀ x Sus♂ (H<sub>2</sub>) foi de 0,076 (0,048 – 0,107) µg de i.a. cm<sup>-2</sup>. As diferenças entre as CL<sub>50</sub> obtidas foram observadas pela falta de sobreposição dos intervalos de confiança e confirmadas pelo teste de igualdade ( $\chi^2 = 203,00$ ; gl = 6; P < 0,001) e de paralelismo ( $\chi^2 = 95,72$ ; gl = 3; P < 0,001) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Estimativa da CL<sub>50</sub>, CL<sub>95</sub> e razões de resistência de populações de *Chrysodeixis includens* resistentes ou suscetíveis ao inseticida teflubenzuron e dos indivíduos obtidos de seus cruzamentos recíprocos.

População	N	Inclinação ± EP	$\chi^2$ (g.l. <sup>a</sup> )	CL <sub>50</sub> (95% I.C) <sup>b</sup>	CL <sub>95</sub> (95% I.C) <sup>b</sup>	RR <sub>50</sub> <sup>c</sup>	RR <sub>95</sub> <sup>c</sup>
Suscetível	904	1,571 ± 0,108	9,54 (6)	0,074 (0,057 - 0,092) c	0,820 (0,546 - 1,491) c	-	-
Teflu-R	1076	0,352 ± 0,168	9,64 (7)	>785,340 a	-	>10.613	-
H <sub>1</sub>	888	0,439 ± 0,070	6,25 (6)	0,761 (0,263 - 1,537) b	>33,374 a	10	>40.700
H <sub>2</sub>	1459	1,059 ± 0,075	12,30 (7)	0,076 (0,048 - 0,107) c	2,825 (1,674 - 6,200) b	1	3

<sup>a</sup> Grau de liberdade para o teste do qui-quadrado.

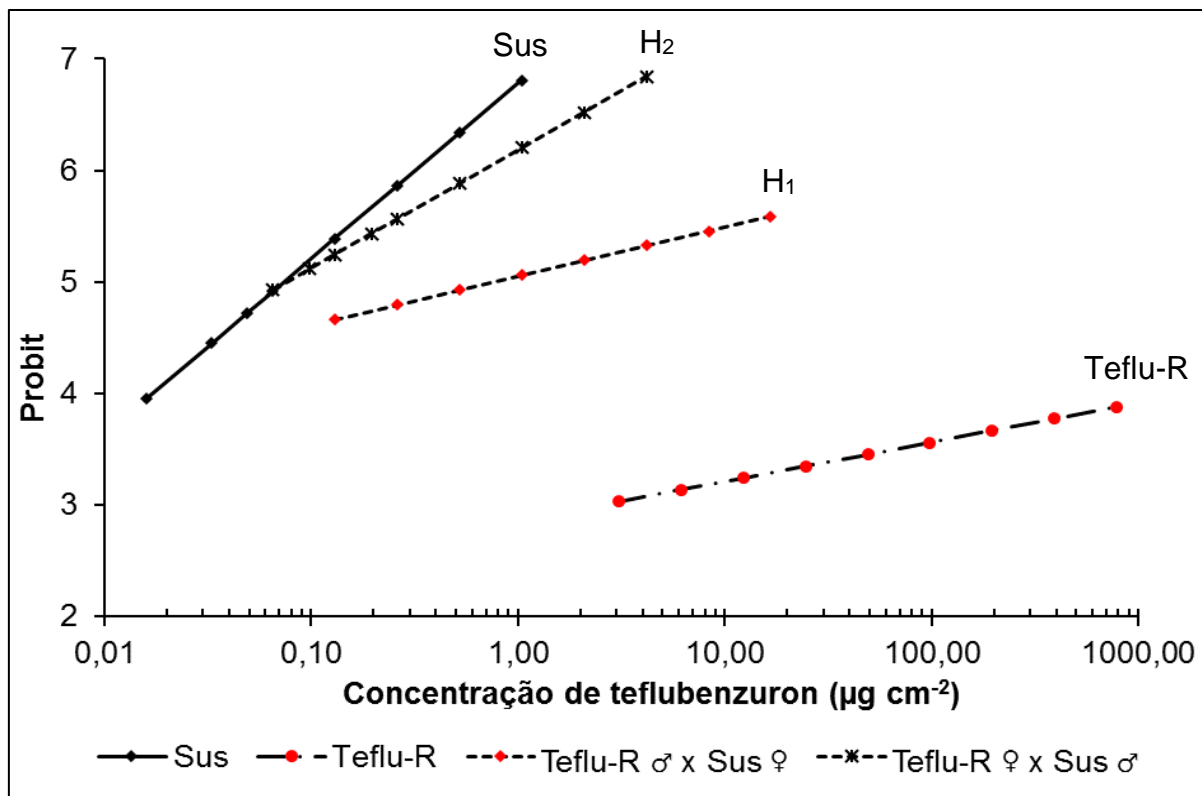
<sup>b</sup> Concentração Letal para matar 50 ou 95% da população (em µg de i.a. cm<sup>-2</sup>). Valores seguidos de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pela sobreposição dos intervalos de confiança (95%).

<sup>c</sup> Razão de Resistência (CL<sub>50 ou 95</sub> da população resistente ou cruzamentos/CL<sub>50 ou 95</sub> da população suscetível).

A CL<sub>50</sub> da população H<sub>2</sub> (0,076 µg cm<sup>-2</sup> i.a.) não diferiu da CL<sub>50</sub> da população Sus (0,074 µg de i.a. cm<sup>-2</sup>). A CL<sub>50</sub> da população H<sub>1</sub> (0,761 µg de i.a. cm<sup>-2</sup>) foi superior às CL<sub>50</sub> das populações Sus e H<sub>2</sub> e inferior à CL<sub>50</sub> observada para população Teflu-R (>785,340 µg de i.a. cm<sup>-2</sup>). Quando analisada a razão da resistência (RR) para os cruzamentos recíprocos, foi observada uma RR<sub>50</sub> de 10 vezes para H<sub>1</sub> em relação a população Sus e H<sub>2</sub>, e uma RR<sub>95</sub> mais acentuada para a população H<sub>1</sub> (>40.700 vezes). Assim como a CL<sub>50</sub> para a população Teflu-R, a CL<sub>95</sub> para a população H<sub>1</sub> não foi estimada, pois a população não apresentou mortalidades superiores a 70% na maior concentração testada (33,374 µg de i.a. cm<sup>-2</sup>) e novos ensaios não foram possíveis com concentrações superiores devido a degeneração da população resistente.

As análises dos bioensaios de concentração-resposta de cada população demonstram que, em concentrações de i. a. mais elevadas, as populações Teflu-R e H<sub>1</sub> apresentaram baixo incremento de mortalidade, indicadas pelos valores reduzidos da inclinação dessas curvas e similaridades de paralelismo ( $\chi^2 = 0,24$ ; gl = 1; P = 0,624) (Figura 3). Tais observações na caracterização das populações parentais e

heterozigóticas sugerem que a herança da resistência a teflubenzuron na população selecionada é ligada ao sexo masculino, visto que há diferenças entre as respostas das populações heterozigotas H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> e uma similaridade entre a população H<sub>1</sub> e a Teflu-R indicado pelo paralelismo.

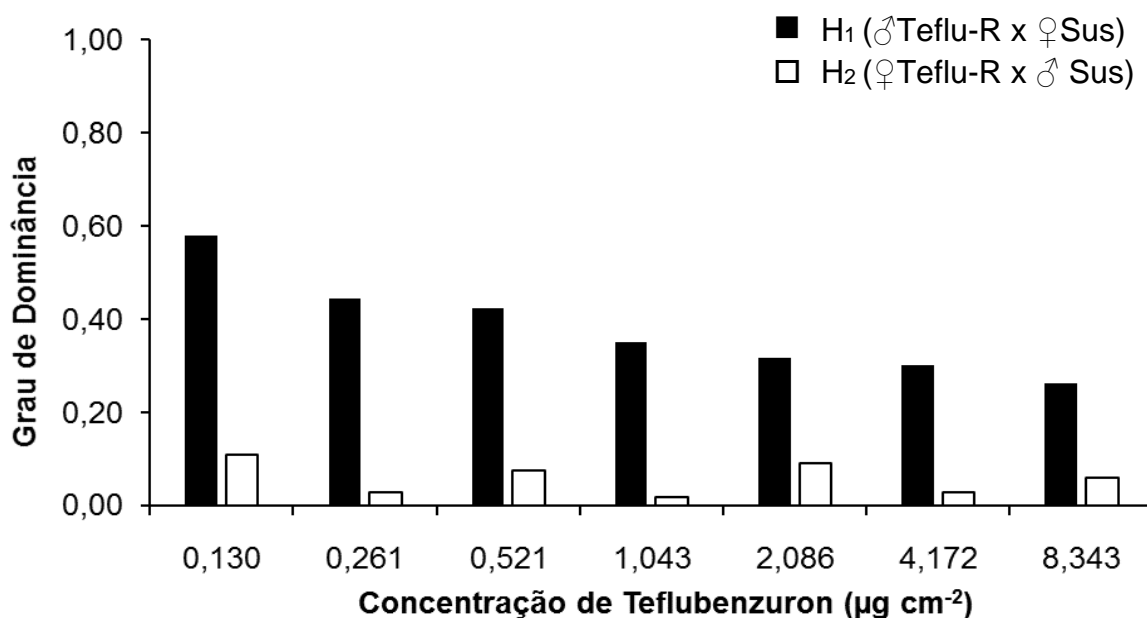


**Figura 1.** Curvas de concentração-resposta para as linhagens de *C. includens* suscetível (Sus), resistente (Teflu-R) e das progênes de cruzamentos recíprocos (H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub>).

Quando comparada a população H<sub>2</sub> com a Sus, mesmo com intervalos de confiança sobrepostos em termos de CL<sub>50</sub>, a inclinação da curva de probit em função da concentração do i. a. da população H<sub>2</sub> não apresentou paralelismo com a inclinação da curva dos valores de mortalidade da população Sus ( $\chi^2 = 9,59$ ; gl = 1; P = 0,002). Isso sugere que, apesar de apresentar suscetibilidade semelhante à da população Sus, a população H<sub>2</sub> difere da população Sus provavelmente devido a heranças maternas e por apresentar uma RR<sub>95</sub> de 3 vezes.

#### 4.2. Dominância da resistência e número de genes associados

Os graus de dominância pela fórmula de Stone (1968) das populações H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> foram, respectivamente, -0,50 e -1, o que indica que a dominância é incompletamente recessiva para a população H<sub>1</sub> e completamente recessiva para H<sub>2</sub>. Complementarmente, foi observado que o grau de dominância decresce com o aumento da concentração de i. a. aplicada para a população H<sub>1</sub> (dominância incompletamente recessiva) e não há diferenças consideráveis no grau de dominância na população H<sub>2</sub> conforme há o aumento da concentração do inseticida (dominância completamente recessiva) (Figura 4).



**Figura 2.** Valores de dominância da resistência de *Chrysodeixis includens* para teflubenzuron em função da concentração do inseticida.

A resistência a teflubenzuron presente em *C. includens* é sugerida como poligênica, visto que os valores de mortalidade observados nos descendentes obtidos a partir do retrocruzamento ♀Teflu-R x ♂H<sub>2</sub> sempre diferiu dos valores de mortalidade esperada assim como também foi observado para os descendentes do retrocruzamento ♀Sus x ♂H<sub>1</sub>, rejeitando a hipótese da herança monogênica, visto que

em casos de herança poligênica a mortalidade dos retrocruzamentos devem ser próximas de 75% (Tabela 2).

**Tabela 2.** Análise do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para os dados de mortalidade dos retrocruzamentos das populações heterozigotas com os parentais mais distintos de *Chrysodeixis includens* expostas a diferentes concentrações de teflubenzuron.

Concentração ( $\mu\text{g cm}^2$ )	♀H <sub>1</sub> x ♂Sus			♀Sus x ♂H <sub>1</sub>			♀H <sub>2</sub> x ♂Teflu-R			♀Teflu-R x ♂H <sub>2</sub>		
	Obs	Esp	$\chi^2$	Obs	Esp	$\chi^2$	Obs	Esp	$\chi^2$	Obs	Esp	$\chi^2$
0.261	42% <sup>a</sup>	64% <sup>b</sup>	29.46 <sup>c</sup>	81%	64%	18.48*	58%	39%	7.40*	18%	39%	37.11*
0.521	60%	73%	13.97*	79%	73%	2.80 <sup>ns</sup>	48%	43%	0.50 <sup>ns</sup>	25%	43%	29.64*
2.086	63%	76%	13.29*	83%	76%	3.91*	52%	50%	0.08 <sup>ns</sup>	25%	50%	48.84*
4.172	73%	79%	2.93 <sup>ns</sup>	84%	79%	2.69 <sup>ns</sup>	60%	50%	2.11 <sup>ns</sup>	26%	50%	47.65*
8.344	65%	78%	15.16*	89%	78%	12.43*	60%	51%	1.73 <sup>ns</sup>	23%	51%	65.06*

<sup>a,b</sup> Mortalidade observada e mortalidade esperada baseada no modelo Mendeliano de herança.

<sup>c</sup> Valores de qui-quadrado calculado comparado com o tabelado ( $\alpha=0,05$ ; gl = 1;  $\chi^2_{\text{tab}} = 3,84$ ).



## 5. DISCUSSÃO

Pesquisas com inseticidas reguladores de crescimento para estudos de resistência são dificultadas dadas as diversas variáveis que os insetos são submetidos. Por exemplo, ensaios com inibidores da biosíntese de quitina necessitam de 4 a 7 dias para avaliação para que os efeitos dos inseticidas desse grupo possam ser observados. A variabilidade inata dos insetos também é um importante fator que dificulta a obtenção de resultados, gerando dados com intervalos de confiança extremamente grandes ou imprecisos (Robertson et al. 2017).

As pressões de seleção realizadas nesse estudo sobre as populações coletadas em campo resultaram na formação da população Teflu-R, uma população com alta frequência do alelo resistente. A alta razão de resistência dessa população dificultou os estudos de determinação da  $CL_{50}$ , pois mesmo em altas concentrações do produto (relação 1:1 entre produto comercial e água), a mortalidade observada não ultrapassou 30%. Isso confirma que o uso contínuo de um mesmo i.a. acelera a evolução da resistência e ocasiona falhas de controle no campo, devido a elevada resistência dos indivíduos.

O elevado grau de resistência pode estar correlacionado ao fato que o inseticida teflubenzuron apresenta uma alta persistência no ambiente (Abo-Elghar et al., 2004). Isso podem resultar em uma elevada pressão de seleção devido ao maior tempo de exposição das lagartas ao inseticida, principalmente em situações em que as aplicações preventivas sem o monitoramento adequado são empregadas. Estudos demonstram que 3 a 4 aplicações consecutivas de um mesmo produto fitossanitário com elevada persistência para o controle de psílídeo pode elevar a razão de resistência de uma população suscetível para 1.200 vezes, causando falhas no controle (Teló et al., 2015; Chen et al., 2020).

Apesar da baixa razão de resistência ( $RR_{50}$ ) observada nas populações heterozigotas, a população  $H_1$  apresentou baixa variação de mortalidade ao incremento da concentração do inseticida ( $RR_{95} > 40.700$  vezes) e, somando à análise de paralelismo com a população Teflu-R, foi possível verificar o mesmo coeficiente angular para a população  $H_1$  e Teflu-R. Tais semelhanças sugerem que a população  $H_1$  e Teflu-R são qualitativamente semelhantes em mecanismos associados à

resistência, mas quantitativamente diferentes devido ao deslocamento observado (Robertson et al. 2017).

Nossos resultados indicam que a herança da resistência de *C. includens* ao teflubenzuron na população selecionada Teflu-R é majoritariamente ligada ao sexo. Nos insetos, os cromossomos que definem os sexos são representados por Z (X) e W (Y). Na ordem Lepidoptera, os machos apresentam os cromossomos ZZ (XX) e as fêmeas ZW (XY) (Kaiser e Bachtrog, 2010). Existem fortes evidências que as diferenças ecológicas, ambientais ou fisiológicas vistas entre as espécies é ligada ao cromossomo Z (Sperling, 1994).

A resistência de insetos a inseticidas ligado ao sexo foram relatados por alguns autores (Daly e Fisk, 1998; Kanga et al., 2001; Kotze e Sales, 2001). Ensaio avaliando a possibilidade da resistência de *Helicoverpa armigera* ao endossulfan estar ligada ao sexo evidenciou que as lagartas provenientes do cruzamento de machos resistentes com fêmeas suscetíveis ( $H_1$ ) apresentou uma RR de 10 vezes quando comparada a  $H_2$ , mesmo resultado observado em nosso trabalho (Daly e Fisk, 1998). Ainda nesse estudo, através dos cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos, as estimativas da  $CL_{50}$  para lagartas e adultos de *H. armigera* indicou que essa população apresentava uma herança da resistência ligada ao cromossomo Z. Resultados similares avaliando uma população de *S. frugiperda* resistente carbamatos, indicaram que a linhagem  $F_1$  proveniente de machos resistentes apresentou similaridade com a população parental resistente e uma maior atividade de monooxigenases responsáveis pela resistência (Yu e Nguyen, 1994), mesmo mecanismo relatado para a resistência ao teflubenzuron (Lin et al., 1989).

A partir da análise de mortalidade dos cruzamentos recíprocos e retrocruzamentos, foram evidenciados que a herança apresenta caráter recessivo e poligênico. Ambas as fórmulas utilizadas nesse estudo demonstraram diferenças ao se avaliar o grau de dominância das populações heterozigotas. Essas diferenças podem ter sido influenciadas devido a herança estar ligada ao sexo e pela dificuldade em estabelecer a  $CL_{50}$  da população Teflu-R. Estudos demonstram que, em casos de resistência recessiva, a evolução da resistência pode ser suprimida ao adotar-se estratégias adequadas para o reestabelecimento da suscetibilidade (Georghiou e Taylor, 1977; Tabashnik et al., 2009).

Quando a herança é monogênica, espera-se que as contribuições dos alelos que conferem a resistência sejam iguais e aditivas, na qual a concentração que mata os indivíduos suscetíveis homocigotos ( $S_1S_1S_2S_2$ ) também ocasione mortalidade parcial em indivíduos heterocigotos ( $S_1S_1R_2S_2$  e  $R_1S_1S_2S_2$ ). Por outro lado, quando a resistência for poligênica, a mortalidade observada nos retrocruzamentos será superior a 50% (Roush e Daly 1990). Nossos dados de mortalidade observada foram próximos à 70%, exceto no retrocruzamento entre ♀Teflu-R x ♂H<sub>2</sub> os dados de mortalidade observada foram inferiores a 50%. Possivelmente essa baixa mortalidade esteja correlacionada com a herança ligada ao sexo, visto que os machos da população H<sub>2</sub> serão heterocigotos para a resistência nos casos em que a resistência está ligada ao cromossomo Z. Quando os machos heterocigotos são retrocruzados com fêmeas resistentes, os descendentes irão apresentar uma alta frequência do alelo da resistência, resultando em menor incremento de mortalidade em função do aumento da concentração do inseticida, conforme observado no retrocruzamento ♀Teflu-R x ♂H<sub>2</sub> (Daly e Fisk, 1998).

Outros autores também avaliaram a herança da resistência de *C. includens* ao teflubenzuron e demonstraram que, na população resistente, a herança da resistência é autossômica, poligênica e recessiva com presença de custo adaptativo (Stacke et al., 2020). Resultados semelhantes foram observados para *S. frugiperda* resistente a lufenuron, em que a herança foi classificada como autossômica, poligênica e recessiva (Nascimento et al., 2016).

Apesar de não ser possível avaliar o custo adaptativo da população Teflu-R utilizada em nosso estudo, observações laboratoriais indicam que essa população apresentava um custo adaptativo, visto que era necessário ajustar o desenvolvimento das lagartas através da temperatura. Na população Teflu-R era possível observar um maior ciclo, uma menor taxa de sobrevivência e emergência dos adultos e uma menor fecundidade, tornando necessário a intensificação da criação dessa população no laboratório. Mesmo sem o contato com o inseticida após a seleção em laboratório, essa população apresentou uma degeneração rápida, impossibilitando estudos complementares sobre sua biologia.

Entender o agroecossistema é necessário para as práticas de manejo da resistência de inseto (MRI) serem um sucesso. Estudos sobre a genética das

populações associados a estudos de Biologia Molecular, herança da resistência e ecologia molecular dos insetos são fundamentais para realização do MRI (Roush e Daly, 1990; Onstad, 2008).

Através do uso de marcadores moleculares para estudar a diversidade genética, populações de *C. includens* de diferentes regiões do Brasil e na região sul da América do Sul foram coletadas para verificar se há diferenças na estrutura genética dessas populações (Perini et al., 2020; Silva et al., 2020). Os resultados demonstraram que as populações, apesar de apresentarem um elevado fluxo gênico, têm uma baixa diversidade e estrutura genética. Do ponto de vista da evolução da resistência, a baixa diversidade genética associada ao alto fluxo gênico entre as populações favorece o rápido aumento de alelos da resistência.

Considerando a baixa variabilidade genética das populações de *C. includens* no Brasil (Silva et al., 2020), o monitoramento da resistência é uma ferramenta importante para implementar táticas de manejo da resistência a tempo de evitar as falhas de controle (R4P Network, 2016). A adoção de sistemas de cultivos de sucessão como soja-algodão e o uso de poucas táticas de controle para as lagartas de *C. includens* é amplamente empregado no Brasil. Assim, são necessários estudos que busquem monitorar a resistência em âmbito regional para que as estratégias de manejo da resistência sejam efetivas e duradouras (Guedes, 2017).

A resistência é um fenômeno complexo que envolve aspectos evolutivos, genéticos e ecológicos (Metcalf, 1989). Para contornar esse problema, o MRI fornece estratégias que visam retardar a evolução da resistência e reestabelecer a suscetibilidade. Dentre essas estratégias, as comumente implementadas para o manejo da resistência de insetos a inseticidas é a rotação de moléculas com mecanismos de ação distintos e a redução no uso de inseticidas (Metcalf, 1980; Chen et al., 2020). A redução no uso de inseticidas pode ser realizada com a adoção do MIP, que tem como objetivo a integração de táticas para o controle de pragas utilizando níveis de monitoramento para o controle (Kogan, 1998). Quando o MRI e o MIP são utilizados em conjunto, é possível reduzir a pressão de seleção sobre os organismos e atingir os objetivos previstos no MRI.

O monitoramento das populações é a chave para que uma tática de controle ou uma estratégia de manejo da resistência deve ser adotada ou não. Nossos

resultados demonstraram que a resistência de *C. includens* ao teflubenzuron está ligada ao sexo, assim, pode-se aprimorar estratégias de monitoramento, como por exemplo, coleta de adultos através de armadilhas e desenvolver técnicas moleculares para identificação dos indivíduos resistentes no campo, auxiliando nas estratégias do MRI (Kranthi, 2005).

## 6. CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstraram que as populações coletadas em diferentes municípios do Estado de Mato Grosso e submetidas a pressão de seleção em laboratório por duas gerações resultaram na formação de uma população com alta resistência ao teflubenzuron, o que indica alta frequência do alelo resistente nessas populações de campo. Os cruzamentos recíprocos e os retrocruzamentos demonstraram que a herança da resistência é ligada ao cromossomo Z (X), recessiva e poligênica.

## REFERÊNCIAS

Abo-Elghar GE, Ei-Sheikh AE, El-Sayed FM, El-Maghraby HM, El-Zun HM (2004) Persistence and residual activity of an organophosphate, pirimiphos-methyl, and three IGRs, hexaflumuron, teflubenzuron and pyriproxyfen, against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Pest Management Science** 60:95-102

Andrade K, Bueno A de F, Silva DM, Stecca CS, Pasini A, Oliveira MCN (2016) Bioecological characteristics of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts. **Austral Entomology** 55:449–454.

Baldin ELL, Lourenção AL, Schlick-Souza EC (2014) Outbreaks of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) in common bean and castor bean in São Paulo State, Brazil. **Bragantia** 73:458–465.

Barrionuevo MJ, Murúa MG, Goane L, Meagher R, Navarro F (2012) Life table studies of *Rachiplusia nu* (Guenée) and *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) on artificial diet. **Florida Entomologist** 95:944–951.

Barrionuevo MJ, San Blas G (2016) Redescription of immature stages of the soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae). **Canadian Entomologist** 148:247–259.

Bernardi O, Malvestiti GS, Dourado PM, Oliveira WS, Martinelli S, Berger GU, Head GP, Omoto C (2012) Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 × MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science** 68:1083–1091.

Boethel DJ, Mink JS, Wier AT, Thomas JD, Leonard BR (1992) Management of insecticide resistant soybean loopers (*Pseudoplusia includens*) in the Southern United States. In: Copping LG, Green MB, Rees RT (eds) **Pest Management in Soybean**. Inglaterra: Society of Chemical Industry, p. 66–87.

Bogwitz MR, Chung H, Magoc L, Rigby S, Wong W, O’Keefe M, McKenzie JA, Batterham P, Daborn PJ (2005) Cyp12a4 confers lufenuron resistance in a natural population of *Drosophila melanogaster*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 102:12807–12812.

Bortolotto OC, Pomari-Fernandes A, Bueno RCOF, Bueno AF, Kruz, YKS, Queiroz AP, Sanzovo A, Rodrigues RB (2015) The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. **Agronomy Science and Biotechnology** 1:1-25.

Bourguet D, Genissel A, Raymond M (2000) Insecticide resistance and dominance levels. **Journal of Economic Entomology** 93:1588–1595.

Bueno ADF, Corrêa-ferreira BS, Hoffmann-campo CB, Sosa-Gómez DR, Gazzoni DL, Hirose E, Moscardi F, Corso IC, Oliveira LJ, Roggia S (2012) Histórico e evolução do Manejo Integrado de Pragas da Soja no Brasil. In: Hoffmann-Campo CB, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F (eds) **Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília: EMBRAPA, p. 37–74

Bueno RCOF, Bueno AF, Moscardi F, Parra JRP, Hoffmann-Campo CB (2011) Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: Basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science** 67:170–174.

Bueno AF, Paula-Moraes S V., Gazzoni DL, Pomari AF (2013) Economic thresholds in soybean-integrated pest management: old concepts, current adoption, and adequacy. **Neotropical Entomology** 42:439–447.

Canerday T, Arant FS (1965) The looper complex in Alabama (Lepidoptera: Plusiinae). **Journal of Economic Entomology** 59:742–743.

Canerday TD, Arant FS (1967) Biology of *Pseudoplusia includens* and notes on biology of *Trichoplusia ni*, *Rachiplusia nu*, and *Autographa biloba*. **Journal of Economic Entomology** 60:870–871.

Caprio MA (1998) Evaluating resistance management strategies for multiple toxins in the presence of external refuges. **Journal of Economic Entomology** 91:1021–1031.

Chen XD, Neupane S, Gossett H, Pelz-Stelinski KS, Stelinski LL (2020) Insecticide rotation scheme restores insecticide susceptibility in thiamethoxam-resistant field populations of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), in Florida. **Pest Management Science** 77:464-473.

Crow JF (1957) Genetics of insect resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology** 2:227–246.



Daly JC, Fisk JH (1998) Sex-linked inheritance of endosulphan resistance in *Helicoverpa armigera*. **Heredity** 81:55–62.

Douris V, Steinbach D, Panteleri R, Livadaras I, Pickett JA, Van Leeuwen T, Nauen R, Vontas J (2016) Resistance mutation conserved between insects and mites unravels the benzoylurea insecticide mode of action on chitin biosynthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 113:14692–14697.

Feyereisen R, Dermauw W, Van Leeuwen T (2015) Genotype to phenotype, the molecular and physiological dimensions of resistance in arthropods. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 121:61–77.

Funichello M, Fraga DF, Prado EP, Aguirre-Gil OJ, Busoli AC (2019) Vertical distribution of *Crysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in transgenic and conventional cotton cultivars. **Revista de Ciências Agroveterinárias** 18:150–153.

Georghiou GP (1969) Genetics of resistance to insecticides in houseflies and mosquitoes. **Experimental Parasitology** 26:224–255.

Georghiou GP, Taylor CE (1977) Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology** 70:319–323.

Godoy DN, Führ FM, Stacke RF, Muraro DS, Marçon P, Popham HJR, Bernardi O (2019) No cross-resistance between ChinNPV and chemical insecticides in *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Invertebrate Pathology** 164:66–68.

Herzog DC (1980) Sampling soybean looper on soybean. In: Kogan M, Herzog DC (eds) **Sampling methods in soybean entomology**. Nova Iorque: Springer-Verlag, p.141–162.

IRAC (2021) Insecticide Resistance Action Committee. <https://irac-online.org/>. Acesso em: 9 jan. 2021.

Kaiser VB, Bachtrog D (2010) Evolution of sex chromosomes in insects. **Annual Review of Genetics** 44:91–112.

Kanga LHB, Pree DJ, Plapp FW, Van Lier JL (2001) Sex-linked altered acetylcholinesterase resistance to carbamate insecticides in adults of the Oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 71:29–39.

Kliot A, Ghanim M (2012) Fitness costs associated with insecticide resistance. **Pest Management Science** 68:1431–1437

Kogan M (1998) Integrated pest management: Historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology** 43:243–270.

Kogan M, Herzog DC (1980) Sampling methods in soybean entomology. Nova Iorque: Springer-Verlag, 596 p.

Kotze AC, Sales N (2001) Inheritance of diflubenzuron resistance and monooxygenase activities in a laboratory-selected strain of *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Economic Entomology** 94:1243–1248.

Kotze AC, Sales N, Barchia IM (1997) Diflubenzuron tolerance associated with monooxygenase activity in field strain larvae of the Australian sheep blowfly (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Economic Entomology** 90:15–20.

Kranthi KR (2005) Insecticide resistance: monitoring, mechanisms and management manual. Nagpur: Central Institute for Cotton Research, 153 p.

Leonard RB, Boethel DJ, Sparks AN, Layton MB, Mink JS, Pavloff AM, Burris E, Graves JB (1990) Variations in response of soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides in Louisiana. **Journal of Economic Entomology** 83:27–34.

LeOra Software (2002) PoloPlus, a user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software, Berkeley, California.

Lin JG, Hung CF, Sun CN (1989) Teflubenzuron resistance and microsomal monooxygenase in larvae of the diamondback moth. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 35:20–25.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sistema Agrofit. disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons.](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.)> Acesso em 03 fev 2021.

Mark Beach R, Todd JW (1988) Foliage consumption and developmental parameters of the soybean looper and the velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae) reared on susceptible and resistant soybean genotypes. **Journal of Economic Entomology** 81:310–316.

Martins GLM, Tomquelski GV (2015) Eficiência de inseticidas no controle de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja. **Journal of Neotropical Agriculture** 2:25–30.

Mascarenhas RN, Boethel DJ (1997) Responses of field-collected strains of soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides using an artificial diet overlay bioassay. **Journal of Economic Entomology** 90:1117–1124.

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. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 97:133–139.

Meagher J (2001) Collection of soybean looper and other noctuids in phenylacetaldehyde-baited field traps. **Florida Entomologist** 84:154–155.

Metcalf RL (1989) Insect resistance to insecticides. **Pesticide Science** 26:333–358.

Metcalf RL (1980) Changing role of insecticides in crop protection. **Annual Review of Entomology** 25:219–256

Melander AL (1914) Can insects become resistant to sprays? **Journal of Economic Entomology** 7:167–173.

Mitchell ER (1967) Life history of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Georgia Entomological Society** 2:53–57.

Moscardi F, Bueno A de F, Sosa-Gómez DR, Roggia S, Hoffmann-Campo CB, Pomari AF, Corso IC, Yano SAC (2012) Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: Hoffmann-Campo CB, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F (eds) **Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília: EMBRAPA, p. 212–334.

Mota-Sanchez D, Wise JC (2021) Arthropod Pesticide Resistance Database. In: Michigan State University. <http://www.pesticideresistance.org>. Acesso em: 9 jan 2020.

Nascimento ARB do, Farias JR, Bernardi D, Horikoshi RJ, Omoto C (2016) Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science** 72:810–815.

Nauen R, Slater R, Sparks TC, Elbert A, Mccaffery A (2019) IRAC: Insecticide Resistance and Mode-of-action Classification of Insecticides. **Modern Crop Protection Compounds** 995–1012.

Nauen R, Zimmer CT, Vontas J (2021) Heterologous expression of insect P450 enzymes that metabolize xenobiotics. **Current Opinion in Insect Science** 43:78–84.

Onstad DW (2008) The future of insect resistance management. In: Onstad DW (ed) **Insect Resistance Management**, (2<sup>a</sup> eds.) Academic Press, p. 289–300.

Parra JRP (2001) Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. Piracicaba: ESALQ, 134p.

Pereira RR, Neves DVC, Campos JN, Santana Júnior PA, Hunt TE, Picanço MC (2018) Natural biological control of *Chrysodeixis includens*. **Bulletin of Entomological Research** 108:831–842.

Perini CR, Arnemann JA, Cavallin LA, Guedes GA, Marques RP, Valmorbida I, Silva K, Feltrin NM, Puntel L, Froehlich R, Guedes JVC (2019) Challenges in chemical management of soybean looper (*Chrysodeixis includens*) using several insecticides. **Australian Journal of Crop Science** 13:1723–1730

Perini CR, Sosa VI, Koda VE, Silva H, Risso AA, Vasconcelos WNF, Gonçalves CF, Ugalde GA, Machado DN, Bevilacqua CB, Ardisson-Araújo DMP, Maebe K, Smagghe G, Valmorbida I, Guedes JC (2020) Genetic structure of two Plusiinae species suggests recent expansion of *Chrysodeixis includens* in the American continent. **Agricultural and Forest Entomology**: DOI: 10.1111/afe.12427

Pimprikar GD, Georghiou GP (1979) Mechanisms of resistance to diflubenzuron in the house fly, *Musca domestica* (L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 12:10–22.

Portillo HE, Felland CM, Pitre HN, Porter RP (1993) Pyrethroid resistance levels in soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) in Mississippi. **Florida Entomologist** 76:577–584.

Queiroz LF, Corassa JDN, Rodrigues SMM, Pitta RM (2020) Susceptibility of soybean looper to lufenuron and spinosad. **Arquivos do Instituto Biológico** 87:1–8

R4P Network (2016) Trends and challenges in pesticide resistance detection. **Trends in Plant Science** 21:834–853.

Robertson JL, Jones MM, Olguin E, Alberts B (2017) Bioassays with arthropods, (3<sup>a</sup>. eds.). Boca Raton: CRC Press, 212p.

Rodrigues-Silva N, Canuto AF, Oliveira DF, Teixeira AF, Santos-Amaya OF, Picanço MC, Pereira EJG (2019) Negative cross-resistance between structurally different *Bacillus thuringiensis* toxins may favor resistance management of soybean looper in transgenic *Bt* cultivars. **Scientific Reports** 9:1–9.

Rohlf FJ (1970) Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. **Systematic Zoology** 19:391–393.

Rolim AASG, Yano SAC, Specht A, Andrade CGTJ, Sosa-Gómez DR (2013) Morphological and molecular characterization of the eggs of some noctuid species associated with soybean in Brazil. **Annals of the Entomological Society of America** 106:643–651.

Roush RT, Daly JC (1990) The role of population genetics in resistance research and management. **Pesticide Resistance in Arthropods** 97–152.

Silva CS, Cordeiro EMG, Paiva JB, Dourado PM, Carvalho RA, Head G, Martinelli S, Correa AS (2020) Population expansion and genomic adaptation to agricultural environments of the soybean looper, *Chrysodeixis includens*. **Evolutionary Applications** 13:2071–2085.

Schwinn FJ (1988) Importance, possibilities and limitations of chemical control now and in future - an industry view. **Ecological Bulletins - Swedish Natural Science Research Council** 39:82–88

Sonoda S, Tsumuki H (2005) Studies on glutathione S-transferase gene involved in chlorfluazuron resistance of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 82:94–101.

Sosa-Gómez DR, Côrrea-Ferreira BS, Hoffmann-Campo CB, Corso IC, Oliveira LJ, Moscardi F, Panizzi AR, Bueno AF, Hirose E, Roggia S (2014) Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja. (3ª eds). Londrina: EMBRAPA, 100p.

Sosa-Gómez DR, Delpin KE, Moscardi F, Nozaki MH (2003) The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology** 32:287–291.

Sosa-Gómez DR, López Lastra CC, Humber RA (2010) An overview of arthropod-associated fungi from Argentina and Brazil. **Mycopathologia** 170:61–76.

Sparks TC, Crossthwaite AJ, Nauen R, Banba S, Cordova D, Earley F, Ebbinghaus-Kintscher U, Fujioka S, Hirao A, Karmon D, Kennedy R, Nakao T, Popham HJR, Salgado V, Watson GB, Wedel BJ, Wessels F (2020) Insecticides, biologics and nematicides: Updates to IRAC's mode of action classification - a tool for resistance management. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 167:104587.

Specht A, Paula-Moraes SV de, Sosa-Gómez DR (2015) Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Revista Brasileira de Entomologia** 59:343–345.

Sperling FAH (1994) Sex-linked genes and species differences in lepidoptera. **The Canadian Entomologist** 126:807–818.

Stacke RF, Giacomelli T, Bronzatto ES, Halberstadt SA, Garlet CG, Muraro DS, Guedes JVC, Bernardi O (2019) Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology** 112:1378–1387.

Stacke RF, Godoy DN, Pretto VE, Führ FM, Gubiani PS, Hettwer BL, Garlet CG, Somavilla JC, Muraro DS, Bernardi O (2020) Field-evolved resistance to chitin synthesis inhibitor insecticides by soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), in Brazil. **Chemosphere** 259.

Stone BF (1968) A formula for determining degree of dominance in cases of monofactorial inheritance of resistance to chemicals. **Bulletin of the World Health Organization** 38:325–326.

Stürmer GR, Filho AC, Stefanelo L da S, Guedes JVC (2012) Eficiência de métodos de amostragem de lagartas e de percevejos na cultura de soja. **Ciência Rural** 42: 2015–2111.

Sun R, Liu C, Zhang H, Wang Q (2015) Benzoylurea chitin synthesis inhibitors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 63:6847–6865.

Suzuki Y, Shiotsuki T, Jouraku A, Miura K, Minakuchi C (2017) Benzoylurea resistance in western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae): The presence of a point mutation in chitin synthase 1. **Journal of Pesticide Science** 42:93–96.

Tabashnik BE (1991) Determining the mode of inheritance of pesticide resistance with backcross experiments. **Journal of Economic Entomology** 84:703–712

Tabashnik BE, Van Rensburg JBJ, Carríre Y (2009) Field-evolved insect resistance to *Bt* crops: Definition, theory, and data. **Journal of Economic Entomology** 102:2011–2025.

Teló GM, Senseman SA, Marchesan E, Camargo ER, Jones T, McCauley G (2015) Residues of thiamethoxam and chlorantraniliprole in rice grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 63:2119–2126.

Thomas JD, Ottea JA, Boethel DJ, Ibrahim S (1996) Factors influencing pyrethroid resistance in a permethrin-selected strain of the soybean looper, *Pseudoplusia includens* (Walker). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 55:1–9.

Van Leeuwen T, Demaeght P, Osborne EJ, Dermauw W, Gohlke S, Nauen R, Grbic M, Tirry L, Merzendorfer H, Clark RM (2012) Population bulk segregant mapping uncovers resistance mutations and the mode of action of a chitin synthesis inhibitor in arthropods. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 109:4407–4412.

Vázquez WRC (1988) **Biologia comparada de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas naturais e artificiais e efeito de um vírus poliedrose nuclear na sua mortalidade e no consumo da área foliar da soja**. 164 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” ESALQ, Piracicaba.

Yano SA, Specht A, Moscardi F, Carvalho RA, Dourado PM, Martinelli S, Head GP, Sosa-Gómez DR (2016) High susceptibility and low resistance allele frequency of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) field populations to Cry1Ac in Brazil. **Pest Management Science** 72:1578–1584.

Yorinori JT, Lazzarotto JJ (2004) **Situação da ferrugem asiática da soja aqui no Brasil e na América do Sul**. Londrina: EMBRAPA: Soja, 27 p. (Embrapa Soja. Documentos 236).

Yu SJ, Nguyen SN (1994) Inheritance of carbaryl resistance and microsomal oxidases in the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** 87:301–304.

Zulin D, Ávila CJ, Schlick-Souza EC (2018) Population fluctuation and vertical distribution of the soybean looper (*Chrysodeixis includens*) in soybean culture. **American Journal of Plant Sciences** 9:1544–1556.