Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Bases para um programa de manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorfenapyr no Brasil

Rubens Hideo Kanno

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2018

Rubens Hideo Kanno
Engenheiro Agrônomo

Bases para um programa de manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorfenapyr no Brasil

Orientador:
Prof. Dr. **CELSO OMOTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Kanno, Rubens Hideo

Bases para um programa de manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorfenapyr no Brasil / Rubens Hideo Kanno - - Piracicaba, 2018.

65 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Lagarta-do-cartucho 2. Manejo da resistência de insetos 3. Resistência cruzada I. Título

A Deus pelo dom da vida, pela força e coragem durante toda minha jornada.

AGRADEÇO

Aos meus pais Toshihiro Kanno e Madalena Akemi Oshita Kanno, irmã Karina Satie Kanno, que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

DEDICO E AGRADEÇO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Celso Omoto pela orientação, ensinamentos, confiança, amizade e oportunidade para realização deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) pelos ensinamentos e conhecimentos transmitidos durante as aulas.

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

Ao IRAC-BR pelo auxílio na coleta de populações de *Spodoptera frugiperda*.

A todos os amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Entomologia (ESALQ/USP) pelo convívio e companheirismo.

Aos amigos e colegas que são ou foram do Laboratório de Resistência de Artrópodes (ESALQ/USP): Aline Sartori Guidolin, Anderson Bolzan, Antônio Rogério Bezerra do Nascimento, Cristiane Maria Tibola, Daniela Miyuki Okuma, Douglas Amado, Dyrson Abbade Neto, Eloisa Salmeron, Erick Maurício Cordeiro, Ewerton da Costa Lira, Fernando Semmelroth de Assunção e Amaral, José Paulo Bentivenha, Ingrid Schimidt Kaiser, Mariana Regina Durigan, Osmar René Arias Ruiz Diaz, Renato Jun Horikoshi, Rogério Machado Pereira e Sandy Spinelli Silva por todos os momentos de convívio, amizade, conhecimentos transmitidos e auxílios prestados na condução deste trabalho.

Às funcionárias do Laboratório de Resistência de Artrópodes, Gislaine Campos e Janice Soares, pelo convívio e auxílios prestados.

A todos os estagiários do Laboratório de Resistência de Artrópodes pelo convívio e auxílios prestados.

Aos colegas da equipe F2 Screen: Aline Sartori Guidolin, Anderson Bolzan, Antônio Rogério Bezerra do Nascimento, Ewerton da Costa Lira, Fernando Semmelroth de Assunção e Amaral e Ingrid Schimidt Kaiser, pelo belo trabalho em equipe pois sem a ajuda deles o trabalho seria infinitamente maior.

Aos amigos com que morei durante o curso: Antônio Rogério Bezerra do Nascimento, Fernando Semmelroth de Assunção e Amaral, José Bruno Malaquias e José Campos Júnior, pelo convívio agradável, companheirismo, orientações e incentivos.

À minha amiga Evely Silva de Mendonça pelo apoio, companheirismo, incentivo e paciência durante todo esse tempo.

À Casa do Estudante Universitário “Prof. José Benedicto de Camargo” e a todos os seus moradores e ex-moradores pelo apoio, companheirismo e amizade que com certeza perdurará por muito tempo.

A todos os funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, pela dedicação e aos serviços prestados.

Às bibliotecárias Eliana Maria Garcia e Silvia Maria Zinsly da Biblioteca Central da ESALQ/USP pela formatação deste trabalho.

A todos aqueles, que direta ou indiretamente, contribuíram para o êxito deste trabalho, meu sincero agradecimento.

Muito Obrigado.

SUMÁRIO

RESUMO 8
ABSTRACT 9
LISTA DE FIGURAS 10
LISTA DE TABELAS 11
1. INTRODUÇÃO 13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 15
2.1. Aspectos bioecológicos de *S. frugiperda* 15
2.2. Resistência de pragas a chlorfenapyr 16
2.3. Bases para a implementação de estratégias de manejo da resistência 19
3. MATERIAL E MÉTODOS 27
3.1. Coleta e criação das populações de *S. frugiperda* 27
3.2. Bioensaios toxicológicos 28
3.3. Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr 28
3.4. Monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr 29
3.5. Estimativa da frequência do alelo da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr 32
3.5.1. Coleta e criação das populações de *S. frugiperda* para o F_2 screen 32
3.5.2. Teste da progênie F_2 34
3.6. Avaliação de resistência cruzada de chlorfenapyr em linhagens de *S. frugiperda* resistentes a inseticidas e proteínas Bt 34
3.7. Análises estatísticas 35
4. RESULTADOS 37
4.1. Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr 37
4.2. Monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr 38
4.3. Frequência dos alelos da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr 42
4.4. Avaliação de resistência cruzada de chlorfenapyr em linhagens de *S. frugiperda* resistentes a inseticidas e proteínas Bt 44
5. DISCUSSÃO 47
6. CONCLUSÕES 53

REFERÊNCIAS.....55

RESUMO

Bases para um programa de manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorfenapyr no Brasil

As principais táticas de controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) têm sido o uso de inseticidas e cultvos Bt no Brasil. Devido à intensa pressão de seleção, a evolução da resistência de *S. frugiperda* aos principais inseticidas de diferentes grupos químicos e a proteínas Bt já foram documentados no Brasil. Sendo assim, estudos para preservar a vida útil de inseticidas com novos mecanismos de ação como a de chlorfenapyr (desacoplador da fosforilação oxidativa mediante a disrupção do gradiente de prótons) são fundamentais em programas de Manejo da Resistência de Insetos (MRI). Para a implementação de programas proativos de manejo da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr, foram conduzidos estudos para caracterizar e monitorar a suscetibilidade de populações de campo de *S. frugiperda* a chlorfenapyr, estimar a frequência do alelo da resistência a chlorfenapyr pelo método de F_2 screen e avaliar a resistência cruzada entre chlorfenapyr e outros inseticidas e proteínas Bt. O método de bioensaio utilizado foi o de tratamento superficial da dieta. Os dados das linhas-básicas de suscetibilidade das populações de campo a chlorfenapyr demonstraram uma variação da CL_{50} de 14,26 a 25,07 µg/mL. A concentração diagnóstica de 56 µg/mL foi estimada mediante análise conjunta dos dados de linha-básica de suscetibilidade baseada na CL_{99}. A suscetibilidade foi monitorada a partir de populações de campo de *S. frugiperda* coletadas nas principais regiões produtoras de milho no Brasil entre 2016 e 2018. A taxa de sobrevivência na concentração diagnóstica variou de 0 a 8,4%. Pelo método de F_2 screen a frequência alélica estimada nas safras para a 2ª safra 2016 e a 1ª safra 2017 foi de 0,0008 e a frequência para a entressafra 2016-2017 foi de 0,0012. Não foi verificada resistência cruzada entre chlorfenapyr e os inseticidas: lambda-cyhalothrin, chlorpyrifos, lufenuron, teflubenzuron, spinosad e chlorantraniliprole e as proteínas Bt: Cry1F, Cry1A.105/Cry2Ab2, Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F e Vip3aA20 expressas em milho geneticamente modificado. Os resultados demonstraram uma alta suscetibilidade das populações de campo a chlorfenapyr, uma baixa frequência do alelo da resistência e ausência de resistência cruzada aos principais inseticidas e proteínas Bt. Portanto, o inseticida chlorfenapyr pode ser utilizado como uma ferramenta em programas de MRI em *S. frugiperda* no Brasil.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho; Manejo da resistência de insetos; Resistência cruzada

ABSTRACT

Bases for resistance management program of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorfenapyr in Brazil

Chemical control and Bt crops are the major control tactics to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. Due to intense selection pressure, the evolution of *S. frugiperda* resistance to major insecticides from different chemical groups and to Bt proteins has already been documented in Brazil. Therefore, studies to preserve the lifetime of insecticides with new mode of action such as chlorfenapyr (uncouplers of oxidative phosphorylation via disruption of the proton gradient) are important in Insect Resistance Management (IRM) programs. For implementing a proactive resistance management program of *S. frugiperda* to chlorfenapyr, studies were conducted to characterize and monitor the susceptibility of field populations of *S. frugiperda* to chlorfenapyr, to estimate the frequency of resistance alleles to chlorfenapyr using F_2 screen method and to evaluate the cross-resistance patterns of chlorfenapyr and other insecticides and Bt proteins. Diet overlay bioassays was used to characterize the baseline susceptibility data of field population of *S. frugiperda* to chlorfenapyr. The LC_{50} ranged from 14.26 a 25.07 µg/mL. A diagnostic concentration of 56 µg/mL was estimated from the joint analysis of the baseline susceptibility data, based on LC_{99}. Susceptibility was monitored from field populations of *S. frugiperda* collected from major corn growing regions in Brazil from 2016 to 2018. The survival rate at the diagnostic concentration ranged from 0 to 8.4%. Using the F_2 screen method, the estimated allele frequency for the 2nd crop season 2016 and 1st crop season 2017 was 0.0008 and the frequency for the offseason 2016-2017 was 0.0012. No cross-resistance was verified between chlorfenapyr and the insecticides: lambda-cyhalothrin, chlorpyrifos, lufenuron, teflubenzuron, spinosad and chlorantraniliprole and to Bt proteins: Cry1F, Cry1A.105/Cry2Ab2, Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F and Vip3aA20 expressed in genetically modified maize. The results demonstrated a high susceptibility of field populations of *S. frugiperda* to chlorfenapyr, a low resistance allele frequency and lack of cross-resistance to major insecticides and Bt proteins. Therefore, chlorfenapyr can be used as an importante tool in IRM programs of *S. frugiperda* in Brazil.

Keywords: Fall armyworm; Insect resistance management; Cross-resistance

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição das populações de *Spodoptera frugiperda* coletadas nas safras dos anos de 2016 a 2018: (A) ano agrícola de 2016, (B) ano agrícola de 2017 e (C) ano agrícola de 2018 31

Figura 2. Distribuição das populações de *Spodoptera frugiperda* utilizadas na estimativa da frequência alélica. 33

Figura 3. Curvas de concentração-resposta de chlorfenapyr em populações de *Spodoptera frugiperda* no Brasil. 38

Figura 4. Monitoramento da suscetibilidade de populações de *Spodoptera frugiperda* coletadas em diferentes safras: A - 2ª Safra 2016, B - 1ª Safra 2017, C - 2ª Safra 2017, D - Entressafra 2017-2018, E - 1ª Safra 2018, F - 2ª Safra 2018 41

Figura 5. Curvas concetração-resposta de chlorfenapyr em linhagens resistentes de *Spodoptera frugiperda* 45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Populações de *Spodoptera frugiperda* utilizadas na caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade 29

Tabela 2. Populações de *Spodoptera frugiperda* utilizadas no monitoramento da suscetibilidade.....29

Tabela 3. Populações de *Spodoptera frugiperda* utilizadas na estimativa da frequência alélica 33

Tabela 4. Linhagens de *Spodoptera frugiperda* resistentes utilizadas na avaliação de resistência cruzada 35

Tabela 5. Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* a chlorfenapyr 37

Tabela 6. Sobrevivência das populações de *Spodoptera frugiperda* a chlorfenapyr.39

Tabela 7. Frequência do alelo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a chlorfenapyr em diferentes localidades e safras 43

Tabela 8. Frequência do alelo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a chlorfenapyr por estado.....44

Tabela 9. Toxicidade de chlorfenapyr em linhagens resistentes de *Spodoptera frugiperda* 45

1. INTRODUÇÃO

O sistema de produção de soja, milho e algodão tem sido caracterizado pela sobreposição e sucessão de cultivos no Brasil nas últimas décadas, principalmente na região do cerrado, o que tem acarretado o aumento de problemas de pragas. Uma das consequências da intensificação da agricultura tem sido o aumento do número de pulverizações de inseticidas para o controle dessas pragas. O grande desafio em programas de controle de pragas envolvendo o uso de inseticidas é a seleção de linhagens resistentes (METCALF, 1980), pois o aumento da frequência de indivíduos resistentes pode levar ao fracasso no controle de pragas tornando a resistência um problema econômico.

Uma das pragas mais relevantes em sistemas de produção de cultivos no Brasil tem sido *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), considerada a principal praga da cultura do milho (CRUZ, 1995), mas devido ao seu hábito polífago, esta praga tem causado sérios danos em outros cultivos, tais como de algodão, soja, sorgo, arroz e trigo (MOSCARDI; KASTELIC, 1984; CORTEZ; WAQUIL, 1997; BOTTON et al., 1998; DEGRANDE, 1998). O controle de *S. frugiperda* tem sido feito principalmente com o uso de inseticidas, o que contribuiu para a evolução da resistência a inseticidas. Casos de resistência de S. frugiperda tem sido detectados para inseticidas dos principais grupos químicos, tais como piretroides, organofosforados, benzoilureias e espinosinas (DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001; CARVALHO et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2016; OKUMA et al., 2018). A utilização de inseticidas com diferentes mecanismos de ação é uma das estratégias de manejo da resistência de insetos a inseticidas (GEORGHIOU, 1983). Nesse contexto, o inseticida chlorfenapyr, que tem um modo de ação único, apresenta-se como alternativa para o manejo da resistência a inseticidas em *S. frugiperda*.

O inseticida chlorfenapyr pertence ao grupo químico dos análogos de pirazol que atuam na respiração celular. Este inseticida atua como um desacoplador da fosforilação oxidativa via disrupção do gradiente de prótons da membrana mitocondrial impedindo a formação de ATP (TREACY et al., 1994). Casos de resistência a chlorfenapyr já têm sido reportados em pragas agrícolas, tais como *Tetranychus urticae* (UESUGI; GOKA; OSAKABE, 2002; HERRON; ROPHAIL; WILSON, 2004; VAN LEEUWEN; STILLATUS; TIRRY, 2004; NICASTRO et al.,

2013; FERREIRA et al., 2015), *Plutella xylostella* (JIANG et al., 2015; ZHANG et al., 2016; LIMA NETO; SIQUEIRA, 2017; WANG et al., 2018), *Oxycarenushy alinipennis* (ULLAH; SHAH; SHAD, 2016), *Bemisia tabaci* (AHMAD; AKHTAR, 2018), *Diaphorina citri* (NAEEM et al., 2016) e *Earias vittella* (AHMAD; IQBAL ARIF, 2009).

Até o presente momento ainda não foi documentado fracassos no controle de *S. frugiperda* com o uso de chlorfenapyr. Contudo, devido ao potencial risco de evolução de resistência, estudos para subsidiar a implantação de estratégias proativas de manejo da resistência devem ser realizados. Sendo assim, os objetivos da presente dissertação foram caracterizar e monitorar a suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr, estimar a frequência dos alelos da resistência a chlorfenapyr e avaliar a resistência cruzada de chlorfenapyr em linhagens resistentes de *S. frugiperda* a inseticidas e proteínas Bt, com o intuito de prolongar a vida útil dessa molécula é fornecer bases para a implementação de estratégias em programas de manejo da resistência.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos bioecológicos de *S. frugiperda*

A lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*, é considerada uma praga de grande relevância em diversos sistemas de produção agrícola no mundo. Trata-se de uma espécie polífaga, sendo relatados mais de 80 espécies de plantas hospedeiras (CAPINERA, 2001; POGUE, 2002). No Brasil, é considerada a principal praga da cultura do milho (CRUZ, 1995), porém há relatos de danos da praga em outras culturas, tais como algodão, soja, sorgo, arroz e trigo (MOSCARDI; KASTELIC, 1984; CORTEZ; WAQUIL, 1997; BOTTON et al., 1998; DEGRANDE, 1998). A distribuição desta praga era limitada a regiões de clima quente do continente americano, uma vez que o inseto não possui mecanismos de diapausa em nenhum dos seus estágios de desenvolvimento e devido a sua baixa capacidade de sobreviver em condições de inverno rigorosas, precisa sempre estar associado a uma planta hospedeira (CAPINERA, 2001). Recentemente foi reportado casos de infestações de *S. frugiperda* em vários países do continente africano (GOERGEN et al., 2016; COCK et al., 2017; BRÉVAULT et al., 2018; OTIM et al., 2018; UZAYISENGA et al., 2018).

S. frugiperda apresenta um alto potencial reprodutivo. Ao longo de sua vida a fêmea pode ovipositar até 13 posturas, sendo que em um único dia uma fêmea consegue depositar até oito posturas (CRUZ, 1995), chegando a ovipositar mais de 1000 ovos, demonstrando a alta capacidade reprodutiva da espécie (VALICENTE; DA COSTA, 1995). Essa alta capacidade reprodutiva de *S. frugiperda* é mantida quando a praga é alimentada com diferentes plantas hospedeiras como algodão, milho e soja (BARROS; TORRES; BUENO, 2010). O ciclo de vida (ovo-adulto) da espécie é de aproximadamente 30 dias, com cerca de doze gerações por ano. A longevidade do adulto é de cerca de 12 dias e a sua oviposição ocorre a partir do terceiro dia após a emergência da fêmea (CRUZ, 1995).

O adulto de *S. frugiperda* possui alta capacidade de dispersão que permite que a especíe se desenvolva em diferentes habitats na busca por um local para a alimentação, acasalamento e oviposição (SPARKS, 1979; JOHNSON, 1987). No Brasil, um estudo realizado com a técnica de marcação-liberação-recaptura na cultura do milho demonstrou que as distâncias máximas de recapturas foram de 806m e 608m para machos e fêmeas respectivamente (VILARINHO et al., 2011).

Devido à alta disponibilidade de alimento durante todo o ano e condições climáticas favoráveis, a distruibuição de *S. frugiperda* ocorre, em geral, em todas as regiões do Brasil (CRUZ, 1995).

A existência de raças associados à planta hospedeira é um outro fator importante no manejo de *S. frugiperda.* O surgimento de raças associados a planta hospedeiras se deve ao hábito polífago *S. frugiperda* o que permitiu mudanças fisiológicas e comportamentais ao explorar um ou outro hospedeiro (PASHLEY, 1986; BUSATO et al., 2005). Raças de *S. frugiperda* foram identificadas em plantas de milho (raça C) e plantas de arroz (raça R) (PASHLEY; JOHNSON; SPARKS, 1985). Estas duas raças já foram identificadas e caracterizadas nos EUA (PASHLEY; MARTIN, 1987) e no Brasil (BUSATO et al., 2004) demonstrando alguma incompatibilidade reprodutiva entre as duas raças. Há relatos na literatura de que a suscetibilidade das duas raças a inseticidas e proteínas Bt é diferente (ADAMCZYK JR et al., 1997; BUSATO et al., 2006; RÍOS-DÍEZ; SALDAMANDO-BENJUMEA, 2011; RÍOS-DÍEZ; SIEGFRIED; SALDAMANDO-BENJUMEA, 2012; INGBER; MASON; FLEXNER, 2018). Porém foi observado que em plantas de milho e algodão não há nenhum agrupamento capaz de distinguir e separar populações de *S. frugiperda* sugerindo a presença de fluxo gênico entre as populações provenientes destas duas plantas hospedeiras (MARTINELLI et al., 2006). A ocorrência de fluxo gênico entre as populações de *S. frugiperda* coletadas nas culturas de milho e algodão e a baixa variação genética entre elas demonstram que geneticamente são as mesmas populações de *S. frugiperda* que atacam as culturas de milho e algodão no Brasil (MARTINELLI et al., 2007).

2.2. Resistência de pragas a chlorfenapyr

A resistência do ponto de vista genético pode ser definida como uma diferença na composição genética de uma população no qual a pressão de seleção favorece os genótipos resistentes (CROW, 1957). Outra definição seria a capacidade de uma população tolerar doses de um tóxico que seriam letais para a maioria dos indivíduos normais (suscetíveis) da espécie (CROFT; VAN DE BAAN, 1988). A resistência pode também ser definida como qualquer mudança hereditária que reduz a suscetibilidade de pragas em relação a seus coespecíficos (TABASHNIK et al., 2014).

Chlorfenapyr é um inseticida de amplo espectro no controle de insetos e ácaros pertencente ao grupo químico dos análogos de pirazol. É um pró-inseticida, ou seja, sua forma inicial não tem ação tóxica, sendo necessário a metabolização em uma forma ativa após a entrada nas células do hospedeiro pelas enzimas monooxigenases do citocromo P450 (HUNT; F. TREACY, 1998). Chlorfenapyr interfere na respiração celular atuando como um desacoplador da fosforilação oxidativa via disrupção do gradiente de prótons da membrana mitocondrial. A absorção do inseticida pode ser tanto por contato ou ingestão, porém, em lepidópteros o inseticida tende a ser mais tóxico mediante via oral (TREACY et al., 1994). A forma ativa do inseticida se deposita entre as membranas interna e externa da mitocôndria, promovendo a extrusão de H^+ (BLACK et al., 1994), impedindo a formação de ATP, e levando a morte das células afetadas e consequentemente, a morte do organismo (TREACY et al., 1994).

Diversos casos de resistência a chlorfenapyr já foram relatados para ácaros e insetos de importância agrícola e médica em alguns países. No Paquistão foram registrados casos de resistência para quatro pragas agrícolas, incluindo populações de campo de *Earias vittella* que apresentaram razões de resistência que variam de 20 a 41 vezes (AHMAD; IQBAL ARIF, 2009), populações de *Diaphorina citri* com razões de resistência que variaram de 13,1 a 46,4 vezes (NAEEM et al., 2016), uma população de campo de *Oxycarenus hyalinipennis* que depois de seis gerações de seleção com chlorfenapyr chegou a uma razão de resistência de 149 vezes (ULLAH; SHAH; SHAD, 2016) e uma população de campo de *Bemisia tabaci* que apresentou uma razão de resistência de 618 vezes (AHMAD; AKHTAR, 2018). A traça das crucíferas, *Plutella xylostella*, há casos de resistência reportados na China (JIANG et al., 2015; ZHANG et al., 2016; WANG et al., 2018) e no Brasil (LIMA NETO; SIQUEIRA, 2017). Os insetos de importância médica do gênero *Culex* também apresentaram casos de resistência como *Culex pipiens pallens* (SHIN et al., 2012) e *Culex tritaeniorhynchus* (YOO et al., 2013), ambos os casos relatados na Coréia do Sul. Como chlorfenapyr tem ação acaricida, há vários relatos de resistência para ácaros pragas como *Tetranychus urticae* (UESUGI; GOKA; OSAKABE, 2002; HERRON; ROPHAIL; WILSON, 2004; VAN LEEUWEN; STILLATUS; TIRRY, 2004; NICASTRO et al., 2013; FERREIRA et al., 2015).

Apesar de vários relatos de resistência de pragas a chlorfenapyr, há poucos trabalhos que estudam as bases genéticas da resistência a chlorfenapyr. No estudo

feito por ULLAH et al. (2016) o padrão de herança da resistência de *Oxycarenus hyalinipennis* a chlorfenapyr é de caráter autossômico, incompletamente dominante e poligênico. Em *Tetranychus urticae* resistente a chlorfenapyr encontraram-se dois resultados distintos, UESUGI et al. (2002) encontrou uma resistência completamente dominante e monogênica com razão de resistência de 483 vezes, enquanto que VAN LEEUWEN et al. (2004) encontrou uma resistência incompletamente recessiva e monogênica com razão de resistência de 580 vezes, uma possível explicação seria de que a linhagem resistente no trabalho de VAN LEEUWEN et al. (2004) foi selecionada a partir da linhagem suscetível ao passo que a linhagem resistente utilizada por UESUGI et al. (2002) foi obtida através de uma população de campo.

O uso de sinergistas é um dos métodos mais fáceis e rápidos de ser obter informações preliminares sobre um possível mecanismo de resistência (SCOTT, 1990). Estudos com sinergistas foram conduzidos para verificar os possíveis mecanismos de resistência a chlorfenapyr. VAN LEEUWEN et al (2004) demonstraram que o sinergista DEF aumentou a toxicidade de chlorfenapyr em duas vezes em uma linhagem resistente de *Tetranichus urticae*, enquanto que os sinergistas PBO e DEM não apresentaram alterações na toxicidade da linhagem resistente. Um resultado similiar foi encontrado em uma linhagem resistente de *Oxycarenus hyalinipennis*, onde o sinergista DEF aumentou a toxicidade de chlorfenapyr em 3,27 vezes e o sinergista PBO não alterou a suscetibilidade da linhagem resistente (ULLAH; SHAH; SHAD, 2016). Esses dois estudos demonstram a possibilidade do mecanismo de resistência destas pragas a chlorfenapyr ser devido a detoxificação atrevés das enzimas esterases. Apesar de chlorfenapyr não possuir nenhuma ligação éster, as enzimas esterases podem estar relacionadas em algum passo durante a metabolização do inseticida (VAN LEEUWEN; STILLATUS; TIRRY, 2004). Apesar da detoxificação metabólica via enzimas monooxigenases ser um dos mecanismos mais importantes que promovem a resistência a inseticidas (OPPENOORTH, 1985), o fato de que o sinergista PBO não causou nenhuma alteração na resistência de *Tetranychus urticae* e *Oxycarenus hyalinipennis* a chlorfenapyr pode estar relacionado às enzimas monooxigenases metabolizar chlorfenapyr em sua forma ativa (BLACK et al., 1994). Entretando, o aumento da toxicidade de chlorfenapyr foi observado em linhagens resistentes *Heliothis virescens* e *Haematobia irritans* a piretróides que tinham como possível mecanismo

de resistência a detoxificação metabólica pelas enzimas do citocromo P450 (PIMPRALE et al., 1997; SHEPPARD; JOYCE, 1998).

2.3. Bases para a implementação de estratégias de manejo da resistência

2.3.1. Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade

A caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade é um dos primeiros passos para a implementação de estratégias de manejo da resistência. As linhas-básicas de suscetibilidade fornecem informações sobre a suscetibilidade, além de ser possível a verificação da variação natural das populações de uma praga provenientes de diferentes regiões geográficas (ROBERTSON et al., 2017). As variações naturais das populações devem ser consideradas em estudos de detecção da resistência, uma vez que erroneamente podem ser atribuídas como populações resistentes apenas observando uma dada variação na suscetibilidade enquanto que essa variação se deve ao um fenômeno natural da população (ROBERTSON et al., 1995).

O monitoramento da resistência tem sido feito a partir da comparação dos valores de CL_{50}, CL_{90} ou coeficientes angulares de curvas concentração-resposta de populações de campo e de laboratório (FFRENCH-CONSTANT; ROUSH, 1990). A detecção com o uso de curvas concentração-resposta é eficiente apenas quando a frequência de resistência é alta, sendo um método insensível de detectar a resistência em baixas frequências (ROUSH; MILLER, 1986). Além de que uma população de campo é heterogênea, ou seja, há tanto indivíduos suscetíveis como resistentes, o que viola a condição básica da análise de probit (FINNEY; TATTERSFIELD, 1952). Desta forma é recomendado o uso de concentrações discriminatórias ou diagnósticas para a detecção da resistência, pois todos os indivíduos serão testados em uma única dose e nenhum indivíduo será desperdiçado em baixas concentrações onde a porcentagem de mortalidade não é relevante (ROUSH; MILLER, 1986). É possível estimar a concentração diagnóstica através da análise conjunta dos dados das linhas-básicas de suscetibilidade como foi proposto por SIMS et al. (1996).

2.3.2. Monitoramento da suscetibilidade

Dentre as diversas estratégias de manejo de resistência o monitoramento da suscetibilidade é importante na tomada de decisões em programas de manejo da resistência. O objetivo do monitoramento é obter informações sobre a suscetibilidade das pragas que possam ser utilizadss para evitar ou retardar a evolução da resistência (ANDOW; IVES, 2002). Com os dados de monitoramento é possível avaliar a eficiência de uma tática de manejo, a suscetibilidade de uma praga em relação a um determinado produto e implementar estratégias de manejo a fim de prolongar a vida útil dos inseticidas (ROUSH; MILLER, 1986). Para tanto há várias metodologias para realizar o monitoramento da resistência, sendo este por métodos fenotípicos ou genotípicos (HUANG, 2006; SIEGFRIED et al., 2007; ANDOW, 2008).

Os métodos fenotípicos podem detectar o genótipo, enquanto que os métodos genotípicos são capazes de detectar e quantificar o alelo da resistência (ANDOW, 2008). Para o monitoramento com o método fenotípico temos os bioensaios de concentração-resposta e os bioensaios com concentração diagnóstica ou discriminatória (ROUSH; MILLER, 1986). A utilização de curvas concentração-resposta para a detecção da resistência só é eficiente quando a frequência é alta, assim bioensaios com concentrações diagnósticas ou discriminatórias são os mais recomendados (ROUSH; MILLER, 1986). O monitoramento genotípico baseiam-se nos métodos de F_1 e F_2 screen que são capazes de estimar a frequência do alelo da resistência (GOULD et al., 1997; ANDOW; ALSTAD, 1998). O método de F_1 screen consiste no uso de uma linhagem resistente já estabelecida, enquanto que o método de F_2 screen apesar de ser mais trabalhoso, dispensa a utilização de uma linhagem resistente (ANDOW, 2008).

2.3.3. Frequência inicial dos alelos da resistência

Programas de manejo da resistência são mais efetivos quando implementados de modo preventivo, ou seja, no início da evolução da resistência (ROUSH; MCKENZIE, 1987). Desta forma conhecer a frequência dos alelos resistentes é fundamental para prever a evolução da resistência (COMINS, 1977; ANDOW; IVES, 2002). Estima-se que no início da evolução da resistência a

frequência inicial dos alelos que conferem resistência é da ordem de 10^{-3} a 10^{-12} (ROUSH; MCKENZIE, 1987). Quanto maior a frequência dos alelos da resistência, mais rápida será a evolução da resistência, pois ao aplicar um inseticida, que é um fator de seleção, os indivíduos “pré-adaptados” irão sobreviver em relação aos demais e se não houver um manejo adequado, a frequência dos indivíduos resistentes irá aumentar e a evolução da resistência será inevitável.

Um método genotípico capaz de estimar a frequência inicial de alelos resistentes em populações de campo é o F_2 screen. O F_2 screen utiliza um número reduzido de insetos amostrados, sendo considerado o único método sensível e capaz, de em pouco tempo, estimar variações na frequência de um alelo recessivo ou parcialmente recessivo mesma quando sua frequência inicial é baixa (ANDOW; ALSTAD, 1998). O método se baseia na manutenção da variabilidade genética em isolinhas concentrando alelos que conferem resistência em genótipos homozigotos através de cruzamentos, e por fim, detectando e monitorando estes alelos com a utilização em bioensaios. As etapas do F_2 screen são: a) a isolinha é produzida com um indivíduo macho e fêmea provenientes do campo. b) na geração F_1 os descendentes serão mantidos juntos e as progênies F_2 serão utilizados em bioensaios para a verificação da frequência dos alelos resistentes (ANDOW; ALSTAD, 1998).

Outro método bastante utilizado na estimativa de frequência alélica é o método de F_1 screen. Para a realização do F_1 screen, é necessária uma linhagem resistente, onde um indivíduo coletado do campo será acasalado com um indivíduo desta linhagem resistente e a progênie deste casal será testada em bioensaios com doses discriminatórias (GOULD, 1997). Este método é bem menos custoso que o método de F_2 screen, pois não é necessário criar a geração F_2 para os bioensaios.

Os método de F_2 screen tem sido utilizado para estimar a frequência dos alelos de resistência de proteínas Bt em populações de *S. frugiperda* no Brasil. FARIAS et al. (2016) encontrou uma frequência que variou de 0,042 a 0,019, sendo a maior frequência encontrada no estado da Bahia. Para a proteína Vip3Aa20 a frequência total encontrada foi de 0,0009 estimada nas safras 2013/2014 (BERNARDI et al., 2015b). Informações sobre a frequência dos alelos da resistência servem de subsídios para acompanhar a evolução da resistência e implementar estratégias que visem manter a suscetibilidade das pragas no campo.

2.3.4. Resistência cruzada

Uma das estratégias de manejo da resistência é o manejo por ataque múltiplo, que consiste na utilização de dois ou mais produtos visando explorar os diferentes modos de ação desses produtos. Porém, uma das condições para o sucesso da rotação de produtos é que não haja resistência cruzada entre os produtos utilizados (GEORGHIOU, 1983). Resistência cruzada pode ser definida como, a resistência a composto confere resistência para outros compostos do mesmo grupo químico (CHAPMAN; PENMAN, 1979). O termo resistência cruzada é frequentemente utilizado para descrever quando uma linhagem resistente a um inseticida apresenta resistência para um segundo inseticida (ISHAAYA, 2001).

Há relatos de inúmeras pragas que demonstraram resistência cruzada a inseticidas de diversos grupos químicos. A seleção realizada com DDT para algumas pragas, conferiu resistência outros grupos químicos como os piretroides (SCOTT; MATSUMURA, 1981; TABASHNIK; CUSHING; JOHNSON, 1987; BRENGUES et al., 2003) e os neonicotinóides (DABORN et al., 2001). A resistência cruzada entre proteínas Bt também já foi reportada, como no estudo de BERNARDI et al. (2015a) no qual foi verificada resistência cruzada entre a proteínas do grupo Cry1 em *Spodoptera frugiperda*, o mesmo padrão foi observado em *Helicoverpa zea* para as proteínas Cry1Ac, Cry1A.105 e Cry1Ab (WELCH et al., 2015).

2.3.5. Padrão de herança da resistência

Dentre os fatores genéticos que afetam a evolução da resistência está o padrão de herança da resistência (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977). O padrão de herança da resistência refere-se ao grau de dominância e ao número de genes associados à resistência. O grau de dominância fornece informações do fenótipo dos indivíduos heterozigotos em relacão aos parentais homozigotos, podendo ser dominante se os heterozigotos se assemelharem fenotipicamente ao parental resistente ou recessivo se eles se assemelharem fenotipicamente ao parental suscetível (ROUSH; DALY, 1990). Quanto ao número de genes que conferem resistência, ela pode ser monogênica quando conferida por um único gene, ou poligênica quando vários genes são responsáveis pelo fenótipo resistente. No

campo a resistência monogênica se espalha mais rapidamente do que a resistência poligênica, pois quando um indivíduo com resistência poligênica migra para uma população suscetível os genes da resistência são diluídos através da hibridação se não houver pressão de seleção, caso a resistência seja monogênica a probabilidade do gene da resistência ser mantido na população é maior, mesmo depois de muitas gerações sem pressão de seleção (ROUSH;MCKENZIE, 1987). O conhecimento do padrão de herança da resistência é essencial para a implementação de estratégias de manejo da resistência (TABASHNIK, 1991).

A dominância tem um importante papel na evolução da resistência (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977). A dominância funcional da resistência é dependente da dose, assim é possível verificar em quais doses em que a resistência será funcionalmente recessiva, ou seja, os heterozigotos apresentariam um fenótipo similar aos suscetíveis, ou funcionalmente dominante no qual os heterozigotos apresentariam o fenótipo resistente (TAYLOR; GEORGHIOU, 1979). Manejar os indivíduos heterozigotos é um dos pontos-chaves em programas de manejo da resistência, uma vez que no início da evolução da resistência os indivíduos heterozigotos são os principais carreadores do alelo da resistência (ROUSH; DALY, 1990). O uso de altas doses, que garantem a mortalidade dos indivíduos heterozigotos e que a resistência seja funcionalmente recessiva teoricamente retardariam a evolução da resistência, porém em termos práticos a estratégia de alta dose é bem limitada. A grande dificuldade é estimar a dose que garante a mortalidade dos heterozigotos pois faz-se necessário a obtenção de uma população resistente e o conhecimento das suas bases genéticas (TABASHNIK; CROFT, 1982).

Estudos sobre a herança da resistência de *S. frugiperda* a inseticidas e proteínas Bt demonstram os diferentes padrões para esta praga. Alguns casos relatam caráter autossômico, incompletamente recessivo e monogênico, como para a resistência à lamba-cialotrina (DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001), Cry1F (STORER et al., 2010), Vip3Aa20 (BERNARDI et al., 2016; YANG et al., 2017), Cry2Ab2 (ACHARYA et al., 2017) e autossômico, incompletamente recessivo e poligênico para lufenuron (NASCIMENTO et al., 2016) e spinosad (OKUMA et al., 2018).

2.3.6. Custo adaptativo associado à resistência

Um fator genético importante para o manejo da resistência é a presença ou não de um custo adaptativo associado à resistência. O custo adaptativo está associado ao fato do indivíduo que possui o alelo da resistência apresentar uma desvantagem no seu desenvolvimento em relação ao indivíduo suscetível na ausência de pressão de seleção, caso contrário, a frequência dos indivíduos resistentes seria muito maior (CROW, 1957). Os indivíduos resistentes podem apresentar desvantagens em relação à fecundidade, tempo de desenvolvimento, competitividade para o acasalamento (ROUSH; MCKENZIE, 1987). Mesmo havendo diferenças entre as linhagens suscetível e resistente, é importante também avaliar se os indivíduos heterozigotos apresentam um custo adaptativo, pois eles são os principais carreadores do alelo da resistência (ROUSH; DALY, 1990).

Há diversos estudos que demonstram a presença de custo adaptativo em linhagens resistentes de *S. frugiperda*. BERNARDI et al. (2017) avaliando os parâmetros biológicos de *S. frugiperda* resistente ao milho Bt que expressa as proteínas Cry1A.105, Cry1F e Cry2Ab2, observaram que a linhagem resistente apresentou uma duração de 4 dias a mais no período de ovo-adulto, redução de 9% na taxa de sobrevivência até a fase adulta e uma taxa reprodutiva 35% menor em relação as linhagens suscetíveis e heterozigotas. A presença de custo adaptativo também foi reportado para *S. frugiperda* resistente a proteína Vip3Aa20, no qual a linhagem resistente demonstrou uma redução de 11% na taxa de sobrevivência e 50% na taxa reprodutiva (BERNARDI et al., 2016). A resistência de *S. frugiperda* a spinosad também apresenta custo adaptativo, a linhagem resistente demonstrou uma redução de 41% na sobrevivência até a fase adulta e redução de 49% na taxa reprodutiva em relação a linhagem suscetível (OKUMA et al., 2018). Porém existem casos onde não há custo adaptativo associado à resistentência nos parâmetros avaliados, como nos casos de *S. frugiperda* resistentes às proteínas Cry1F e Cry2Ab2 (VÉLEZ et al., 2013; JAKKA; KNIGHT; JURAT-FUENTES, 2014; HORIKOSHI et al., 2016; SANTOS-AMAYA et al., 2016; ACHARYA et al., 2017), sendo necessário assim avaliar outros parâmetros além dos biológicos, como fatores comportamentais, para os quais já foi relatado custo adaptativo relacionado com a resistência à proteína Cry1F (MALAQUIAS et al., 2017).

Estratégias de manejo da resistência podem ser implementadas explorando o custo adaptativo da resistência. O manejo por moderação que consiste na redução do uso de uma determinada tática de controle visando preservar os indivíduos suscetíveis (GEORGHIOU, 1983). Reduzindo a pressão de seleção e com a presença de custo adaptativo associado à resistência, a suscetibilidade poderá ser restabelecida visto que os indivíduos resistentes apresentarão alguma desvantagem em relação aos suscetíveis.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta e criação das populações de *S. frugiperda*

As populações de *S. frugiperda* foram coletadas na cultura do milho nas primeiras e segundas safras dos anos de 2016 a 2018 nas principais regiões produtoras do Brasil. Foram coletadas aproximadamente 1000 lagartas por população e acondicionadas em copos plásticos de 100 mL contendo dieta artificial. Os copos plásticos contendo as lagartas foram acondicionados em caixas de isopor e estas enviadas para o Laboratório de Resistência de Artrópodes da ESALQ/USP.

As lagartas foram mantidas nos copos plásticos até a fase de pupa. As pupas da população de campo foram retiradas da dieta e tratadas com uma solução de sulfato de cobre a 6,25%. Em seguida as pupas foram colocadas em gaiolas de tubo de PVC (10 cm de diâmetro x 25cm), revestidas internamente com papel jornal para o acasalamento e oviposição dos adultos. Para a alimentação dos adultos foram utilizados um recipiente com algodão embebido com uma solução de mel a 10%. As posturas e a solução de mel foram trocadas a cada 2 dias. As gaiolas foram mantidas em condições controladas em uma sala de criação a uma temperatura de 25±2ºC, umidade relativa de 70% e fotofase de 14h. As posturas coletadas no papel jornal foram recortadas e colocadas em copos plásticos de 100 mL, juntamente com um pedaço de papel filtro umedecido com água destilada. Os copos plásticos com as posturas foram mantidos em câmaras climatizadas com temperatura de 20ºC e fotofase de 14h até a eclosão das lagartas neonatas.

As lagartas neonatas récem-eclodidas foram inoculadas em copos plásticos de 100 mL contendo dieta artificial (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976). Ao atingirem o 3º instar, as lagartas foram utilizadas para a realização dos bioensaios e o restante foi individualizado em copos plásticos de 50 mL com dieta artificial para a manutenção da população.

Foi utilizada uma linhagem suscetível de referência (SUS) obtida na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG, a qual vem sendo mantida em laboratório na ausência de pressão de seleção de inseticidas por várias gerações há mais de 20 anos, para fins de comparação e caracterização da suscetibilidade.

3.2. Bioensaios toxicológicos

Para a realização do presente trabalho foi utilizado o método de bioensaio de tratamento superficial da dieta com inseticida. Os bioensaios foram conduzidos em placas de acrílico (COSTAR®) de 24 células, onde foram depositados 1,25 mL de dieta artificial em cada célula. Após a secagem, as placas foram esterilizadas em câmara de fluxo laminar com luz ultravioleta.

As diferentes concentrações do inseticida chlorfenapyr (Pirate® 240g i.a./L) foram obtidas por meio da diluição do produto comercial em água destilada com adição de 0,1 % (v/v) do surfactante Triton®. Uma solução de 30 µL do inseticida na concentração a ser testada foi aplicada em cada célula. Após a secagem das placas, lagartas de terceiro instar foram infestadas individualmente em cada célula com o auxílio de uma pinça. Para o fechamento foram utilizadas tampas das placas e transparências perfuradas para evitar a fuga das lagartas. As placas foram mantidas em câmaras climatizadas à temperatura de 25± 2°C e fotofase de 14h. A mortalidade das lagartas foi avaliada com 96h após a infestação e o critério de mortalidade utilizado foi de indivíduos que não apresentaram reação ao toque de uma pinça, sem nenhum movimento aparente.

3.3. Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr

Para a caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr foram utilizadas a população suscetível de referência (SUS) e as populações de campo (Tabela 1). Foram utilizadas oito concentrações espaçadas logaritmicamente entre 1,8 a 100 µg/mL obtidas a partir da diluição do inseticida chlorfenapyr (Pirate® 240g i.a./L) em água destilada com adição de 0,1 % (v/v) do surfactante Triton®. O tratamento controle consistia de água destilada mais o surfactante. Para cada concentração foram testadas aproximadamente 72 lagartas de terceiro instar.

Tabela 1. Populações de *Spodoptera frugiperda* utilizadas na caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade

Código da população	Localização	Latitude	Longitude	Data
GO-36	Planaltina – GO	15º22’11” S	47º37’52” W	10/12/2015
BA-44	São Desidério – BA	-	-	23/02/2016
GO-RV	Rio Verde – GO	17º35’24” S	50º56’45” W	10/03/2016
MT-35	Sapezal – MT	13º25’35,9” S	58º38’17,84” W	23/03/2016
MG-DN	Divisa Nova – MG	21º30’48” S	46º18’07” W	20/04/2016

3.4. Monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr

O monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr foi realizado utilizando a concentração diagnóstica estimada através da análise conjunta dos dados de mortalidade obtidos a partir das linhas-básicas de suscetibilidade. Foi avaliada a suscetibilidade das populações de *S. frugiperda* coletadas nas principais regiões produtoras de milho do Brasil nas safras entre os anos de 2016 a 2018 (Tabela 2).

Tabela 2. Populações de *Spodoptera frugiperda* utilizadas no monitoramento da suscetibilidade

Código da população	Localização	Latitude	Longitude	Data
2ª Safra 2016				
MT-35	Sapezal – MT	13º25’35,9” S	58º38’17,84” W	23/03/2016
MT-36	Lucas do Rio Verde - MT	12º46’1,2” S	56º07’17,51” W	30/03/2016
MT-37	Campo Verde – MT	15º33’3,78” S	55º12’71” W	12/03/2016
MS-22	Rio Brilhante – MS	21º44’26” S	54º29’17” W	23/03/2016
MS-23	Chapadão do Sul – MS	18º45’43” S	52º36’41” W	29/03/2016
SP-22	Casa Branca – SP	21º50’18,78” S	47º11’3,13” W	20/04/2016
PR-64	Cornélio Procópio – PR	23º12’42” S	50º42’19” W	12/03/2016
PR-65	Peabiru – PR	23º51’58” S	52º23’43” W	12/03/2016
PR-66	Palotina – PR	24º09’50” S	53º32’15” W	18/04/2016
1ª Safra 2017				
BA-47	Luís Eduardo Magalhães -BA	11º57’34,60” S	46º05’54,06” W	23/12/2016
GO-41	Rio Verde – GO	17º42’58” S	51º10’46” W	12/12/2016
GO-42	Cristalina – GO	16º55’27,23” S	47º38’14,10” W	23/12/2016
MG-25	Tupaciguara – MG	18º37’49,15” S	48º42’11,92” W	28/11/2016
SP-24	Casa Branca – SP	21º34’49,87” S	47º05’20,51” W	30/12/2016
PR-69	Tibagi – PR	24º27’1,12” S	50º11’22,16” W	16/11/2016
PR-70	Cascavel – PR	25º0’6,19” S	53º30’24,05” W	16/11/2016
SC-6	Guatambu – SC	27º07’52,79” S	52º45’33,01” W	28/11/2016
RS-22	Sto Antonio do Planalto - RS	28º21’13,72” S	52º43’1,52” W	21/11/2016
RS-23	Santo Ângelo- RS	28º10’56,14” S	54º18’16,27” W	21/11/2016

2ª Safra 2017				
GO-43	Montividiu – GO	17º29’58,92” S	51º07’23,41” W	02/03/2017
MT-40	Lucas do Rio Verde - MT	12º33’41,04” S	56º09’41,65” W	07/03/2017
MT-41	Sapezal – MT	13º30’8,64” S	58º45’33,37” W	07/03/2017
MT-42	Campo Verde – MT	15º29’27,89” S	55º20’52,33” W	07/03/2017
MS-24	Chapadão do Sul – MS	18º46’42,45” S	52º38’50,44” W	02/03/2017
MS-25	Dourados – MS	22º42’33,98” S	55º02’54,99” W	10/03/2017
SP-25	Pirassununga – SP	21º53’9,42” S	47º20’57,60” W	07/04/2017
PR-71	Toledo – PR	24º40’14,01” S	53º48’48,99” W	10/03/2017
PR-72	Luiziana – PR	24º15’5,004” S	52º21’19,00” W	30/03/2017
PR-73	Sertanópolis - PR	23º01’17,00” S	50º59’21,01” W	30/03/2017
Entresafra 2017 – 2018				
BA-48	Roda Velha - BA	12º51’12,096” S	45º28’12,72” W	28/07/2017
GO-44	Rio Verde - GO	17º47’45,27” S	50º58’20,21” W	28/07/2017
MT-44	Sorriso - MT	12º59’13,34” S	55º51’35,17” W	12/07/2017
MS-26	Chapadão do Sul - MS	18º46’47,60” S	52º38’50,14” W	12/07/2017
SP-26	Casa Branca - SP	21º40’10,95” S	47º03’19,69” W	03/08/2017
1ª Safra 2018				
BA-49	Roda Velha - BA	13º15’51,70” S	46º08’45,82” W	06/12/2017
GO-45	Cristalina - GO	16º19’8,11” S	47º35’36,02” W	06/12/2017
GO-46	Rio Verde - GO	17º44’38,87” S	50º51’3,82” W	26/12/2017
MG-26	Araguari - MG	18º32’5,64” S	48º23’34,87” W	26/12/2017
SP-27	Casa Branca - SP	21º50’14,67” S	47º0’26,21” W	16/11/2017
PR-75	Ponta Grossa - PR	24º46’13,30” S	49º53’50” W	23/11/2017
PR-76	Toledo – PR	24º51’9,47” S	53º50’44,01” W	14/12/2017
SC-7	Chapecó - SC	27º05’4,38” S	52º38’6,47” W	23/11/2017
RS-24	Santo Ângelo - RS	28º12’0,36” S	54º16’15,20” W	18/10/2017
RS-26	Não me Toque - RS	28º15’35,67” S	52º51’24,12” W	16/11/2017
2ª Safra 2018				
GO-47	Rio Verde - GO	17º52’4,55” S	50º55’48,39” W	09/04/2018
MT-45	Lucas do Rio Verde - MT	13º09’49,25” S	56º00’24,88” W	20/03/2018
MT-46	Sapezal - MT	13º30’7,524” S	58º48’4,86” W	27/03/2018
MT-47	Campo Verde - MT	15º37’54,41” S	55º08’37,39” W	18/04/2018
MS-27	Chapadão do Sul - MS	18º46’17,29” S	52º36’33,26” W	29/03/2018
MS-28	Dourados - MS	22º42’27,29” S	55º02’34,26” W	06/04/2018
SP-28	Casa Branca - SP	22º05’57,08” S	47º01’39,58” W	06/04/2018
PR-77	Campo Mourão - PR	24º31’51,35” S	51º52’53,62” W	27/02/2018
PR-78	Cascavel - PR	24º45’36,08” S	53º40’10,16” W	27/03/2018
PR-79	Sertanópolis - PR	23º00’26,39” S	51º00’12,96” W	23/04/2018

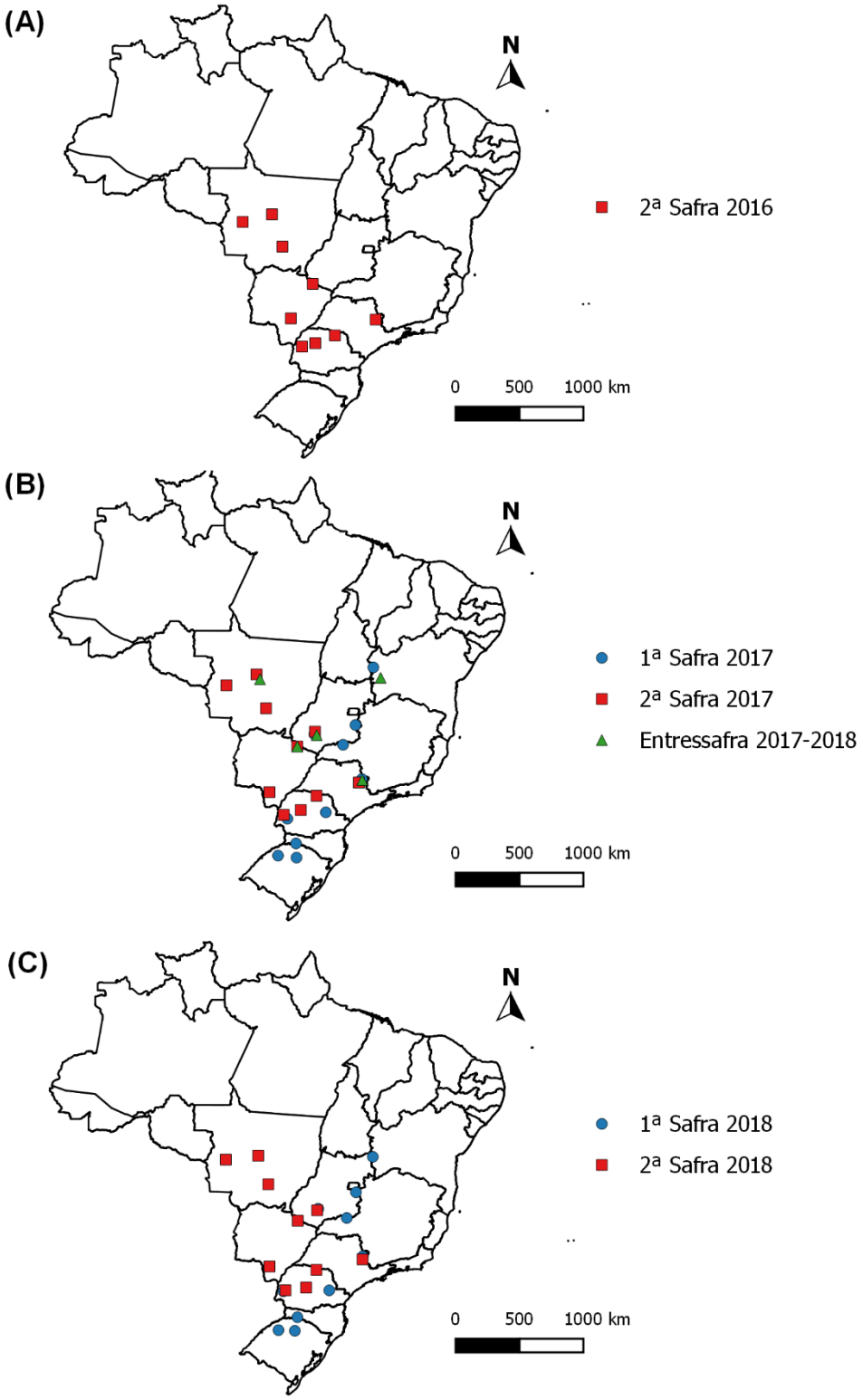

Figura 1. Distribuição das populações de *Spodoptera frugiperda* coletadas nas safras dos anos de 2016 a 2018: (A) ano agrícola de 2016, (B) ano agrícola de 2017 e (C) ano agrícola de 2018

3.5. Estimativa da frequência do alelo da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr

3.5.1. Coleta e criação das populações de *S. frugiperda* para o F_2 screen

As populações de *S. frugiperda* utilizadas no método de F_2 screen foram coletadas na cultura do milho nas principais regiões produtoras do Brasil (Tabela 3). As lagartas coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Resistência de Artrópodes a Táticas de Controle em caixas de isopor e mantidas em dieta artificial até a fase de pupa. As pupas foram retiradas, tratadas com uma solução de sulfato de cobre a 6,25% e individualizadas em bandejas plásticas contendo papel filtro e cobertas com um copo plástico de 50 mL até a emergência dos adultos. Foram formados casais individualizados em copos plásticos de 500 mL com a abertura virada para baixo sobre um prato plástico revestido com papel jornal para o acasalamento e oviposição dos adultos. Cada copo plástico representou uma isolinha devidamente identificada e dentro dos copos plásticos foi colocada um recipiente com algodão embebido em uma solução de mel a 10% para a alimentação dos adultos. A solução de mel e as posturas foram trocadas a cada dois dias.

As isolinhas foram mantidas em condições controladas em sala de criação a uma temperatura de 25±2ºC, umidade relativa de 70% e fotofase de 14h. As posturas contidas no papel jornal foram cortadas e colocadas em copos plásticos de 500 mL identificados de acordo com as isolinhas, juntamente com um pedaço de papel filtro umedecido com água destilada, a fim de manter a umidade interna. Os copos com as posturas foram mantidos na mesma sala de criação até a eclosão das lagartas. As lagartas neonatas foram transferidas para copos plásticos de 100 mL contendo dieta artificial com o auxílio de um pincel. As lagartas ao atingirem o terceiro instar foram inoculadas em placas plásticas de 32 células contendo dieta artificial, em cada célula foi inoculada uma lagarta. Para cada isolinha foram inoculadas três placas de plástico totalizando 96 lagartas. As pupas obtidas de cada isolinha foram retiradas da dieta, tratadas com solução de sulfato de cobre a 6,25% e transferidas para uma gaiola de tubo de PVC (10 cm de diâmetro x 25 cm), revestidas internamente com papel jornal para acasalamento e oviposição dos adultos.

As gaiolas foram mantidas em sala de criação a temperatura de 25±2ºC, umidade relativa de 70% e fotofase de 14h. Os adultos de cada gaiola foram alimentados com uma solução de mel a 10% que foram trocadas a cada dois dias. As posturas contidas no papel jornal foram recortadas e colocadas em copos plásticos de 100 mL juntamente com um pedaço de papel filtro umedecido com água destilada até a eclosão das lagartas.

Tabela 3. Populações de *Spodoptera frugiperda* utilizadas na estimativa da frequência alélica

Código da população	Localização	Latitude	Longitude	Data
2ª Safra 2016				
BA-BAR	Barreiras – BA	11º45'42'' S	45º46'31'' W	09/05/2016
MT-35	Sapezal – MT	13º 25' 35,9" S	58º 38'17,84" W	23/03/2016
MT-LRV	Lucas do Rio Verde - MT	12º 58' 10" S	55º 56' 41" W	18/05/2016
MS-22	Rio Brilhante – MS	21º 44' 26" S	54º 29' 17" W	23/03/2016
SP-22	Casa Branca – SP	21º50'18,78" S	47º11'3,13" W	20/04/2016
PR-65	Peabiru – PR	23º51'58" S	52º23'43" W	18/04/2016
Entresafra 2016 – 2017				
BA-45	São Desidério – BA	12º8'25,41" S	45º26'58,26" W	27/09/2016
GO-39	Rio Verde – GO	17º24'25,74" S	50º49'50,20" W	27/07/2016
MT-38	Lucas do Rio Verde - MT	13º00'05" S	55º58'14" W	03/10/2016
SP-23	São João da Boa Vista - SP	22º0'57,57" S	46º50'21,56" W	01/08/2016
1ª Safra 2017				
BA-47	Luís Eduardo Magalhães - BA	11º57'34,60" S	46º05'54,06" W	23/12/2016
GO-41	Rio Verde – GO	17º42'58" S	51º10'46" W	12/12/2016
MT-40	Lucas do Rio Verde - MT	12º33'41,04" S	56º09'41,65" W	07/03/2017
SP-24	Casa Branca – SP	21º34'49,87" S	47º05'20,51" W	30/12/2016
PR-70	Cascavel – PR	25º0'6,19" S	53º30'24,05" W	16/11/2016

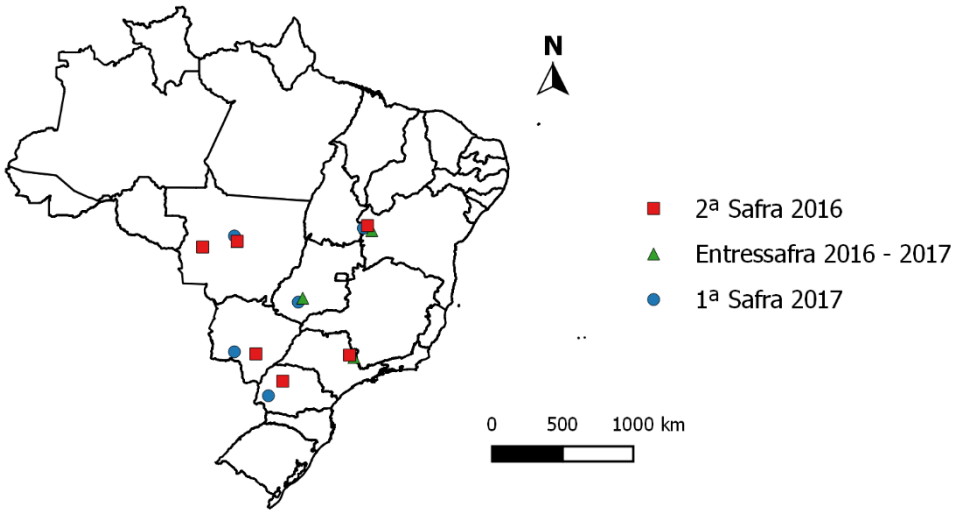

Figura 2. Distribuição das populações de *Spodoptera frugiperda* utilizadas na estimativa da frequência alélica.

3.5.2. Teste da progênie F_2

As lagartas neonatas da progênie F_2 foram inoculadas em copos de 100 mL contendo dieta artificial, onde foram mantidas até atingirem o terceiro instar. O teste da progênie F_2 foi realizado com bioensaio de ingestão seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente utilizando a concentração diagnóstica estimada através das linhas básicas de suscetibilidade. As placas de bioensaio foram mantidas em câmaras climatizadas com temperatura de 25 ± 2°C e fotofase de 14h. Para cada isolinha foram testadas 120 lagartas e a mortalidade foi avaliada com 96h após a inoculação. Para a verificação da presença do alelo da resistência nas isolinhas e validá-las como isolinha positiva, todos os indivíduos sobreviventes na geração F_2 foram acasalados entre si e retestados na geração F_3.

3.6. Avaliação de resistência cruzada de chlorfenapyr em linhagens de *S. frugiperda* resistentes a inseticidas e proteínas Bt

Para a avaliação de resistência cruzada foram utilizadas linhagens de *S. frugiperda* resistentes aos principais grupos químicos de inseticidas e proteínas Bt. As linhagens resistentes foram selecionadas pelo método de F_2 screen a partir de populações de campo de diferentes localizações (Tabela 4). Todas as linhagens resistentes foram mantidas sob pressão de seleção por inseticidas e proteínas Bt. As linhagens HX-R, VT-R, PW-R e VIP-R foram selecionadas em folhas de milho que expressavam os respectivos eventos Bt. Uma linhagem suscetível de referência (SUS) obtida da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas - MG, a qual vem sendo mantida em laboratório na ausência de pressão de seleção por inseticidas e proteínas Bt desde 1995, foi utilizada para fins de comparação e cálculo da razão de resistência.

Para avaliar a existência de resistência cruzada de chlorfenapyr nas linhagens resistentes de *S. frugiperda* foram realizadas curvas concentração-resposta para caracterizar da suscetibilidade das linhagens resistentes e suscetível para o inseticida chlorfenapyr utilizando o método de bioensaio descrito no item 3.2. Foram utilizadas oitos concentrações espaçadas logaritmicamente entre 1,8 a 100 µg/mL.

Tabela 4. Linhagens de *Spodoptera frugiperda* resistentes utilizadas na avaliação de resistência cruzada

Código da linhagem	Grupo químico	Ingrediente ativo/proteína Bt	Localização
Lambda-R	Piretroides	lambda-Cyhalothrin	Palotina, PR
Chlorpy-R	Organofosforados	Chlorpyrifos	Luís Eduardo Magalhães, BA
Luf-R	Benzoilureias	Lufenuron	Roda Velha, BA
Tef-R	Benzoilureias	Teflubenzuron	Sapezal, MT
Spin-R	Spinosinas	Spinosad	Barreiras, BA
Chloran-R	Diamidas	Chlorantraniliprole	Correntina, BA
HX-R	*Bacillus thuringiensis*	Cry1F	Luís Eduardo Magalhães, BA
VT-R	*Bacillus thuringiensis*	Cry1A.105/Cry2Ab2	Luís Eduardo Magalhães, BA
PW-R	*Bacillus thuringiensis*	Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F	Roda Velha, MT
VIP-R	*Bacillus thuringiensis*	Vip3Aa20	Lucas do Rio Verde, MT

3.7. Análises estatísticas

Os dados de mortalidade das linhas-básicas de suscetibilidade e das curvas concentração-resposta das linhagens resistentes foram submetidos a análise de Probit no programa PoloPlus (LeOra Software, 2002) para a estimativa das CL_{50}s e seus respectivos intervalos de confiança. A dose diagnóstica utilizada no monitoramento da suscetibilidade foi estimada através da análise conjunta dos dados de mortalidade das linhas-básicas de suscetibilidade utilizando o complemento log-log no programa SAS (SAS INSTITUTE, 2004).

Os dados do monitoramento da suscetibilidade foram analisados pela estimativa do intervalo de confiança de 95% para a probabilidade de sobrevivência, de acordo com a distribuição binomial. As análises foram feitas utilizando a função *binom.exact* do pacote *binom* no programa R Studio (RStudio Team, 2016). No monitoramento da suscetibilidade, as sobrevivências foram consideradas significativamente diferentes quando o intervalo de confiança de 95% das populações de campo testadas não se sobreponha com o intervalo de confiança de 95% da população suscetível de referência.

Para a estimativa da frequência dos alelos da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr foi utilizado a equação (1) proposto por ANDOW; ALSTAD (1998). Os intervalos de confiança foram obtidos através da função *binom.bayes* do pacote *binom* no programa R Studio (RStudio Team, 2016).

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr

As curvas concentração-resposta das populações de campo testadas para chlorfenapyr estão apresentadas na Tabela 5. Através da caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade foi possível estimar as CL_{50}s das populações de *S. frugiperda*. As CL_{50}s das populações testadas variaram de 13,87 a 25,07 µg/mL. Pela não sobreposição dos intervalos de confiança das populações testadas, podemos observar que todas as populações de campo diferiram da população suscetível de referência. Porém a variação entre as CL_{50} foi baixa, apresentando uma variabilidade natural de 1,8 vezes. Entre as populações de campo testadas, a população BA-44 foi a que apresentou menor suscetibilidade com uma CL_{50} de 25,07 µg/mL, enquanto a população MT-35 foi a que apresentou menor suscetibilidade com uma CL_{50} de 18,06 µg/mL. O coeficiente angular das populações GO-RV, MT-35 e MG-DN testadas foram mais altas que o coeficiente angular da população suscetível, já as populações BA-44 e GO-36 foram as que apresentaram menor coeficiente angular.

Tabela 5. Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* a chlorfenapyr

População	n[a]	Coef. Ang. (± EP)	CL_{50} (IC 95%) [b]	χ^2	gl[c]	h[d]
SUS	648	4,89 ± 0,50	13,87 (12,47 – 15,30)	1,24	5	0,25
BA-44	554	4,07 ± 0,46	25,07 (21,26 – 28,77)	5,04	5	1,01
GO-36	598	3,61 ± 0,37	21,56 (19,11 – 23,99)	5,63	6	0,94
GO-RV	645	6,20 ± 0,70	21,49 (19,58 – 23,4)	3,38	5	0,68
MT-35	1168	6,13 ± 0,90	18,06 (16,50 – 19,73)	5,39	5	1,08
MG-DN	575	5,41 ± 0,61	19,70 (17,72 – 21,67)	3,3	4	0,83

[a] número de lagartas; [b] concentração letal 50; [c] graus de liberdade; [d] heterogenidade

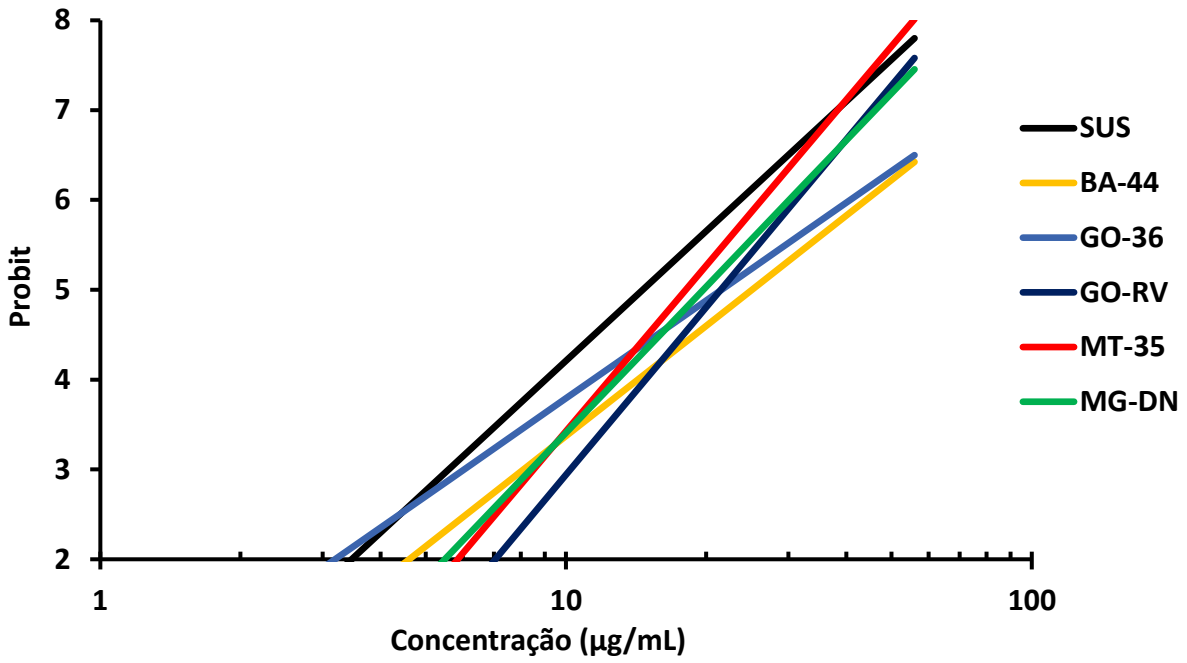

Figura 3. Curvas de concentração-resposta de chlorfenapyr em populações de *Spodoptera frugiperda* no Brasil.

A partir da análise conjunta dos dados das linhas-básicas de suscetibilidade de todas as populações foi estimada a CL_{99} de 47,79 (IC 95% [44,33 – 52,44]) µg/mL (n = 2511; Coef. ang. [± EP] = 5,38 [± 0,32]; χ^2 = 7,68; gl = 4). Assim a concentração de 56 µg/mL foi estabelecida como a concentração diagnóstica para o monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr no Brasil.

4.2. Monitoramento da suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* a chlorfenapyr

O monitoramento da suscetibilidade de *S. frugiperda* foi realizado utilizando a concentração de 56 µg/mL como concentração diagnóstica. Foram monitoradas 7 safras agrícolas durante os anos de 2016 a 2018 (Tabela 6). No total foram monitoradas 53 populações de campo coletadas em 9 estados diferentes desde a 2ª safra de 2016 até 2ª safra de 2018. Entre todas as populações testadas, 15 populações apresentaram sobrevivência que foram significativamente mais altas quando comparada com a sobrevivência da população suscetível de referência, variando de 1,87 a 8,39%. A sobrevivência das demais populações não apresentou diferenças significativas pois os intervalos de confiança se sobrepunham com o intervalo de confiança da população suscetível de referência.

As populações que apresentaram uma sobrevivência maior que a população suscetível, foram coletadas nos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Goiás, Bahia e Minas Gerais. As maiores sobrevivências foram observadas nas população SP-22 (8,39%), seguida das população BA-47 (7,71%), MG-25 (6,87%) e MT-47 (4,79%). A sobrevivência na dose diagnóstica foi maior nas populações coletadas na 2ª safra 2016 e na 1ª safra 2017. Sendo que nas demais safras a sobrevivência diminuiu, voltando a aumentar somente na 2ª safra 2018 onde duas populações (GO-47 e MT-47) apresentaram sobrevivência significativas.

Tabela 6. Sobrevivência das populações de *Spodoptera frugiperda* a chlorfenapyr

Código da população	Cidade, Estado	n	% Sobrevivência (IC 95%)
SUS	Suscetível de referência	480	0,00 (0,00 – 0,76)
2ª Safra 2016			
MT-35	Sapezal, Mato Grosso	480	3,75 (2,23 – 5,86) *
MT-36	Lucas do Rio Verde, Mato Grosso	480	1,46 (0,58 – 2,98)
MT-37	Campo Verde, Mato Grosso	528	1,32 (0,53 – 2,71)
MS-22	Rio Brilhante, Mato Grosso do Sul	480	3,96 (2,39 – 6,11) *
MS-23	Chapadão do Sul, Mato Grosso do Sul	480	3,96 (2,39 – 6,11) *
SP-22	Casa Branca, São Paulo	480	8,39 (6,56 – 11,87) *
PR-64	Cornélio Procópio, Paraná	504	2,38 (1,24 – 4,12) *
PR-65	Peabiru, Paraná	480	1,25 (0,46 – 2,70)
PR-66	Palotina, Paraná	480	1,25 (0,46 – 2,70)
1ª Safra 2017			
BA-47	Luís Eduardo Magalhães, Bahia	480	7,71 (5,48 – 10,46) *
GO-41	Rio Verde, Goiás	480	2,29 (1,15 – 4,06) *
GO-42	Cristalina, Goiás	480	1,87 (0,86 – 3,52) *
MG-25	Tupaciguara, Minas Gerais	480	6,87 (4,77 – 9,52) *
SP-24	Casa Branca, São Paulo	480	0,42 (0,05 – 1,49)
PR-69	Tibagi, Paraná	480	1,87 (0,86 – 3,53) *
PR-70	Cascavel, Paraná	480	2,29 (1,14 – 4,06) *
SC-6	Guatambu, Santa Catarina	480	2,71 (1,44 – 4,58) *
RS-22	Sto Antonio do Planalto, Rio Grande do Sul	600	1,50 (0,69 – 2,82)
RS-23	Santo Ângelo, Rio Grande do Sul	384	1,30 (0,42 – 3,01)
2ª Safra 2017			
GO-43	Montividiu, Goiás	456	0,22 (0,005 – 1,21)
MT-40	Lucas do Rio Verde, Mato Grosso	480	1,04 (0,33 – 2,41)
MT-41	Sapezal, Mato Grosso	480	0,21 (0,005 – 1,15)
MT-42	Lucas do Rio Verde, Mato Grosso	480	0,40 (0,05 – 1,49)
MS-24	Chapadão do Sul, Mato Grosso do Sul	528	0,38 (0,04 – 1,36)
MS-25	Dourados, Mato Grosso do Sul	480	0,00 (0,00 – 0,76)

SP-25	Pirassununga, São Paulo	528	0,19 (0,004 – 1,05)
PR-71	Toledo, Paraná	480	0,62 (0,13 – 1,81)
PR-72	Luiziana, Paraná	672	1,19 (0,51 – 2,33)
PR-73	Sertanópolis, Paraná	480	0,00 (0,00 – 0,76)
Entressafra 2017 -2018			
BA-48	Roda Velha, Bahia	480	0,69 (0,14 – 2,01)
GO-44	Rio Verde, Goiás	480	0,21 (0,005 – 1,15)
MT-44	Sorriso, Mato Grosso	480	0,62 (0,13 – 1,81)
MS-26	Chapadão do Sul, Mato Grosso do Sul	480	0,19 (0,005 – 1,10)
SP-26	Casa Branca, São Paulo	480	0,41 (0,05 – 1,49)
1ª Safra 2018			
BA-49	Roda Velha, Bahia	480	0,83 (0,22 – 2,12)
GO-45	Cristalina, Goiás	480	1,04 (0,33 – 2,41)
GO-46	Rio Verde, Goiás	528	0,37 (0,04 – 1,36)
MG-26	Araguari, Minas Gerais	480	0,00 (0,00 – 0,76)
SP-27	Casa Branca, São Paulo	480	0,21 (0,005 – 1,15)
PR-75	Ponta Grossa, Paraná	480	0,39 (0,12 – 1,72)
PR-76	Toledo, Paraná	528	0,94 (0,30 – 2,19)
SC-7	Chapecó, Santa Catarina	480	0,83 (0,22 – 2,12)
RS-24	Santo Ângelo, Rio Grande do Sul	504	0,59 (0,12 – 1,72)
RS-26	Não me Toque, Rio Grande do Sul	504	0,39 (0,04 – 1,42)
2ª Safra 2018			
GO-47	Rio Verde - GO	480	1,87 (0,83 - 3,52) *
MT-45	Lucas do Rio Verde - MT	480	0,00 (0,00 - 0,76)
MT-46	Sapezal - MT	480	0,00 (0,00 - 0,76)
MT-47	Campo Verde - MT	480	4,79 (3,06 - 7,10) *
MS-27	Chapadão do Sul - MS	480	1,25 (0,46 - 2,70)
MS-28	Dourados - MS	480	0,62 (0,12 - 1,81)
SP-28	Casa Branca - SP	480	0,00 (0 - 0,76)
PR-77	Campo Mourão - PR	480	0,42 (0,05 - 1,49)
PR-78	Cascavel - PR	480	0,00 (0,00 - 0,76)
PR-79	Sertanópolis - PR	480	0,21 (0,005 - 1,15)

* Significativamente diferente da população suscetível de referência pela não sobreposição dos intervalos de confiança de 95%

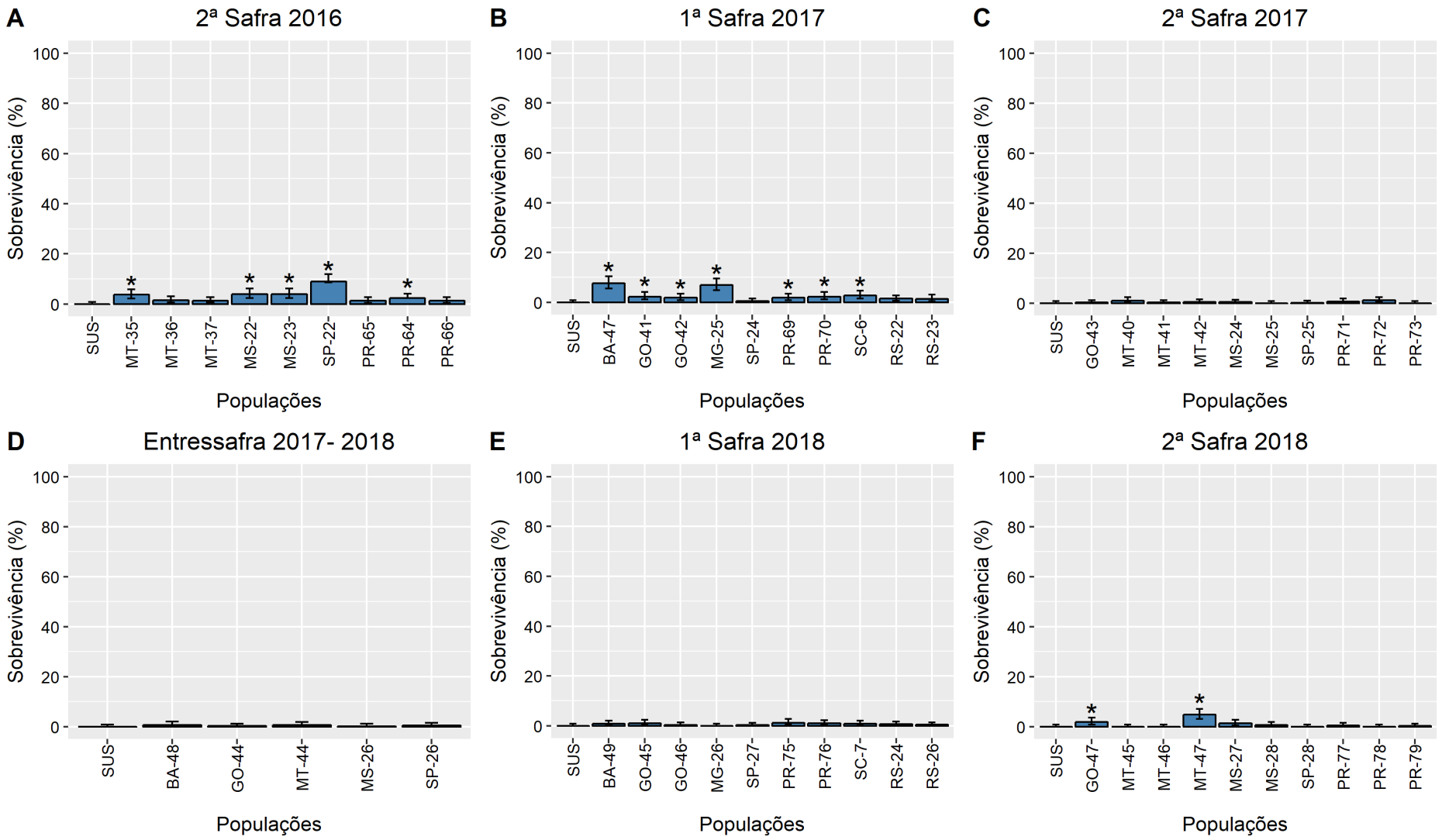

Figura 4. Monitoramento da suscetibilidade de populações de *Spodoptera frugiperda* coletadas em diferentes safras: A - 2ª Safra 2016, B - 1ª Safra 2017, C - 2ª Safra 2017, D - Entressafra 2017-2018, E - 1ª Safra 2018, F - 2ª Safra 2018

4.3. Frequência dos alelos da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr

A estimativa da frequência alélica da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr foi realizada através do método de F_2 screen. A frequência do alelo da resistência de chlorfenapyr foi estimada em 16 populações coletadas entre a 2ª safra 2016 e a entressafra 2017-2018 (Tabela 7). No total foram testadas 821 isolinhas, sendo 166 para o estado da Bahia, 89 para o estado de Goiás, 245 para o estado do Mato Grosso, 41 para o estado do Mato Grosso do Sul, 94 para o estado do Paraná e 186 para o estado de São Paulo (Tabela 8). Todas as isolinhas foram testadas na concentração diagnóstica de 56 µg/mL determinada anteriormente pela análise conjunta das linhas-básicas de suscetibilidade. A sobrevivência média das isolinhas testadas variou de 1,31 a 10,73% entre as populações testadas. Segundo o critério de isolinha positiva adotado, não houve isolinha positiva dentre as 925 isolinhas testadas, pois apesar de obter sobreviventes na geração F_2, não houve sobreviventes quando os insetos foram retestados na próxima geração utilizando a mesma concentração de 56 µg/mL. Desta forma as frequências alélicas estimadas entre as populações testadas variaram de 0,0024 (BA-48) a 0,0081 (GO-41). A frequência estimada nas safras para a 2ª safra 2016 e a 1ª safra 2017 foi 0,0008 e a frequência para a entressafra 2016-2017 foi 0,0012.

Tabela 7. Frequência do alelo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a chlorfenapyr em diferentes localidades e safras

Código da população	Localidade	Isolinhas testadas	% Sobrevivência ± epm	Isolinhas positivas	Frequência estimada (IC 95%)
2ª Safra 2016					
BA-BAR	Barreiras – BA	65	9,91 ± 0,90	0	0,0037 (0 – 0,0137)
MT-35	Sapezal – MT	33	4,77 ± 0,96	0	0,0071 (0 – 0,0263)
MT-LRV	Lucas do Rio Verde – MT	58	6,66 ± 0,60	0	0,0042 (0 – 0,0154)
MS-22	Rio Brilhante – MS	40	8,23 ± 1,32	0	0,0058 (0 – 0,0214)
SP-22	Casa Branca – SP	58	5,37 ± 0,46	0	0,0042 (0– 0,0154)
PR-65	Peabiru – PR	52	4,80 ± 0,66	0	0,0046 (0 – 0,0171)
Subtotal		306	6,69 ± 0,35	0	0,0008 (0 – 0,0030)
Entressafra 2016 – 2017					
BA-45	Roda Velha – BA	35	10,73 ± 1,18	0	0,0068 (0 – 0,0249)
GO-39	Rio Verde – GO	53	10,04 ± 0,96	0	0,0040 (0 – 0,0149)
MT-38	Lucas do Rio Verde – MT	56	6,93 ± 0,63	0	0,0043 (0 – 0,0159)
SP-23	São João da Boa Vista – SP	48	7,56 ± 0,89	0	0,0050 (0 – 0,0184)
Subtotal		192	8,64 ± 0,46	0	0,0013 (0 – 0,0047)
1ª Safra 2017					
BA-47	Luís Eduardo Magalhães – BA	66	5,85 ± 0,66	0	0,0037 (0 – 0,0135)
GO-41	Rio Verde – GO	29	3,93 ± 0,80	0	0,0081 (0 – 0,0297)
MT-40	Lucas do Rio Verde – MT	98	1,31 ± 0,18	0	0,0025 (0 – 0,0092)
SP-24	Casa Branca – SP	80	2,83 ± 0,46	0	0,0030 (0 – 0,0112)
PR-70	Cascavel – PR	42	3,33 ± 0,48	0	0,0057 (0 – 0,0209)
Subtotal		315	3,16 ± 0,23	0	0,0008 (0 – 0,0029)
Total		813	5,82 ± 0,20	0	0,0003 (0 – 0,0011)

Tabela 8. Frequência do alelo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a chlorfenapyr por estado

Estado	Isolinhas testadas	Isolinhas positivas	Frequência estimada (IC 95%)
Bahia	166	0	0,0015 (0 – 0,0055)
Goiás	89	0	0,0027 (0 – 0,0101)
Mato Grosso	245	0	0,0010 (0 – 0,0037)
Mato Grosso do Sul	41	0	0,0058 (0 – 0,0214)
Paraná	94	0	0,0026 (0 – 0,0096)
São Paulo	186	0	0,0013 (0 – 0,0049)

4.4. Avaliação de resistência cruzada de chlorfenapyr em linhagens de *S. frugiperda* resistentes a inseticidas e proteínas Bt

Os resultados das curvas concentração-resposta de chlorfenapyr em linhagens resistentes de *S. frugiperda* estão apresentados na Tabela 8. Para as linhagens resistentes a inseticidas os valores de CL_{50} variaram de 10,48 a 16,11 µg/mL, sendo o menor valor de CL_{50} observada na linhagem resistente a chlorpyrifos, e a linhagem resistente a teflubenzuron foi a que apresentou a maior CL_{50} entre todas as linhagens resistentes testadas. As linhagens resistentes às proteínas Bt também apresentaram uma baixa suscetibilidade, com valores de CL_{50} que variaram de 9,49 a 12,43 µg/mL. A linhagem resistente às proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2 apresentou a menor CL_{50} e a linhagem resistente a Cry1F apresentou a maior CL_{50} entre as linhagens resistentes a proteínas Bt testadas.

Tabela 9. Toxicidade de chlorfenapyr em linhagens resistentes de *Spodoptera frugiperda*

Linhagem	n[a]	Coef. Ang. (± EP)	CL_{50} (IC 95%)[b]	χ^2	gl[c]	h[d]	RR[e]
SUS	648	4,89 ± 0,50	13,87 (12,47 - 15,30)	1,24	5	0,25	-
Lambda-R	693	2,945 ± 0,259	13,80 (12,21 -15,47)	3,278	5	0,656	0,99
Chlorpy-R	574	3,509 ± 0,27	10,48 (9,27 - 11,77)	3,404	5	0,681	0,75
Luf-R	598	3,52 ± 0,333	15,15 (13,16 - 17,17)	3,082	6	0,514	1,09
Tef-R	574	4,284 ± 0,569	16,11 (13,83 - 18,22)	1,337	5	0,267	1,16
Spin-R	550	3,654 ± 0,29	10,94 (9,76 - 12,23)	4,577	5	0,915	0,79
Chloran-R	576	5,013 ± 0,601	14,38 (12,71 - 15,89)	3,31	5	0,622	1,04
HX-R	549	4,716 ± 0,395	12,43 (11,02 - 13,99)	5,759	5	1,15	0,89
VT-R	528	3,938 ± 0,384	9,49 (8,24 - 10,72)	2,119	4	0,53	0,68
PW-R	614	4,791 ± 0,50	11,29 (9,47- 13,15)	6,318	5	1,26	0,81
VIP-R	596	4,519 ± 0,529	10,31 (9,07 - 11,49)	2,723	6	0,454	0,74

[a] número de lagartas; [b] concentração letal 50; [c] graus de liberdade; [d] heterogenidade; [e] Razão de resistência: CL_{50} da linhagem resistente/CL_{50} da linhagem suscetível

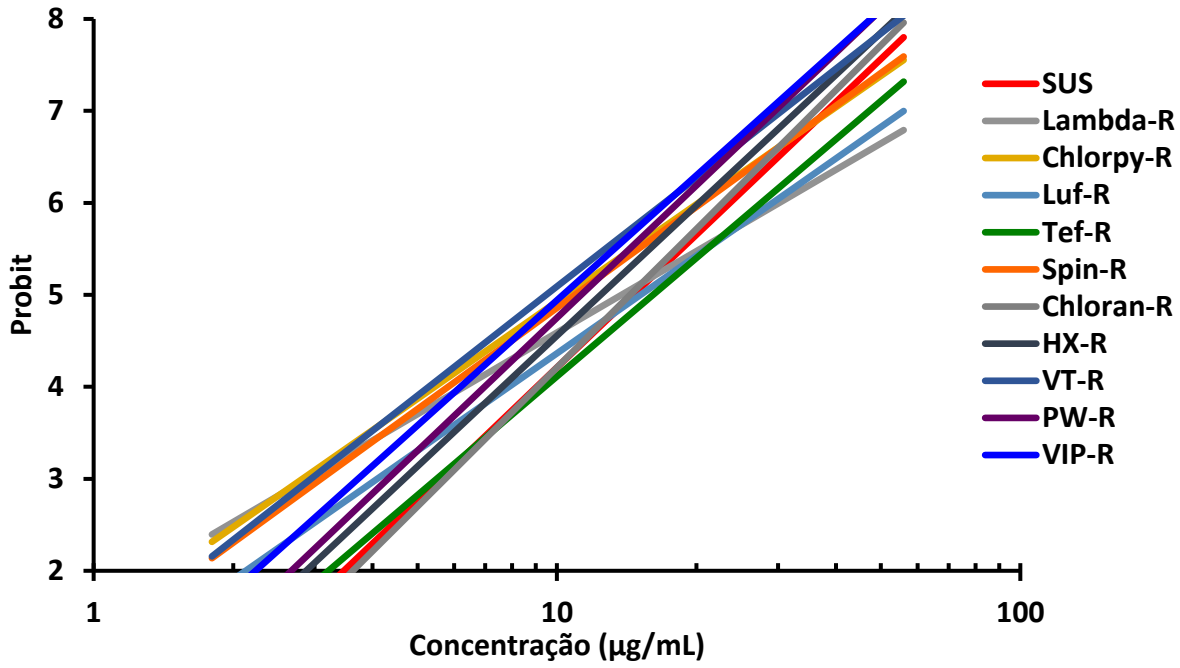

Figura 5. Curvas concetração-resposta de chlorfenapyr em linhagens resistentes de *Spodoptera frugiperda*

5. DISCUSSÃO

Este foi o primeiro estudo de caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr no Brasil. O estabelecimento das linhas-básicas de suscetibilidade é um dos primeiros passos em programas de monitoramento da resistência, pois através delas é possível observar a suscetibilidade e a variação natural de diferentes populações. Através das linhas-básicas de suscetibilidade foi possível verificar uma variação de 1,8 vezes entre as populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões do Brasil. Essa variação pode ser considerada natural, uma vez que pode haver variação na suscetibilidade entre populações de diferentes regiões e até mesmo variação na suscetibilidade de uma mesma população, como foi estudado por Robertson et al. (1995).

Foi possível estabelecer uma concentração diagnóstica através da análise conjunta dos dados das linhas-básicas de suscetibilidade como foi proposto por SIMS et al. (1996). O monitoramento da suscetibilidade das populações de *S. frugiperda* foi realizado na concentração diagnóstica de 56 µg/mL. Os resultados do monitoramento fenotípico demonstraram uma alta suscetibilidade das populações de *S. frugiperda* a chlorfenapyr no Brasil, sendo que a sobrevivência diminuiu ao longo das safras. A princípio, diferenças significativas na sobrevivência foram observadas apenas nas duas primeiras safras monitoradas, e ao longo das outras safras a suscetibilidade se manteve alta em todas as populações testadas. Somente na 2ª safra 2018, diferenças significativas na suscetibilidade foram observadas de novo, quando a sobrevivência das populações GO-47 e MT-47 se diferiram da sobrevivência da população suscetível de referência. O monitoramento da suscetibilidade tem sido feito a partir da comparação dos valores de CL_{50} de populações de campo e de laboratório obtidos a partir de curvas dose-resposta (FFRENCH-CONSTANT; ROUSH, 1990). Porém este método é eficiente apenas quando a frequência de resistência é alta, sendo um método insensível de detectar pequenas variações na frequência resistência, principalmente quando a resistência está no início da evolução em uma população (ROUSH; MILLER, 1986). O uso de uma concentração diagnóstica é recomendado em programas de monitoramento da suscetibilidade, pois todos os indivíduos serão testados em uma única dose e não será desperdiçado nenhum indivíduo em doses mais baixas onde a porcentagem de

mortalidade não é relevante (ROUSH; MILLER, 1986). Estudos de monitoramento da suscetibilidade em outras pragas como *Heliothis virescens* e *Ostrinia nubilaris* a proteínas Bt, tem demonstrado que o uso de concentrações diagnósticas estimadas através da análise conjunta dos dados de linha-básica de suscetibilidade são mais sensitivos que os bioensaios de dose-resposta na discriminação dos fenótipos resistente e suscetível (MARCON et al., 2000; ALBERNAZ et al., 2013).

Em geral, apesar da variação da sobrevivência de algumas populações, a suscetibilidade das populações de *S. frugiperda* a chlorfenapyr no Brasil se manteve alta. Diversos fatores podem estar relacionados com a alta suscetibilidade de *S. frugiperda* a chlorfenapyr. Esses resultados podem indicar que há uma baixa utilização deste inseticida para o controle de *S. frugiperda* no Brasil, que consequemente resultará em uma menor pressão de seleção no campo. Outro fator que pode estar relacionado a alta suscetibilidade das populações de *S. frugiperda* a chlorfenapyr é a utilização de inseticidas com diferentes modos de ação, que podem controlar os indivíduos resistentes a chlorfenapyr. Assim como a presença de inimigos naturais nas áreas cultivadas também podem ajudar a manter a suscetibilidade da praga alta, uma vez que estes podem controlar os indivíduos resistentes que sobreviveram às aplicações de inseticidas dificultando a evolução da resistência.

O método de F_2 screen foi utilizado para que se obtivesse a estimativa da frequência dos alelos que conferem resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr no Brasil. Este método consiste na manutenção da variação genética em isolinhas, formadas a partir de indivíduos do campo, concentrando alelos resistentes em genótipos homozigotos por cruzamentos, os quais podem ser detectadas em bioensaios. Este método vem sendo utilizado para a estimativa da frequência dos alelos da resistência de proteínas Bt e inseticidas no Brasil. Estudos de estimativa da frequência dos alelos da resistência a proteínas Bt em *S. frugiperda* foram conduzidos por BERNARDI et al. (2015b) e FARIAS et al. (2016), onde encontraram uma frequência de 0,0009 para os alelos da resistência de Vip3Aa20 e de 0,296 para os alelos da resistência de Cry1F. No presente estudo a frequência total estimada através do método de F_2 screen foi de 0,0003. A frequência alélica da resistência a chlorfenapyr está dentro do intervalo da frequência inicial dos alelos da resistência, que é da ordem de 10^{-3} a 10^{-12} (ROUSH; MCKENZIE, 1987), evidenciando que a frequência do alelo da resistência a chlorfenapyr ainda é baixa.

Supondo que a resistência seja conferida por um gene com dois alelos, R (resistente) e S (suscetível), os possíveis genótipos serão RR, RS e SS. Considerando que uma população se encontre em equiíbrio de Hardy-Weinberg, a frequência dos genótipos é dada pela seguinte equação : $p^2 + 2pq + q^2 = 1$, onde p^2 é a frequência dos homozigotos resistentes (RR), 2pq é a frequência dos heterozitos (RS) e q^2 a frequência dos homozigotos suscetíveis (SS). Uma frequência do alelo da resistência de 0,0003 significa que teremos 9 indivíduos resistentes a cada 100 milhões de indivíduos, demonstrando um baixo risco de evolução da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr. A baixa frequência do alelo da resistência a chlorfenapyr reflete a baixa sobrevivência das populações monitoradas pelo método fenotípico. A porcentagem de sobrevivência encontrada no método de F_2 screen é maior que a porcentagem de sobrevivência do método fenotípico, pois o método de F_2 screen é capaz de detectar a presença do alelo da resistência nos indivíduos mesmo que em heterozigose.

ANDOW and ALSTAD (1998) propuseram que o método de F_2 screen fosse utilizado para a detecção dos alelos da resistência quando a resistência for de caráter monogênico e recessivo. A resistência de chlorfenapyr para pragas como *Oxycarenus hyalinipennis* (ULLAH et al., 2016) e *Plutella xylostella* (LIMA NETO; SIQUEIRA, 2017) foi caracterizada como poligênica, sugerindo que o método de F_2 screen pode não ser eficiente na detecção dos alelos da resistência a chlorfenapyr para essas duas pragas. Não há nenhum relato sobre a resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr na literatura, assim no presente estudo utilizamos o método de F_2 screen assumindo que a resistência de *S. frugiperda* é de caráter monogênico e recessivo. Outro fator importante é de retestar as isolinhas positivas na próxima geração a fim de evitar a detecção de falsos positivos (ANDOW; ALSTAD, 1998). Apesar de haver sobreviventes na geração F_2, a progênie destes indivíduos (geração F_3) não sobreviveu na mesma concentração testada, o que levou a indicar que não havia nenhuma isolinha positiva entre as populações testadas. Isso pode sugerir que os genes que conferem resistência a chlorfenapyr na geração F_2 não foram passados para os seus descendentes ou que a resistência a chlorfenapyr em *S. frugiperda* pode ser de caráter poligênico, o que dificulta a seleção de indivíduos resistentes, uma vez que pode os genes da resistência podem serem diluídos durante os cruzamentos (ROUSH; MCKENZIE, 1987). A concentração utilizada na detecção dos alelos da resistência foi a concentração diagnóstica obtida através da

análise conjunta das linhas-básicas de suscetibilidade que pode não ser discriminatória, ou seja, pode não garantir a mortalidade de todos os indivíduos heterozigotos, podendo explicar o fato de haver sobrevivêntes na geração F_2 e não haver sobreviventes na geração F_3. Porém para fins de comparação entre o monitoramento fenotípico e genotípico foi utilizada a mesma concentração nos dois métodos de monitoramento.

A ausência de resistência cruzada entre chlorfenapyr e as linhagens resistentes a outros inseticidas e proteínas Bt demonstram que o mecanismo de resistência a chlorfenapyr é diferente dos mecanismos de resistência dos inseticidas e proteínas Bt testados neste estudo. Portanto, a utilização de inseticidas de outros grupos químicos e proteínas Bt não contribuem para a seleção de indivíduos resistentes a chlorfenapyr. Da mesma forma, o inseticida chlorfenapyr pode ser utilizado em programas de manejo da resistência de *S. frugiperda* a estes inseticidas e proteínas Bt, pois todas as linhagens resistentes apresentaram suscetibilidade similiar a linhagem suscetível de referência. A ausência de resistência cruzada de chlorfenapyr e outros inseticidas também foi encontrada em linhagens resistentes de *Plutella xylostella* resistente a chlorantraniliprole e cyantraniprole (LIU et al., 2015a, 2015b), *Helicoverpa armigera* resistente a spinosad (WANG et al., 2009) e *Aphis glycines* resistente a lambda-cyhalothrin (XI et al., 2015).

Linhagens de *Heliothis virescens* e *Haematobia irritans* resistentes a piretroides demonstraram um aumento na suscetibilidade a chlorfenapyr (PIMPRALE et al., 1997; SHEPPARD; JOYCE, 1998). Uma das possíveis explicações é o fato do inseticida chlorfenapyr ser um pró-inseticida, necessitando ser ativado em sua forma tóxica nas células do hospedeiro pelas enzimas monooxigenases do citocromo P-450 (HUNT; TREACY, 1998). Desta forma, a hipótese levantada é de que a resistência de insetos mediada pela detoxificação pelas enzimas monooxigenases apresentariam uma suscetibilidade ao inseticida chlorfenapyr quando comparada com uma linhagem suscetível de referência. Pouco se sabe sobre os mecanismos de resistência de *S. frugiperda* a inseticidas e proteíns Bt. Estudos de transcritoma demonstraram uma alta expressão de enzimas monooxigenases em uma linhagem resistente de *S. frugiperda* a lufenuron (NASCIMENTO et al., 2015). Porém, neste estudo a CL_{50} de chlorfenapyr da linhagem resistente a lufenuron foi semelhante com a CL_{50} da linhagem suscetível,

indicando que as enzimas monooxigenases presentes na linhagem resistente a lufenuron não contribuem para a ativação do inseticida chlorfenapyr.

A alta suscetibilidade e a baixa frequência do alelo da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr podem estar relacionados com a utilização de outras táticas de controle como a adoção de plantas Bt. Atualmente além do controle químico o uso de plantas transgênicas que expressam proteínas Bt tem sido uma das principais estratégias de manejo de *S. frugiperda* no Brasil (BERNARDI et al., 2015b). Após a adoção do milho Bt, houve uma redução de 90,1% na utilização de inseticidas na cultura do milho entre os anos de 1996-2016 no Brasil (BROOKES; BARFOOT, 2018), diminuindo assim a pressão de seleção exercida pelos inseticidas. Trabalhos de monitoramento da suscetibilidade realizados no Laboratório de Resistência de Artrópodes demonstram uma queda na sobrevivência nas populações de *S. frugiperda* a alguns inseticidas após a adoção de plantas Bt no Brasil.

O uso de inseticidas continuará sendo umas das principais estratégias no manejo de pragas, principalmente para o controle de *S. frugiperda* no Brasil, pois apesar do advento das plantas Bt já foram relatados casos de resistência em campo para as proteínas Cry1F e Cry1Ab (FARIAS et al., 2014; OMOTO et al., 2015) e a resistência para as proteínas Vip3Aa20 e Cry1A.105/Cry2Ab2 já foi selecionada e caracterizada em laboratório (BERNARDI et al., 2016; BERNARDI et al., 2017) indicando o alto risco da evolução da resistência para essas proteínas. Diante da falha de controle de *S. frugiperda* a vários grupos de inseticidas e proteínas Bt, o inseticida chlorfenapyr torna-se uma alternativa entre os inseticidas utilizados para o manejo de *S. frugiperda* no Brasil.

Estudos de caracterização e monitoramento da suscetibilidade são essenciais para a tomada de decisões em programas de manejo da resistência. Este trabalho fornece subsídios para a implementação de estratégias proativas em programas de manejo da resistência de *S. frugiperda* a chlorfenapyr. É importante ressaltar que o manejo da resistência não deve ser estruturado em apenas uma tática de controle, é preciso explorar das demais táticas de controle dentro de um programa de manejo integrado de pragas tais como o controle biológico, controle cultural, resistência de plantas e uso de feromônios, além de considerar a complexidade do sistema de cultivos no Brasil.

6. CONCLUSÕES

- A suscetibilidade a chlorfenapyr em populações de *S. frugiperda* no Brasil é alta.

- A frequência do alelo da resistência a chlorfenapyr em populações de *S. frugiperda* no Brasil é baixa.

- Não há resistência cruzada em *S. frugiperda* entre chlorfenapyr e os inseticidas: lambda-cyhalothrin, chlorpyrifos, lufenuron, teflubenzuron, spinosad e chlorantraniliprole e as proteínas: Cry1F, Cry1A.105/Cry2Ab2, Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F e Vip3aA20 expressas em milho geneticamente modificado.

REFERÊNCIAS

ACHARYA, B.; HEAD, G. P.; PRICE, P. A.; HUANG, F. Fitness costs and inheritance of Cry2Ab2 resistance in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 149, p. 8–14, 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201117301428>.

ADAMCZYK JR, J. J.; HOLLOWAY, J. W.; LEONARD, B. R.; GRAVES, J. B. Susceptibility of fall armyworm collected from different plant hosts to selected insecticides and transgenic Bt cotton. **Journal of Cotton Science**, v. 1, p. 21-28, 1997.

AHMAD, M.; AKHTAR, K. P. Susceptibility of cotton whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) to diverse pesticides in Pakistan. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 4, p. 1834–1841, 3 ago. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/toy112>.

AHMAD, M.; IQBAL ARIF, M. Resistance of Pakistani field populations of spotted bollworm *Earias vittella* (Lepidoptera: Noctuidae) to pyrethroid, organophosphorus and new chemical insecticides. **Pest Management Science**, v. 65, n. 4, p. 433–439, 22 jan. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.1702>.

ALBERNAZ, K. C.; MERLIN, B. L.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Baseline Susceptibility to Cry1Ac Insecticidal Protein in *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) Populations in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 106, n. 4, p. 1819–1824, 1 ago. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1603/EC12222>.

ANDOW, D. A. The risk of resistance evolution in insects to transgenic insecticidal crops. **Collection of Biosafety Reviews**, v. 4, p. 142–199, 2008.

ANDOW, D. A.; ALSTAD, D. N. F2 Screen for Rare Resistance Alleles. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n. 3, p. 572–578, 1998.

ANDOW, D. A.; IVES, A. R. Monitoring and Adaptive Resistance Management. **Ecological Applications**, v. 12, n. 5, p. 1378–1390, 1 out. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1890/1051-0761(2002)012[1378:MAARM]2.0.CO>.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology,** v. 39, n.6, p.996-1001, 2010.

BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; HORIKOSHI, R. J.; SALMERON, E.; OKUMA, D. M.; FARIAS, J. R.; DO NASCIMENTO, A. R. B.; OMOTO, C. Selection and characterization of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to MON 89034 ×TC1507 × NK603 maize technology. **Crop Protection**, v. 94, p. 64–68, 2017.

BERNARDI, D.; SALMERON, E.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Cross-resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided bt maize hybrids in Brazil. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. e0140130, 2015a.

BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; OKUMA, D. M.; MIRALDO, L. L.; FATORETTO, J.; MEDEIROS, F. C.; BURD, T.; OMOTO, C. Selection and characterization of resistance to the Vip3Aa20 protein from Bacillus thuringiensis in *Spodoptera frugiperda*. **Pest management science**, v. 72, n. 9, p. 1794–1802, jan. 2016.

BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; RIBEIRO, R. S.; OKUMA, D. M.; SALMERON, E.; FATORETTO, J.; MEDEIROS, F. C. L.; BURD, T.; OMOTO, C. Frequency of resistance to Vip3Aa20 toxin from Bacillus thuringiensis in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. **Crop Protection**, v. 76, p. 7–14, 2015b.

BLACK, B. C.; HOLLINGWORTH, R. M.; AHAMMADSAHIB, K. I.; KUKEL, C. D.; DONOVAN, S. Insecticidal Action and Mitochondrial Uncoupling Activity of AC-303,630 and Related Halogenated Pyrroles. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 50, n. 2, p. 115–128, 1994. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357584710649>.

BOTTON, M.; CARBONARI, J. J.; GARCIA, M. S.; MARTINS, J. F. S. Preferência alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz e capim-arroz. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil,** v. 27, p. 207-212, 1998.

BRENGUES, C.; HAWKES, N. J.; CHANDRE, F.; MCCARROLL, L.; DUCHON, S.; GUILLET, P.; MANGUIN, S.; MORGAN, J. C.; HEMINGWAY, J. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. **Medical and veterinary entomology**, v. 17, n. 1, p. 87–94, 2003.

BRÉVAULT, T.; NDIAYE, A.; BADIANE, D.; BAL, A. B.; SEMBÈNE, M.; SILVIE, P.; HARAN, J. First records of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), in Senegal. **Entomologia Generalis**, v. 37, n. 2, p. 129-142, 2018.

BROOKES, G.; BARFOOT, P. Environmental impacts of genetically modified (GM) crop use 1996-2016: Impacts on pesticide use and carbon emissions. **GM Crops & Food**, v. 9, n. 3, p. 109–139, 3 jul. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21645698.2018.1476792>.

BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; ZOTTI, M. J.; STEFANELLO JÚNIOR, G. J. Biologia comparada de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho e arroz. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 743-750, 2005.

BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; ZOTTI, M. J.; NÖRNBERG, S. D.; MAGALHÃES, T. R.; MAGALHÃES, J. de B. Susceptibilidade de lagartas dos biótipos milho e arroz de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas com diferentes modos de ação. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 15-20, **2006**.

BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; OLIVEIRA, A. C. de; VIEIRA, E. A.; ZIMMER, P. D.; KOPP, M. M.; BANDEIRA, J. de M.; MAGALHÃES, T. R. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas às culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 6, p. 709-716, 2004.

CAPINERA, J. **Handbook of vegetable pests**. San Diego: Academic Press, 2002, 729p.

CARVALHO, R. A.; OMOTO, C.; FIELD, L. M.; WILLIAMSON, M. S.; BASS, C. Investigating the Molecular Mechanisms of Organophosphate and Pyrethroid Resistance in the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, 2013.

CHAPMAN, R. B.; PENMAN, D. R. Negatively correlated cross-resistance to a synthetic pyrethroid in organo-phosphorus-resistant *Tetranychus urticae*. **Nature**, v. 281, p. 298, 27 set. 1979. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/281298a0>.

COCK, M. J. W.; BESEH, P. K.; BUDDIE, A. G.; CAFÁ, G.; CROZIER, J. Molecular methods to detect *Spodoptera frugiperda* in Ghana, and implications for monitoring the spread of invasive species in developing countries. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 4103, 2017.

COMINS, H. N. The development of insecticide resistance in the presence of migration. **Journal of Theoretical Biology**, v. 64, n. 1, p. 177–197, 1977. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022519377901199>.

CORTEZ, M. G. R.; WAQUIL, J. M. Influência de cultivar e nível de infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no rendimento do sorgo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 407-410, 1997.

CROFT, B. A.; VAN DE BAAN, H. E. Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. **Experimental & Applied Acarology**, v. 4, n. 3, p. 277–300, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF01196191>.

CROW, J. F. Genetics of Insect Resistance to Chemicals. **Annual Review of Entomology**, v. 2, n. 1, p. 227–246, 1 jan. 1957. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.02.010157.001303>.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, CNPMS, 1995. 45 p. (Circular Técnica, 21).

DABORN, P.; BOUNDY, S.; YEN, J.; PITTENDRIGH, B. DDT resistance in *Drosophila* correlates with Cyp6g1 over-expression and confers cross-resistance to the neonicotinoid imidacloprid. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 266, n. 4, p. 556–563, 2001.

DEGRANDE, P. E. **Guia prático de controle das pragas do algodoeiro**. Dourados: UFMS, 1998. 60p.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 311-316, 2001.

FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; RIBEIRO, R. da S.; NASCIMENTO, A. R. B. do; SANTOS, A. C. dos; OMOTO, C. Frequency of Cry1F resistance alleles in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, n. 12, p. 2295–2302, 15 mar. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.4274>.

FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; DOS SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150–158, 2014. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026121941400204X>.

FERREIRA, C. B. S.; ANDRADE, F. H. N.; RODRIGUES, A. R. S.; SIQUEIRA, H. A. A.; GONDIM, M. G. C. Resistance in field populations of *Tetranychus urticae* to acaricides and characterization of the inheritance of abamectin resistance. **Crop Protection**, v. 67, p. 77–83, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219414003056>.

FFRENCH-CONSTANT, R. H.; ROUSH, R. T. Resistance Detection and Documentation: The Relative Roles of Pesticidal and Biochemical Assays. In: ROUSH, R. T.; TABASHNIK, B. E. (Ed.). **Pesticide resistance in arthropods**. Boston, MA: Springer US, 1990. p. 4–38.

FINNEY, D. J.; TATTERSFIELD, F. **Probit analysis**. Cambridge University Press; Cambridge, 1952.

GEORGHIOU, G. P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. (eds.), **Pest resistance to pesticides**. Springer, 1983. p. 769–792.

GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of economic entomology**, v. 70, n. 3, p. 319–323, 1977.

GOERGEN, G.; KUMAR, P. L.; SANKUNG, S. B.; TOGOLA, A.; TAMÒ, M. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PloS one**, v. 11, n. 10, p. e0165632, 2016.

GOULD, F.; ANDERSON, A.; JONES, A.; SUMERFORD, D.; HECKEL, D. G.; LOPEZ, J.; MICINSKI, S.; LEONARD, R.; LASTER, M. Initial frequency of alleles for resistance to Bacillus thuringiensis toxins in field populations of *Heliothis virescens*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, n. 8, p. 3519–3523, 15 abr. 1997. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11038613>.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean Caterpillar: A Rearing Procedure and Artificial Medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487–488, 1 ago. 1976.

HERRON, G. A.; ROPHAIL, J.; WILSON, L. J. Chlorfenapyr resistance in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from Australian cotton. **Experimental & Applied Acarology**, v. 34, n. 3, p. 315–321, nov. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-004-0407-z>.

HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; OKUMA, D. M.; FARIAS, J. R.; MIRALDO, L. L.; AMARAL, F. S. A.; OMOTO, C. Near-Isogenic Cry1F-Resistant Strain of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to Investigate Fitness Cost Associated With Resistance in Brazil . **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 854–859, 1 abr. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/tov387>.

HUANG, F. Detection and monitoring of insect resistance to transgenic Bt crops. **Insect Science**, v. 13, n. 2, p. 73–84, 6 abr. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1466-7657.2002.00139.x-i1>.

HUNT, D.; F. TREACY, M. Pyrrole Insecticides: A New Class of Agriculturally Important Insecticides Functioning as Uncouplers of Oxidative Phosphorylation. In: ISHAAYA, I.; DEGHEELE, D. (Ed.). **Insecticides with Novel Modes of Action: Mechanism and Application**. Berlin: Springer-Verlag, 1998. p. 138-151.

INGBER, D. A.; MASON, C. E.; FLEXNER, L. Cry1 Bt Susceptibilities of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 1, p. 361–368, 9 fev. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/tox311>.

ISHAAYA, I. Biochemical Processes Related to Insecticide Action: an Overview. In: ISHAAYA, I. (Ed.). **Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance.** Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2001. p. 1–16.

JAKKA, S. R. K.; KNIGHT, V. R.; JURAT-FUENTES, J. L. Fitness Costs Associated With Field-Evolved Resistance to Bt Maize in Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 1, p. 342–351, 1 fev. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1603/EC13326>.

JIANG, T.; WU, S.; YANG, T.; ZHU, C.; GAO, C. Monitoring Field Populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) for Resistance to Eight Insecticides in China. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 65–73, 1 mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1653/024.098.0112>.

JOHNSON, S. J. Migration and the life history strategy of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in the western hemisphere. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 8, n. 4-5–6, p. 543–549, 1987. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/article/migration-and-the-life-history-strategy-of-the-fall-armyworm-spodoptera-frugiperda-in-the-western-hemisphere/EB7A3F758E7F1436A2FECDE39278CB61>.

LEORA SOFTWARE. **PoloPlus**: a user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software, Berkeley, CA, 2002.

LIU, X.; NING, Y.; WANG, H.; WANG, K. Cross-resistance, mode of inheritance, synergism, and fitness effects of cyantraniliprole resistance in Plutella xylostella. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 157, n. 3, p. 271–278, 28 out. 2015a. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/eea.12361>.

LIU, X.; WANG, H.-Y.; NING, Y.-B.; QIAO, K.; WANG, K.-Y. Resistance Selection and Characterization of Chlorantraniliprole Resistance in Plutella xylostella (Lepidoptera: Plutellidae) . **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 4, p. 1978–1985, 1 ago. 2015b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/tov098>.

LIMA NETO, J. E.; SIQUEIRA, H. Á. A. D. E. Selection of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: plutellidae) to chlorfenapyr Resistance: heritability and the number of genes involved. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 1067-1072, 2017.

MALAQUIAS, J. B.; GODOY, W. A. C.; GARCIA, A. G.; RAMALHO, F. de S.; OMOTO, C. Larval Dispersal of *Spodoptera frugiperda* Strains on Bt Cotton: A Model for Understanding Resistance Evolution and Consequences for its Management. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 16109, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16094-x>.

MARCON, P. C. R. G.; SIEGFRIED, B. D.; SPENCER, T.; HUTCHISON, W. D. Development of diagnostic concentrations for monitoring *Bacillus thuringiensis* resistance in European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of economic entomology**, v. 93, n. 3, p. 925–930, 2000.

MARTINELLI, S.; BARATA, R. M.; ZUCCHI, M. I.; DECASTROSILVA-FILHO, M.; OMOTO, C. Molecular Variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Populations Associated to Maize and Cotton Crops in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 2, p. 519–526, 1 abr. 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/99.2.519>.

MARTINELLI, S.; CLARK, P. L.; ZUCCHI, M. I.; SILVA-FILHO, M. C.; FOSTER, J. E.; OMOTO, C. Genetic structure and molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected in maize and cotton fields in Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v. 97, n. 3, p. 225–231, 2007. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/article/genetic-structure-and-molecular-variability-of-spodoptera-frugiperda-lepidoptera-noctuidae-collected-in-maize-and-cotton-fields-in-brazil/130DF69986218E92EF538AEBFF3983FF>.

METCALF, R. L. Changing Role of Insecticides in Crop Protection. **Annual Review of Entomology**, v. 25, n. 1, p. 219–256, 1 jan. 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.25.010180.001251>.

MOSCARDI, F.; KASTELIC, J. G. Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja, PR. **EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). Resultados de pesquisa de soja**, v. 1985, p. 128, 1984.

NAEEM, A.; FREED, S.; JIN, F. L.; AKMAL, M.; MEHMOOD, M. Monitoring of insecticide resistance in *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) from citrus groves of Punjab, Pakistan. **Crop Protection**, v. 86, p. 62–68, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219416300709>.

NASCIMENTO, A. R. B. do; FARIAS, J. R.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; OMOTO, C. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science**, v. 72, n. 4, p. 810–815, 2016.

NASCIMENTO, A. R. B. do; FRESIA, P.; CÔNSOLI, F. L.; OMOTO, C. Comparative transcriptome analysis of lufenuron-resistant and susceptible strains of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 985, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-015-2183-z>.

NICASTRO, R. L.; SATO, M. E.; ARTHUR, V.; DA SILVA, M. Z. Chlorfenapyr resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*: stability, cross-resistance and monitoring of resistance. **Phytoparasitica**, v. 41, n. 5, p. 503–513, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12600-013-0309-x>.

OKUMA, D. M.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; SILVA, A. P.; OMOTO, C. Inheritance and fitness costs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to spinosad in Brazil. **Pest Management Science**, v. 74, n. 6, p. 1441–1448, 14 dez. 2018. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/ps.4829>. Acesso em: 10 jan. 2018.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R. A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, n. 9, p. 1727–1736, nov. 2015.

OPPENOORTH, F.J., Biochemistry and genetics of insecticide resistance. In: Kerkut G.A., Gilbert L.I. (Eds.), **Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology**, Oxford, vol. 12, p. 731–774. 1985.

OTIM, M. H.; TAY, W. T.; WALSH, T. K.; KANYESIGYE, D.; ADUMO, S.; ABONGOSI, J.; OCHEN, S.; SSERUMAGA, J.; ALIBU, S.; ABALO, G. Detection of sister-species in invasive populations of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) from Uganda. **PloS one**, v. 13, n. 4, p. e0194571, 2018.

PASHLEY, D. P. Host-associated Genetic Differentiation in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a Sibling Species Complex? **Annals of the Entomological Society of America**, v. 79, n. 6, p. 898–904, 1 nov. 1986. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/aesa/79.6.898>.

PASHLEY, D. P.; JOHNSON, S. J.; SPARKS, A. N. Genetic Population Structure of Migratory Moths: the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 78, n. 6, p. 756–762, 1 nov. 1985. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/aesa/78.6.756>.

PASHLEY, D. P.; MARTIN, J. A. Reproductive Incompatibility Between Host Strains of the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 80, n. 6, p. 731–733, 1 nov. 1987. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/aesa/80.6.731>.

PIMPRALE, S. S.; BESCO, C. L.; BRYSON, P. K.; BROWN, T. M. Increased Susceptibility of Pyrethroid-Resistant Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Chlorfenapyr. **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 1, p. 49–54, 1 fev. 1997. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/90.1.49>.

POGUE, G.M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, Philadelphia, v. 43, p. 1-202, 2002.

RÍOS-DÍEZ, J. D.; SALDAMANDO-BENJUMEA, C. I. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Strains From Central Colombia to Two Insecticides, Methomyl and Lambda-Cyhalothrin: A Study of the Genetic Basis of Resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 5, p. 1698–1705, 1 out. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1603/EC11079>.

RÍOS-DÍEZ, J. D.; SIEGFRIED, B.; SALDAMANDO-BENJUMEA, C. I. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Strains from Central Colombia to Cry1Ab and Cry1Ac Entotoxins of *Bacillus thuringiensis*. **Southwestern Entomologist**, v. 37, n. 3, p. 281–293, 1 set. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3958/059.037.0304>.

ROBERTSON, J. L.; JONES, M. M.; OLGUIN, E.; ALBERTS, B. **Bioassays with arthropods**.CRC press, 2017.

ROBERTSON, J. L.; PREISLER, H. K.; NG, S. S.; HICKLE, L. A.; GELERNTER, W. D. Natural Variation: A Complicating Factor in Bioassays with Chemical and Microbial Pesticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 88, n. 1, p. 1–10, 1 fev. 1995. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/88.1.1>.

ROUSH, R. T.; DALY, J. C. The Role of Population Genetics in Resistance Research and Management. In: ROUSH, R. T.; TABASHNIK, B. E. (Ed.). - **Pesticide Resistance in Arthropods**. Boston, MA: Springer US, 1990. p. 97–152.

ROUSH, R. T.; MCKENZIE, J. A. Ecological Genetics of Insecticide and Acaricide Resistance. **Annual Review of Entomology**, v. 32, n. 1, p. 361–380, 1 jan. 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.32.010187.002045>.

ROUSH, R. T.; MILLER, G. L. Considerations for Design of Insecticide Resistance Monitoring Programs. **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 2, p. 293–298, 1 abr. 1986. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/79.2.293>.

RStudio Team. **RStudio**: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA, 2015.

SANTOS-AMAYA, O. F.; TAVARES, C. S.; RODRIGUES, J. V. C.; CAMPOS, S. O.; GUEDES, R. N. C.; ALVES, A. P.; PEREIRA, E. J. G. Fitness costs and stability of Cry1Fa resistance in Brazilian populations of *Spodoptera frugiperda*. **Pest Management Science**, v. 73, n. 1, p. 35–43, 5 maio 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.4312>.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide statistics**. Cary, 2004

SCOTT, J. G. Investigating mechanisms of insecticide resistance: methods, strategies, and pitfalls. In: ROUSH, R. T.; TABASHNIK, B. E. (Ed.). - **Pesticide Resistance in Arthropods**. Boston, MA: Springer US, 1990. p. 39-57.

SCOTT, J. G.; MATSUMURA, F. Characteristics of a DDT-induced case of cross-resistance to permethrin in *Blattella germanica*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 16, n. 1, p. 21–27, 1981.

SHEPPARD, C. D.; JOYCE, J. A. Increased Susceptibility of Pyrethroid-Resistant Horn Flies (Diptera: Muscidae) to Chlorfenapyr. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n. 2, p. 398–400, 1 abr. 1998. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/91.2.398>.

SHIN, E.-H.; KIM, N.-J.; KIM, H. K.; PARK, C.; LEE, D.-K.; AHN, Y. J.; CHANG, K.-S. Resistance of field-collected populations of *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae) to insecticides in the Republic of Korea. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 15, n. 1, p. 1–4, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226861511000896>.

SIEGFRIED, B. D.; SPENCER, T.; CRESPO, A. L.; STORER, N. P.; HEAD, G. P.; OWENS, E. D.; GUYER, D. Ten Years of Bt Resistance Monitoring in the European Corn Borer: What We Know, What We Don't Know, and What We Can Do Better. **American Entomologist**, v. 53, n. 4, p. 208–214, 1 out. 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/ae/53.4.208>.

SIMS, S. B.; GREENPLATE, J. T.; STONE, T. B.; CAPRIO, M. A.; GOULD, F. L. Monitoring strategies for early detection of Lepidoptera resistance to *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins. 1996.

SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, p. 82–87, 1979.

STORER, N. P.; BABCOCK, J. M.; SCHLENZ, M.; MEADE, T.; THOMPSON, G. D.; BING, J. W.; HUCKABA, R. M. Discovery and Characterization of Field Resistance to Bt Maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 4, p. 1031–1038, 1 ago. 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1603/EC10040>.

TABASHNIK, B. E. Determining the Mode of Inheritance of Pesticide Resistance with Backcross Experiments. **Journal of Economic Entomology**, v. 84, n. 3, p. 703–712, 1 jun. 1991. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/84.3.703>.

TABASHNIK, B. E.; CROFT, B. A. Managing Pesticide Resistance in Crop-Arthropod Complexes: Interactions Between Biological and Operational Factors 1. **Environmental Entomology**, v. 11, n. 6, p. 1137–1144, 1 dez. 1982. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/ee/11.6.1137>.

TABASHNIK, B. E.; CUSHING, N. L.; JOHNSON, M. W. Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) Resistance to Insecticides in Hawaii: Intra-Island Variation and Cross-Resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 80, n. 6, p. 1091–1099, 1 dez. 1987. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/80.6.1091>.

TABASHNIK, B. E.; MOTA-SANCHEZ, D.; WHALON, M. E.; HOLLINGWORTH, R. M.; CARRIÈRE, Y. Defining Terms for Proactive Management of Resistance to Bt Crops and Pesticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 2, p. 496–507, 1 abr. 2014. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1603/EC13458>.

TAYLOR, C. E.; GEORGHIOU, G. P. Suppression of Insecticide Resistance by Alteration of Gene Dominance and Migration. **Journal of Economic Entomology**, v. 72, n. 1, p. 105–109, 1 fev. 1979. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/72.1.105>.

TREACY, M.; MILLER, T.; BLACK, B.; GARD, I.; HUNT, D.; HOLLINGWORTH, R. M. Uncoupling activity and pesticidal properties of pyrroles. **Biochemical Society Transactions**, v. 22, n. 1, p. 244-247, 1 fev. 1994. Disponível em: <http://www.biochemsoctrans.org/content/22/1/244.abstract>.

UESUGI, R.; GOKA, K.; OSAKABE, M. H. Genetic Basis of Resistances to Chlorfenapyr and Etoxazole in the Two-Spotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 6, p. 1267–1274, 1 dez. 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-95.6.1267>.

ULLAH, S.; SHAH, R. M.; SHAD, S. A. Genetics, realized heritability and possible mechanism of chlorfenapyr resistance in Oxycarenus hyalinipennis (Lygaeidae: Hemiptera). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 133, p. 91–96, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357516300141>.

UZAYISENGA, B.; WAWERU, B.; KAJUGA, J.; KARANGWA, P.; UWUMUKIZA, B.; EDGINGTON, S.; THOMPSON, E.; OFFORD, L.; CAFÁ, G.; BUDDIE, A. First record of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae), in Rwanda. **African Entomology**, v. 26, n. 1, p. 244–246, 2018.

VALICENTE, F. H.; DA COSTA, E. F. Controle da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith), com o *Baculovirus spodoptera*, aplicado via água de irrigação. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 61-67, 1991.

VAN LEEUWEN, T.; STILLATUS, V.; TIRRY, L. Genetic analysis and cross-resistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Experimental & Applied Acarology**, v. 32, n. 4, p. 249, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/B:APPA.0000023240.01937.6d>.

VÉLEZ, A. M.; SPENCER, T. A.; ALVES, A. P.; CRESPO, A. L. B.; SIEGFRIED, B. D. Fitness costs of Cry1F resistance in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Applied Entomology**, v. 138, n. 5, p. 315–325, 28 nov. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jen.12092>.

VILARINHO, E. C.; FERNANDES, O. A.; HUNT, T. E.; CAIXETA, D. F. Movement of *Spodoptera frugiperda* Adults (Lepidoptera: Noctuidae) in Maize in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 94, n. 3, p. 480–488, 1 set. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1653/024.094.0312>.

WANG, D.; QIU, X.; REN, X.; NIU, F.; WANG, K. Resistance selection and biochemical characterization of spinosad resistance in Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 95, n. 2, p. 90–94, 2009. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357509000819>.

WANG, X.; WANG, J.; CAO, X.; WANG, F.; YANG, Y.; WU, S.; WU, Y. Long-term monitoring and characterization of resistance to chlorfenapyr in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from China. **Pest Management Science**, v. 0, n. ja, 25 set. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.5222>.

WELCH, K. L.; UNNITHAN, G. C.; DEGAIN, B. A.; WEI, J.; ZHANG, J.; LI, X.; TABASHNIK, B. E.; CARRIÈRE, Y. Cross-resistance to toxins used in pyramided Bt crops and resistance to Bt sprays in *Helicoverpa zea*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 149-156, 2015.

XI, J.; PAN, Y.; BI, R.; GAO, X.; CHEN, X.; PENG, T.; ZHANG, M.; ZHANG, H.; HU, X.; SHANG, Q. Elevated expression of esterase and cytochrome P450 are related with lambda–cyhalothrin resistance and lead to cross resistance in Aphis glycines Matsumura. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 118, p. 77–81, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357514002296>.

YANG, F.; MORSELLO, S.; HEAD, G. P.; SANSONE, C.; HUANG, F.; GILREATH, R. T.; KERNS, D. L. F2 screen, inheritance and cross-resistance of field-derived Vip3A resistance in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected from Louisiana, USA. **Pest Management Science**, v. 74, n. 8, p. 1769–1778, 28 nov. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.4805>.

YOO, D.-H.; SHIN, E.-H.; LEE, D.-K.; AHN, Y. J.; CHANG, K.-S.; KIM, H.-K.; KIM, S.-Y.; PARK, C. Insecticide susceptibility of field-collected populations of Culex tritaeniorhynchus in the Republic of Korea. **Journal of Insect Science**, v. 13, n. 1, p. 2, 1 jan. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1673/031.013.0201>.

ZHANG, S.; ZHANG, X.; SHEN, J.; MAO, K.; YOU, H.; LI, J. Susceptibility of field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to a selection of insecticides in Central China. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 132, p. 38–46, 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357516300062>.