

BASES PARA O MANEJO DA RESISTÊNCIA DE *Liriomyza sativae* (BLANCHARD)

(DIPTERA: AGROMYZIDAE) A INSETICIDAS DE RISCO REDUZIDO

por

PAOLO AUGUSTUS FREITAS SILVA

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

RESUMO

O uso abusivo e frequente de inseticidas e uma visível falha no controle de *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) em áreas produtoras de tomate, melão e melancia, têm levantado suspeitas em relação à ocorrência de resistência de mosca minadora aos inseticidas utilizados nestas culturas. Estudos anteriores mostraram que moscas do gênero *Liriomyza* possuem uma ampla capacidade de adquirir resistência a vários inseticidas com diferentes princípios ativos. O conhecimento do status atual de suscetibilidade desta praga aos inseticidas registrados e o estabelecimento de uma linha base para os inseticidas em fase de registro é imprescindível para retardar o desenvolvimento da resistência. O presente trabalho teve como objetivo averiguar a existência de resistência de *L. sativae* a inseticidas com o intuito de constatar falhas de controle. Para isto, populações de *L. sativae* foram coletadas na região agreste de Pernambuco e na mesorregião do oeste do Rio Grande do Norte. As populações foram expostas aos inseticidas abamectina, espinosade, espinetoram, clorantraniliprole e ciantraniliprole. Para a condução dos bioensaios de concentração-mortalidade utilizou-se a metodologia de imersão de folhas. As populações apresentaram em geral baixas razões de tolerância aos inseticidas testados, com exceção das populações Pau branco¹ (35,54 vezes) e Mossoró 2 (13,07 vezes) que apresentaram tolerância moderada aos inseticidas

clorantraniliprole e espinosade, respectivamente. Para os inseticidas abamectina, ciantraniliprole e espinetoram as maiores razões de tolerância encontradas foram 1,8 para a população Mossoró 2; 7,2 para a população Camocim e 3,1 vezes para a população Mossoró 2 , respectivamente, refletindo uma variação natural entre as populações. As variações das médias de atividade enzimática encontradas nas populações testadas refletem uma variação natural, não podendo ser atribuída uma relação direta com a tolerância encontrada.

PALAVRAS-CHAVE: Avermectinas, diamidas, espinosinas, metabolismo, manejo de resistência.

BASIS FOR RESISTANCE MANAGEMENT OF *Liriomyza sativae* (BLANCHARD)
(DIPTERA: AGROMYZIDAE) TO REDUCED RISK INSECTICIDES

By

PAOLO AUGUSTUS FREITAS SILVA

(Under direction of Professor Herbert Álvaro Abreu de Siqueira)

ABSTRACT

The abusive and frequent use of insecticides and a visible failure in *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) control in tomatoes, melon, and watermelon production areas have raised questions about the occurrence of leafminer resistance to insecticides used in these crops. Previous studies have shown that the genus *Liriomyza* flies have extensive ability to acquire resistance to several insecticides with different active ingredients. Knowledge of the current status of this pest susceptibility to registered insecticides and establishing a baseline for insecticides in the registration phase is essential to slow the development of resistance. The present study aimed to verify the existence of resistance to insecticides in order to explain these control failures. Thus, populations of *L. sativae* were collected in the agreste region of Pernambuco and west of Rio Grande do Norte. The populations were exposed to abamectin, spinosad, spinetoram, cloranthraniliprole and cyantraniliprole. To achieve the concentration-mortality bioassays were used the immersion methodology. Populations had generally low ratios of tolerance to insecticides tested, with exception of Pau branco 1 and Mossoró 2 populations that showed moderate tolerance to cloranthraniliprole and spinosad, respectively. For abamectin, cyantraniliprole and spinetoram the biggest tolerance reasons found were 1.8 for population Mossoró 2, 7.2 for population Camocim and 3.1 fold for population Mossoró 2, respectively,

reflecting natural variation among the populations. Variations of enzyme activity means found probably reflect a natural response and cannot be attributed to a direct relationship with the tolerance.

KEY WORDS: Avermectins, diamids, spynosins, metabolism, management of resistance.

BASES PARA O MANEJO DA RESISTÊNCIA DE *Liriomyza sativae* (BLANCHARD)
(DIPTERA: AGROMYZIDAE) A INSETICIDAS DE RISCO REDUZIDO

por

PAOLO AUGUSTUS FREITAS SILVA

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

RECIFE - PE

Fevereiro–2014

BASES PARA O MANEJO DA RESISTÊNCIA DE *Liriomyza sativae* (BLANCHARD)
(DIPTERA: AGROMYZIDAE) A INSETICIDAS DE RISCO REDUZIDO

por

PAOLO AUGUSTUS FREITAS SILVA

Comitê de Orientação:

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira – UFRPE

Elton Lucio de Araujo – UFRSA

Alberto Belo Esteves Filho - UFRPE

BASES PARA O MANEJO DA RESISTÊNCIA DE *Liriomyza sativae* (BLANCHARD)
(DIPTERA: AGROMYZIDAE) A INSETICIDAS DE RISCO REDUZIDO

por

PAOLO AUGUSTUS FREITAS SILVA

Orientador:

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira – UFRPE

Examinadores:

Elton Lucio de Araujo – UFRSA

Manoel Guedes Corrêa Gondim Júnior – UFRPE

Alberto Belo Esteves Filho – UFRPE

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais **José Nazareno da Silva e Maria Luciana de Freitas Silva** pelo exemplo e esforço pela minha educação.*

*Aos Meus irmãos **Vera Lúcia e Nazareno Júnior** e a minha namorada **Sonelly Medeiros** pelo apoio.*

AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade de obtenção deste título.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa.

Ao professor Herbert Álvaro Abreu de Siqueira pela orientação e confiança depositada para realização deste trabalho.

Ao professor Elton Lucio de Araujo pelos ensinamentos passados que me fizeram chegar até aqui.

Aos professores do PPGEA pelos ensinamentos passados, minha eterna gratidão.

Ao amigo Alberto Belo pelos conselhos e momentos de descontração durante o curso.

À amiga Andresa Cristina pela agradável amizade e auxílio nos momentos necessários no decorrer dos experimentos.

À amiga Lilian Ribeiro, pela amizade e momentos de descontração no decorrer do curso.

Ao amigo Tadeu Martins, pelos conselhos durante minha formação, mas principalmente pela amizade.

Ao amigo Wellington Marques pela amizade e exemplo como pessoa. Sempre dando palavras de incentivo mostrando que somos capazes de realizar qualquer trabalho. Muito grato.

Aos amigos, Ewerton Marinho e Marcos Ribamar pelo auxílio nas coletas do material utilizado nesta pesquisa.

Aos demais amigos de laboratório Bárbara, Flavia, Hugo, Jaconias, Kamila, Lucas, Marcelo, Mateus, Nayara e Vitória. Pelo agradável convívio. Minha gratidão.

Aos Amigos do PPGEA Agna, Aline, André, Carla, Carlos Henrique, Cecília, Cynara, Clara, Cleiton, Débora, Douglas, Eduardo, Elaine, Felipe, Glaucilane, Guilherme, Kamila, Karla Ayres, Karla, Luziani, Mariana, Mário Jorge, Mauricéia, Nicolle, Sibebe, Martin, Paulo, Robério, Sérgio, Thiago, Vaneska e Wagner.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vii
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO.....	01
IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	01
BIOECOLOGIA DE MOSCAS MINADORAS	02
MANEJO DE MINADORAS	04
LITERATURA CITADA.....	07
2 SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE MOSCA MINADORA, <i>Liriomyza</i> <i>sativae</i> Blanchard, A INSETICIDAS DE RISCO REDUZIDO	11
RESUMO	12
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	18
RESULTADOS.....	23
DISCUSSÃO.....	25
AGRADECIMENTOS.....	29
LITERATURA CITADA.....	29

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A população mundial está atualmente em torno de 7 bilhões de habitantes, com uma perspectiva de crescimento anual de 70 milhões de indivíduos, o que elevará essa densidade para 9,2 bilhões em 2050 sendo esperado um aumento de 70% na demanda de produção de alimentos (FAO 2009). A redução das perdas devido à presença de pragas agrícolas é um dos grandes desafios da agricultura contemporânea, e de acordo com Oerke (2005), 35% do potencial de rendimento de uma cultura é reduzido devido à presença de pragas na pré-colheita. Uma das táticas utilizadas para minimização dessas perdas é o uso de inseticidas. No entanto, segundo Georghiou (1983), o uso incorreto de inseticidas tem influenciado a evolução da resistência em artrópodes, aumentando a frequência de aplicação e quantidade de princípios ativos utilizados, o que resulta na ineficácia do formulado fazendo com que seja necessária a substituição do mesmo por outra molécula.

Importância Econômica

As moscas minadoras do gênero *Liriomyza* são dípteros da família Agromyzidae e ocorre com maior frequência em regiões temperadas possuindo mais de 300 espécies com distribuição mundial. Embora haja um número considerável de espécies, apenas 23 têm importância econômica por ocasionarem injúrias a culturas agrícolas e plantas ornamentais (Parrela 1987; Shepard *et al.* 1998; Murphy & Lassale 1999; Rauf *et al.* 2000).

A mosca minadora afeta direta e indiretamente diversas culturas causando prejuízos como a redução da capacidade fotossintética da planta, atuando como vetor de doenças, destruição das mudas, depreciação de plantas ornamentais o que compromete sua estética, estresse hídrico,

abscisão das folhas, atrofiamento das plantas, além da redução do teor de sólidos solúveis dos frutos (Elmore & Ranney 1954; Musgrave, Poe & Bennett 1975; Zitter & Tsai 1977; Parrella, Allen & Morishita 1981; Johnson *et al.* 1983, Araujo *et al.* 2007).

Segundo Minkenberg & Van Lenteren (1986), a mosca minadora é considerada praga em plantações comerciais de tomate em todo o mundo, e caso não seja controlada ainda na fase de plântula, pode ocasionar uma redução significativa do rendimento e maturação dos frutos levando a um atraso no desenvolvimento do tomateiro (Ereb *et al.* 1993). Como exemplos têm-se as perdas causadas por esta praga na década de 80 na Oceania onde sua presença reduziu 70% da produção de tomate e no estado da Califórnia, nos Estados Unidos, ocasionou prejuízos em torno de 93 milhões de dólares a indústrias de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) (Parrella 1987, Wanterhouse & Norris 1987).

No Brasil, esse inseto-praga está presente na maioria dos estados ocasionando perdas em culturas como alface (*Lactuca sativa*), batata (*Solanum tuberosum*), melão (*Cucumis melo*), melancia (*Citrullus lanatus*) e tomate (*Solanum lycopersicum*), assumindo dessa forma, importância econômica para as culturas citadas. No entanto, apenas três espécies merecem um maior destaque, sendo elas: *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard), *Liriomyza trifolii* (Burgess) e *Liriomyza sativae* (Blanchard). Estas espécies geralmente encontram-se associadas a 14 famílias de plantas (Gallo *et al.* 2002). No estado do Rio Grande do Norte, houve perda de 10 a 15% de produção em área de meloeiro na safra de 2004 e 2005 devido a presença da *L. sativae*, demonstrando a importância dessa praga para a região (Araujo *et al.* 2007).

Bioecologia de Moscas Minadoras

As fêmeas da mosca minadora ovipositam endofiticamente entre as duas camadas epidérmicas da folha, mais precisamente no mesófilo foliar, o qual é preenchido pelas células do parênquima. Seus ovos possuem 0,28 mm de comprimento x 0,15 mm de diâmetro e uma

coloração esbranquiçada e ligeiramente translúcida. Em condições de laboratório ($T = 26 \pm 2^\circ\text{C}$ e $\text{UR} = 60\%$) o desenvolvimento embrionário dura cerca de quatro dias (Parrella 1987, Araujo *et al.* 2013).

As larvas desta praga são vermiformes e passam por três ínstares. Desenvolvem-se no mesofilo foliar e ao se alimentar das células do parênquima formam galerias ou minas que caracterizam a presença deste inseto na lavoura. Durante o desenvolvimento larval não há distinção da cabeça e o resto do corpo. As larvas apresentam coloração pálida modificando-se para uma coloração alaranjada no final do ciclo larval, atingindo cerca de 3 mm de comprimento. Após o desenvolvimento a larva sai da folha e se transforma em pupa, podendo empupar tanto no solo quanto na própria folha (Guimarães *et al.* 2009).

Os adultos desse díptero possuem de 1 a 3 mm possuindo uma coloração preta e presença de manchas amarelas no escutelo. (Guimarães *et al.* 2009). Parrella (1987) e Araujo *et al.* (2013),concluíram que as fêmeas de mosca minadora geralmente são mais longevas em relação aos machos, enquanto as fêmeas vivem em média 19 dias , os machos vivem em média 16 dias. As fêmeas de *Liriomyza* possuem o ovipositor tubular para realizar puncturas nas folhas a fim de promover a exsudação de substâncias foliares para sua alimentação e os machos aproveitam-se dessa exsudação para se alimentarem (Guimarães *et al.* 2009). De acordo com Oatman & Michelbacher (1958), uma quantidade elevada de puncturas nas folhas do hospedeiro pode ocasionar prejuízo na atividade fisiológica normal da planta de forma a causar um aspecto de necrose nas folhas.

O acasalamento da mosca minadora pode ocorrer a qualquer hora do dia, entretanto este geralmente acontece durante a madrugada (Parrella 1987). Cada fêmea oviposita em média 100 a 130 ovos durante seu ciclo de vida, todavia, em condições ótimas pode ovipositar até 250 ovos, sendo a maior porcentagem de oviposição nos primeiros dias de sua vida (Guimarães *et al.* 2009).

Devido à semelhança morfológica apresentada pelos agromizídeos, a taxonomia desses insetos tornou-se muito complicada no passado. Além disso, as espécies desta família possuem hospedeiros em comum, o que dificulta ainda mais a identificação desta praga (Parrella 1987).

Recentemente foram realizados trabalhos utilizando a técnica de sequenciamento de determinadas regiões do DNA com o objetivo de identificação das espécies (“DNA barcoding”). Scheffer (2000) e Scheffer & Lewis (2001) afirmaram que haveria diferenças gênicas mitocondriais e nucleares entre as espécies *L. huidobrensis* e *L. langei*, no entanto, estas duas espécies não possuíam diferenças morfológicas.

Estudando uma sequência da porção mitocondrial da citocromo oxidase I (COI) de 258 moscas que ocorriam em 16 hospedeiros nas Filipinas, Scheffer *et al.* (2006) compararam com o banco de dados de exemplares de várias partes do mundo, encontrando vários clados das espécies *L. trifolli*, *L. sativae* e *L. huidobrensis* o que levou a indícios que haveria uma possível existência de um complexo de espécies.

Manejo de Minadoras

A aplicação de inseticidas é o método mais amplamente utilizado para o controle da mosca minadora e desde a década de 1980. Dois inseticidas vem sendo mais utilizados para controlar esta praga, sendo estes a ciromazina e a abamectina, onde o primeiro atua como regulador de crescimento e o segundo atua como agonista do ácido γ -aminobutírico (Cox *et al.* 1995, Ferguson 2004, Reitz *et al.* 2013). Segundo Reitz *et al.* (2013), apesar do longo tempo em que esses produtos são usados poucos problemas de resistência foram relatados. No entanto, foi observado que as moscas do gênero *Liriomyza* têm um grande potencial para desenvolver resistência a vários inseticidas o que tem dificultado o controle eficiente destes insetos (Parrella 1987, Parrella & Keil 1984). De acordo com Whalon *et al.* (2008), a resistência é um fenômeno mundial e atualmente estima-se que mais de 500 espécies de artrópodes desenvolveram resistência a um ou mais

pesticidas. A resistência a inseticidas caracteriza-se pela habilidade herdada de um organismo em tolerar doses de um formulado que antes seriam letais para a maioria dos indivíduos da sua espécie, levando a uma alteração na sua frequência genética (Croft *et al.* 1988). Portanto, a resistência é pré-adaptativa, evoluindo com a pressão de seleção sobre as populações de insetos.

Os mecanismos pelos quais os insetos sobrevivem aos inseticidas envolvem a redução da penetração através da cutícula do inseto, diminuição da sensibilidade no sítio de ação e destoxificação enzimática dos inseticidas (Hemingway 2000). Em relação aos mecanismos de resistência metabólicos em insetos, três sistemas enzimáticos merecem destaque: esterases, glutathione-S-transferases e monoxigenases e de acordo com Brown & Brogdon (1987), Hemingway (1989) e Hemingway *et al.* (1995) na maioria dos casos de resistência a inseticidas é possível observar ou detectar alterações na quantidade dessas enzimas quando esta é comparada a homólogos mais sensíveis. Segundo Hemingway (2000), existem genes estruturais relacionados com o aumento dessas enzimas em insetos resistentes. Wei *et al.* (2013) relataram após submeterem populações de *L. sativae* a pressão de seleção e análise enzimática com abamectina, que a resistência a esse inseticida estaria ligada a presença da enzima glutathione-S-transferase evidenciando presença de resistência metabólica.

A alta taxa reprodutiva e ciclo curto de *Liriomyza* spp., aliado ao uso excessivo de inseticidas tem levado populações a desenvolver resistência a vários inseticidas (Jones *et al.* 1986, Parrella 1987, Keil & Parrella 1990). Conroy (2007) afirma que 22% dos produtores de plantas ornamentais em Ontário, no Canadá, relataram falhas de controle com os princípios ativos registrados para *L. trifolii* sugerindo que as populações daquela localidade estariam resistentes a abamectina e ciromazina. Ferguson (2004) e Ferguson & Pineda (2010) relataram problemas de tolerância da mosca minadora a abamectina e ciromazina e constataram uma resistência extremamente alta a espinosade em populações originárias de estufas comerciais de plantas

ornamentais nos Estados Unidos. Conroy *et al.* (2008), observaram tolerância de *L. trifolli* a abamectina e ciromazina em populações do Canadá, no entanto não houve evidências de resistência a espinosade e clorantraniliprole nas populações testadas quando comparadas a população padrão. Wei *et al.* (2013) relataram após realizar pressão de seleção em duas populações com abamectina, que houve um aumento na tolerância destas duas populações ao formulado deixando aparente a possibilidade do desenvolvimento de resistência de *L. sativae* a este princípio ativo.

De acordo com Guedes *et al.* (1994), Picanço *et al.* (1995) e Siqueira *et al.* (2000), a evolução da resistência ocorre nos insetos devido: a pressão de seleção ocasionada pelas aplicações sucessivas de inseticidas, princípios ativos empregados e eliminação de inimigos naturais da praga. Além disso, o uso de inseticidas sem orientação acarreta outros problemas como as intoxicações de produtores e consumidores através dos resíduos dos agrotóxicos utilizados, contaminação do meio-ambiente além de onerar os custos da produção.

Os poucos produtos utilizados e a impossibilidade de se rotacionar os formulados de forma adequada, aliada a ampla capacidade de insetos do gênero *Liriomyza* de desenvolver resistência são fatores que podem contribuir para o aumento da tolerância desses insetos aos princípios ativos empregados para o seu controle, com isso, estes produtos químicos podem se tornar ineficazes no futuro (Parrela, 1987; Guimarães *et al* 2009).

Espinetoram e ciantraniliprole são produtos que estão em fase de registro para o controle de *L. sativae* devido a sua eficiência contra minadores. No Rio Grande do Norte, na cultura do meloeiro, a utilização de inseticidas para o controle da mosca minadora ainda é dificultado devido à quantidade de princípios ativos registrados para a cultura e falhas de controle são facilmente observadas em campo. Logo, o estabelecimento de uma linha base de

suscetibilidade para esses produtos é o passo inicial para que haja um monitoramento da resistência a fim de evitar sua evolução.

De fato, não existem trabalhos publicados na área de resistência de *L. sativae* a inseticidas no Brasil. Segundo Ferguson (2004), a dificuldade do método de bioensaio é um obstáculo que impede a determinação do status atual da resistência da mosca minadora aos inseticidas empregados. Por esta razão, este trabalho teve a proposta de avaliar a eficiência dos princípios ativos utilizados no controle desta praga em diferentes populações de *L. sativae* coletadas em cultivos comerciais de melancia, melão e tomate e, desta forma, fornecer subsídios para o desenvolvimento de programas de manejo de resistência a fim de prevenir, retardar ou reverter a evolução da resistência à inseticidas. Além disso, adaptar uma metodologia de bioensaio para esta praga.

Neste contexto, foram realizados bioensaios em laboratório para se determinar curvas de concentração-mortalidade para as populações coletadas em campo e mantidas em laboratório, utilizando diferentes classes de inseticidas. Neste caso a hipótese testada foi a de que: (i) populações de *L. sativae* podem estar resistentes aos princípios ativos utilizados para o seu controle e esta resistência pode afetar o uso futuro dos produtos em fase de registro.

Literatura Citada (AS CITAÇÕES DEVEM TER A

SEGUNDA LINHA ABAIXO DA QUARTA

LETRA – VER AS NROMAS)

Araujo, E.L., C.H.F. Nogueira, A.C. Menezes Netto & C.E.S. Bezerra. 2013. Biological aspects of the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera:Agromyzidae) on melon (*Cucumis melo* L.). Cienc. Rural 43: 579-582.

- Araujo, E.L., D.R.R. Fernandes, L.D. Geremias, A.C. Menezes Netto & M.A. Filgueira. 2007.** Mosca minadora associada à cultura do meloeiro no semiárido do Rio Grande do Norte. *R. Caatinga* 20: 210-212.
- Brown, T.M. & W.G. Brogdon. 1987.** Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 145-162.
- Conroy, L., C.D. Scott-Dupree, C.R. Harris, A.B. Broadbent & G.D. Murphy. 2007.** Susceptibility of two strains of American serpentine leafminer (*Liriomyza trifolii* (burgess)) to registered and reduced risk insecticides in ontario. *J. Ent. Soc. Ont.* 139: 41–47.
- Cox, D.L., M.D. Remick, J.A. Lasota, & R.A. Dybas. 1995.** Toxicity of avermectins to *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) larvae and adults. *J. Econ. Entomol.* 88: 1415-1419.
- Croft, B.A., B.A. Roff & B. Van. 1988.** Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. *Exp. Appl. Acarol.* 4: 277-300.
- Elmore, J.C. & C.A. Ranney Jr. 1954.** Injury to pepper plants by the pea leafminer. *J. Econ. Entomol.* 47: 357-58.
- Ereb, W.A., R.K. Lindquist, N.J. Flickinger & M.L. Casey, 1993.** Resistance of selected interspecific *Lycopersicon* hybrids to *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae). *J. Econ Entomol.* 86: 100–109.
- FAO. 2009.** Declaration of the world summit on food security. Rome. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 7p.
- Ferguson, J.S. 2004.** Development and stability of insecticide resistance in the leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine, abamectin and spinosad. *J. Econ. Entomol.* 97: 112-119.
- Ferguson S. & O. Pineda. 2010.** Putative polymerase chain reaction markers for insecticide resistance in the leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine and abamectin. *J. Econ. Entomol.* 103:2197-2203.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira neto, R.P.L. Carvalho, G.S. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zuchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & Omoto, C. 2002.** *Entomologia agrícola*, Piracicaba, Fealq, 920p.
- Georghiou, G.P. 1983.** Management of resistance in arthropods, p. 769-792. In G.P. Georghiou & T. Saito (eds.), *Pest Resistance to Pesticides: Challenges and Prospects*. New York, Plenum Press, 797p.
- Guedes, R.N.C., M.C. Picanço, A.L. Matioli & R.M. Rocha. 1994.** Efeito de inseticidas e sistemas de condução do tomateiro no controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *An. Soc. Entomol. Bras.* 23: 321-325.

- Guimarães, J.A., M.M. Filho, V.R. Oliveira, R.S. Liz & E.L. Araujo. 2009.** Biología e manejo de mosca minadora no meloeiro. Embrapa Hortaliças, 9p. (Circular técnica 77).
- Hemingway, J. 2000.** The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 30: 1009-1015.
- Hemingway, J. 1989.** A note on simple biochemical methods for resistance detection and their field application in Sri Lanka. *Pestic. Sci.* 27: 281–285.
- Hemingway, J., G.J Small, S. Lindsay & F.H. Collins. 1995.** Combined use of biochemical, immunological and molecular assays for infection, species identification and resistance detection in field populations of *Anopheles* (Diptera: Culicidae). In: Symondson, W.O.C., Lydell, E. (Eds.), *The Ecology of Agricultural Pests: Bio- chemical Approaches*. Chapman and Hall, London
- Johnson, M.W., S.C. Welter, N.C. Toscano, I.P. Ting & J.T. Trumble, 1983.** Reduction of tomato leaflet photosynthesis rates by mining activity of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). *J. Econ. Entomol.* 76: 1061-1063.
- Jones, V.P., Parrella, M.P. & D.R. Hodel. 1986.** Biological control of leafminers in greenhouse chrysanthemums. *Calif. Agr.* 40: 10-12.
- Keil, C.B. & M.P. Parrella. 1990.** Characterization of insecticide resistance in two colonies of *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae). *J. Econ. Entomol.* 83: 18-6.
- Minkenbergh, O.P.J.M. & J.C. van Lenteren, 1986.** The leafminers *Liriomyza bryonidae* and *L. trifolii* (Diptera: Agromyzidae), their parasites and host plants: a review. *Agric. Univ. Wageningen*. p. 86-250.
- Murphy, S.T. & J. Lasalle. 1999.** Balancing biological control strategies in the IPM of New World invasive *Liriomyza* leafminers in field vegetable crops. *Biocontrol* 20: 91-104.
- Musgrave, C.A., S.L. Poe & D.R. Bennett. 1975.** Leafminer population estimation in polycultured vegetables. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 88: 156-160.
- Oatman, E.R. & A.E. Michelbacher. 1958.** The melon leaf miner, *Liriomyza pictella* (Thomson) (Diptera: Agromyzidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 51: 557-566.
- Oerke, E.C. 2005.** Crop losses to pests. *J. Agr. Sci.* 144: 31–43.
- Parrella, M.P. 1987.** Biology of *Liriomyza*. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 210-226.
- Parrella, M.P. & C.B. Keil. 1984.** Insect pest management: the lesson of *Liriomyza*. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 30: 22-25.
- Parrella, M.P., W.W. Allen & P. Morishita 1981.** Leafminer species causes California mum growers new problems. *Calif. Agr.* 35: 28-30.

- Picanço M., R.N.C. Guedes, G.L.D. Leite, P.C.R. Fontes & E.A. Silva. 1995.** Incidência de *Scrobipalpuloides absoluta* em tomateiro sob diferentes sistemas de tutoramento e de controle químico. Hort. Bras. 13: 180-183.
- Rauf, A., B.M. Shepard, & M.W. Johnson. 2000.** Leafminers in vegetables, ornamental plants and weeds in Indonesia: surveys of host crops, species composition and parasitoids. Int. J. Pest Manage. 46: 257-66.
- Reitz, S.R., Y.L. Gao & Z.R. Lei. 2013.** Insecticide Use and the Ecology of Invasive *Liriomyza* Leafminer Management, p. 233-253. In Insecticides - Development of Safer and More Effective Technologies, Prof. Stanislav Trdan (Ed.), InTech, Rijeka, Croatia
- Scheffer, S.J. 2000.** Molecular evidence of cryptic species within the *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). J. Econ. Entomol. 93: 1146-1151.
- Scheffer, S.J. & M.L. Lewis, 2001.** Two nuclear genes confirm mitochondrial evidence of cryptic species within *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Ann. Entomol. Soc.Am., 94: 648-653.
- Scheffer, S.J., M.L. Lewis & R.C. Joshi, 2006.** DNA Barcoding Applied to Invasive Leafminers (Diptera: Agromyzidae) in the Philippines. Ann. Entomol. Soc.Am. 99: 204-210.
- Merle Shepard, B. & Braun, S.A.R. 1998.** Seasonal incidence of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids on vegetables in Indonesia. Int. J. Pest Manage. 44: 43-47.
- Siqueira H.A.A., R.N.C. Guedes & M.C. Picanço. 2000.** Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Agric. For. Entomol. 2: 147-153.
- Waterhouse, D.F. & K.R. Norris. 1987.** Biological control: Pacific prospects. Melbourne: Inkata Press. 474p.
- Wei, Q., Z. Lei, R. Nauen, D. Cai, & Y. Gao. 2013.** Abamectin resistance in strains of vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) is linked to elevated glutathione S-transferase activity. DOI:10.1111/1744-7917.12080.
- Whalon, M.E., D. Mota-Sanchez & R.M. Hollingworth. 2008.** Global pesticide resistance in arthropods. London: CABI, Oxfordshire. 208p.
- Zitter, T.A., & J.H. Tsai. 1977.** Transmission of three polyviruses by the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). Plant Dis. Rep. 61: 1025-1029.

CAPÍTULO 2

SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DA MOSCA MINADORA *Liriomyza sativae* Blanchard (DIPTERA: AGROMYZIDAE) A INSETICIDAS DE RISCO REDUZIDO

PAOLO A. F. SILVA¹, HERBERT A. A. DE SIQUEIRA¹, WELLINGTON M. DA SILVA¹, ELTON L.
ARAUJO², ALBERTO B. ESTEVES FILHO¹ E ANDRESA C. B. DE OLIVEIRA¹

¹Depto. Agronomia; Área de Fitossanidade; Universidade Federal Rural de Pernambuco; 52171-900 Recife, PE, Brasil. ²Depto. Fitossanidade, Universidade Federal Rural do Semiárido; 59625-900 Mossoró, RN, Brasil.

¹Silva, P.A.F, H.A.A. Siqueira, W.M. da Silva, E.L. Araújo, A.B. Esteves Filho & A.C.B de Oliveira. Suscetibilidade de populações da mosca minadora *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) a inseticidas de risco reduzido. *Journal of Economic Entomology*.

RESUMO – A mosca minadora, *Liriomyza sativae* Blanchard, é uma praga de grande importância no Nordeste do Brasil. A presença deste inseto já ocasionou grandes perdas na cultura do meloeiro e o uso de inseticidas é o método mais utilizado para o seu controle. Estudos anteriores mostraram que moscas desse gênero possuem capacidade de desenvolver resistência a vários grupos de inseticidas o que dificulta o controle desta praga em campo. Bioensaios para estimar curvas de concentração-mortalidade foram realizados a fim de averiguar a resposta de populações de *L. sativae* aos inseticidas abamectina, clorantroliprole e espinosade, bem como estabelecer uma linha base para os inseticidas ciantraniliprole e espinetoram, ainda em fase de registro. Diferenças nos valores das inclinações das curvas foram observadas para todos os inseticidas testados. Razões de tolerância preocupantes foram observadas para Pau Branco 1 (34,53vezes) e Mossoró 2 (13,07 vezes) para os inseticidas clorantroliprole e espinosade, respectivamente. As maiores razões de tolerância para os demais inseticidas testados foram observadas nas populações Mossoró 2 (1,8 vezes), Camocim (7,2 vezes) e Mossoró 2 (3,1 vezes) para abamectina, ciantraniliprole e espinetoram, respectivamente. As populações avaliadas foram consideradas suscetíveis aos inseticidas testados, pois ocasionaram alta mortalidade em concentrações abaixo da dose de campo. No geral, as médias de atividade enzimática das populações refletem uma variabilidade natural das populações. No entanto, uma estratégia visando o uso adequado desses produtos é muito importante no manejo de *L. sativae*, pois, dessa forma é possível impedir ou retardar a evolução da resistência desta praga a inseticidas.

PALAVRAS-CHAVE: Linha básica, inseticidas bioracionais, minador de folha, manejo de resistência

SUSCEPTIBILITY OF THE LEAFMINER, *Liriomyza sativae* (BLANCHARD) (DIPTERA:
AGROMYZIDAE) POPULATIONS TO REDUCED RISK INSECTICIDES

ABSTRACT – The leafminer, *Liriomyza sativae* (Blanchard), is a major pest in the Northeast of Brazil. The presence of this insect has caused great losses in the melon and the use of insecticides is the most used method for its control. Previous studies showed that flies of this genus are capable of developing resistance to several groups of insecticides, which makes the control of this pest in the field. Bioassays to estimate the concentration- mortality curves were performed to investigate the response of *L. sativae* populations to abamectin and spinosad and cloranthraniliprole insecticides, as well as, establish a baseline for insecticides cyantraniliprole and spinetoram, still in registration. Different slopes values of the curves have been observed for all insecticides tested. Worrying tolerance reasons were observed for Pau Branco 1 (34,53 fold) and Mossoró 2 (13,07 fold) for cloranthraniliprole and spinosad insecticides, respectively. The major tolerance reasons for other insecticides tested were observed for Mossoró 2 (1,8 fold), Camocim (7,15 fold) and Mossoró 2 (3,12 fold) for abamectin, cyantraniliprole e spinetoram, respectively. The populations evaluated were considered susceptible to the insecticides tested, causing high mortality at concentrations below the dose field. Overall, the average enzyme activity of populations reflect natural variability in populations . However, the use of a suitable strategy for the use of these products is very important in managing *L. sativae*, because that way you can prevent or delay the development of resistance of this pest to insecticides.

KEY WORDS: Baseline, biorational insecticides, leafminer, resistance management.

Introdução

A mosca minadora, *Liriomyza sativae* (Blanchard), é um inseto polífago e cosmopolita, considerada praga de várias culturas agrícolas em todo o mundo (Parrella, 1987). As infestações deste inseto ocasionam reduções significativas na produção em culturas como alface (*Lactuca sativa*), batata (*Solanum tuberosum*), melão (*Cucumis melo*), melancia (*Citrullus lanatus*) e tomate (*Solanum lycopersicum*) bem como depreciação de plantas ornamentais (Cox *et al.* 1995; Guimarães *et al.* 2009). As larvas desta praga alimentam-se das células do parênquima contidas no mesófilo foliar resultando na diminuição da área foliar trazendo prejuízos, tanto à planta como para a comercialização do produto final (Musgrave *et al.* 1985). A aplicação de inseticidas é o método mais utilizado para o controle da mosca minadora. No entanto, apenas a ciromazina e a abamectina vêm sendo comumente empregados para o controle desta praga. O primeiro é um regulador de crescimento e o segundo atua como um agonista do ácido γ -aminobutírico (Cox *et al.* 1995; Ferguson 2004; Reitz *et al.* 2013). Embora estes dois produtos venham sendo utilizados com frequência para o controle desta praga há vários anos, poucos problemas de resistência associados a esses produtos foram relatados até o momento (Reitz *et al.* 2013). No entanto, segundo Parrella & Keil (1984) e Parrella (1987) as moscas do gênero *Liriomyza* possuem uma grande capacidade de desenvolver resistência a vários inseticidas de grupos químicos diferentes o que pode tornar, no futuro, esses e os demais produtos utilizados para o controle da mosca minadora menos eficaz.

Resistência é um fenômeno de ocorrência mundial sendo caracterizada pela habilidade herdada de um determinado organismo em tolerar doses de um pesticida que seriam letais aos demais indivíduos da sua espécie levando a uma alteração na frequência genética de uma população (Croft *et al.* 1988; Whalon *et al.* 2008). A redução da penetração através da cutícula do inseto, insensibilidade do sítio alvo e aumento da destoxificação enzimática são fatores que estão

envolvidos no desenvolvimento da resistência em insetos (Hemingway 2000). Em relação ao metabolismo, três enzimas se destacam: esterases, glutatona-S-transferases e monoxigenases e de acordo com Brown & Brogdon (1987), Hemingway (1989), Hemingway *et al.* (1995) na maioria dos casos de resistência é possível observar um aumento significativo na quantidade dessas enzimas em populações resistentes quando estas são comparadas a populações sensíveis. Além disso, muitos fatores podem contribuir para o sucesso de *L. sativae* frente a inseticidas, tais como: ciclo de vida curto e alta taxa reprodutiva (Jones *et al.* 1986; Parrella 1987; Keil & Parrella 1990).

Este inseto destaca-se como uma das pragas de maior expressão econômica no cultivo de hortifruticulturas, na região nordeste do Brasil, por exemplo, sendo responsável por ocasionar uma perda de 10 a 15% da produção em área de meloeiro no estado do Rio Grande do Norte (Araujo *et al.* 2007). Os poucos produtos utilizados para o controle desta praga e a impossibilidade de se rotacionar os formulados de forma adequada, somada a ampla capacidade dessa praga de desenvolver resistência são fatores que podem contribuir para o aumento da tolerância desses insetos aos princípios ativos empregados tornando-os ineficazes no futuro (Parrella 1987). O desenvolvimento de uma linha base para os novos inseticidas que serão registrados no futuro para *L. sativae* é o primeiro passo para o sucesso na elaboração de um manejo de resistência.

Não existem trabalhos publicados na área de resistência de *L. sativae* a inseticidas no Brasil. Segundo Ferguson (2004), isso ocorre devido a dificuldade do método de bioensaio que é um obstáculo para a determinação do status atual da resistência da mosca minadora. Por esta razão, avaliamos a eficiência dos princípios ativos utilizados (abamectina e espinosade) e estabelecer uma linha base para outros em fase de registro (ciantraniliprole e espinetoram) para controle desta praga. Diferentes populações de *L. sativae* coletadas em cultivos comerciais de melancia, melão e tomate foram utilizadas para este estudo com o intuito de fornecer subsídios para o desenvolvimento de um programa de manejo a fim de prevenir, retardar ou reverter a

evolução da resistência dessa praga à inseticidas. Além disso, adaptar um método confiável de realização de bioensaios nesta área.

Material e Métodos

Obtenção e manutenção de Populações de *L. sativae* - Os insetos foram coletados nos municípios de Mossoró no Estado do Rio Grande do Norte e Camocim de São Felix, estado de Pernambuco (Tabela 1, figura 1). A população de Mossoró 1 foi obtida da criação do Laboratório de Entomologia Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido sendo mantida há 10 anos sem pressão de seleção. As populações de campo de *L. sativae* foram obtidas no estágio larval em folhas de tomate (*L. esculentum*), melão (*C. melo*) e melancia (*C. lanatus*) em regiões do agreste de Pernambuco e região oeste do estado do Rio Grande do Norte. Os insetos coletados foram identificados ao nível de espécie através de técnicas moleculares utilizando a porção mitocondrial do citocromo oxidase 1. A metodologia de criação foi adaptada de Araujo (2007) onde adultos foram mantidos em gaiolas de 50 x 50 cm de base e 50 cm de altura, com uma face lateral de tela antiafídio. Casais de insetos, em números variáveis foram colocados no interior das referidas gaiolas para as fêmeas ovipositarem em plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) por um período de 24 horas. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%, fornecido por capilaridade, através de uma esponja colocada em recipientes circulares de acrílico. A sala contendo as gaiolas foi mantida com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 5\%$ e fotofase de 12h.

As plantas, com as folhas contendo os ovos, foram levadas para câmara de germinação do tipo B.O.D ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h), onde ocorreu o desenvolvimento embrionário e do estágio larval. Quando as larvas se encontraram no terceiro ínstar, as folhas foram cortadas na região do pecíolo e colocadas em frasco âmbar contendo água (para manter as

folhas túrgidas) sendo acondicionadas em bandejas plásticas permitindo que as larvas empupassem dentro das bandejas. Estas bandejas foram colocadas numa sala climatizada com temperatura de 25 ± 5 °C e U.R. de $60\% \pm 10$. As pupas foram coletadas com o auxílio de um pincel e posteriormente transferidos para placas de Petri de 7 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura sendo posteriormente fechadas com filme plástico para evitar a fuga. Ao emergir o primeiro adulto, as placas de Petri com pupas foram colocadas no interior da gaiola para a liberação destes.

Inseticidas avaliados: Os produtos químicos utilizados foram ciantraniliprole (Benevia™ - 100g/L, DuPont do Brasil, Paulínia, Brasil), espinetoram (Delegate™ - 250g/Kg, Dow Agrosiences Industrial Ltda, São Paulo, Brasil), espinosade (Tracer® - 480g/L, Dow Agrosiences Industrial Ltda, São Paulo, Brasil), clorantraniliprole (Prêmio® - 200g/L, DuPont do Brasil, Paulínia, Brasil) e abamectina (Vertimec® - 18g/L, Syngenta). Para melhorar a penetração dos inseticidas nas folhas utilizou-se agr'óleo® (Gota Industrial Ltda,) a 0,25% (vol: vol). As folhas destinadas ao controle foram tratadas com água destilada + agr'óleo®.

Ensaio de suscetibilidade de *L. sativae* a inseticidas de baixo risco: A técnica de bioensaio utilizada foi adaptada do método utilizado por Cox *et al.* (1995). O estágio larval foi escolhido para os experimentos, pois de acordo com Ferguson (2004) as aplicações de inseticidas, geralmente, são direcionadas a esse estágio da praga, além disso, é a fase na qual ocorre a injúria que afeta negativamente a planta e reduz a qualidade dos frutos. Dez plantas novas de *C. ensiformes* (10 – 14 dias) foram colocadas em gaiolas contendo moscas recém emergidas (3 – 4 dias) por um período de 2 a 4 horas. Esse curto período de oviposição foi utilizado de modo a obter uma sincronia em relação à eclosão das larvas, homogeneizando a idade das larvas. Após esse período de oviposição, as plantas infestadas foram levadas para câmara de germinação (tipo BOD) (25°C) por 72 horas, pois a partir desse período foi possível visualizar e contabilizar as

larvas sadias e bem desenvolvidas com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Após a contabilização, as folhas cotiledonares foram destacadas do pecíolo e seccionadas verticalmente e ao sendo cada parte seccionada considerada uma repetição. As folhas foram tratadas através de imersão por 5s em diluições seriadas partindo da menor concentração para a maior. Seis a nove concentrações foram utilizadas. As folhas tratadas foram secas em temperatura ambiente e transferidas para placas de acrílico de 15 cm de diâmetro contendo um papel filtro umedecido com 3 mL de água com o intuito de manter as frações de folhas túrgidas até a avaliação do ensaio. Após o tratamento, as frações de folha foram mantidas em B.O.D. (25 ° C e fotofase de 12h) a fim de possibilitar o desenvolvimento larval sendo a mortalidade avaliada 48 horas depois. Pupas foram contadas e mantidas em placas de petri para a emergência dos adultos que também foram contabilizados.

Bioensaios de dose de campo. Para os bioensaios de dose de campo foram utilizadas doses recomendadas nos rótulos dos produtos Espinosade e Abamectina sendo estas 200mL/ha e 100mL/100L respectivamente utilizando os mesmos métodos citados anteriormente.

Extração de Amostras para Análise de Atividade Enzimática. Para cada população, foram obtidas três amostras, contendo 15 larvas de terceiro instar de *L. sativae* para atividade de esterases. As larvas foram homogeneizadas utilizando 200 µl de tampão fosfato de sódio (0,02M, pH 7,2) em gelo. O homogeneizado obtido foi centrifugado a 15000 g a 4°C por 10 minutos e o sobrenadante preservado a -20°C em alíquotas até a determinação da atividade enzimática. Para glutathione-S-transferase (GST), o processamento das amostras foi semelhante ao descrito para o em 15000 g por 10 min a 4°C. Para o ensaio de atividade de monoxigenases dependentes de citocromo P450, as amostras foram processadas e homogeneizadas em tampão fosfato (0,1M, pH 7,5) + glicerol (20%), conforme descrito por Scharf *et al.* (1995). Inicialmente, o homogeneizado foi centrifugado a 15000 g por 20 min a 4°C. O sobrenadante foi transferido para tubos de

ultracentrífuga e centrifugado a 35.000g por 1 hora a 4°C em ultracentrífuga (Beckman Coulter/OPTIMA L-80 XP). O precipitado (*Pellet*) foi suspenso novamente em tampão fosfato, aliquotado para tubos eppendorf e preservado a -80°C até uso posterior como fonte de enzimas microssomais. A proteína total foi determinada através do método do ácido bicinonínico (Smith 1985) usando albumina de soro bovino (BSA) como padrão.

Ensaio de esterase. A atividade de esterase foi medida pelo método de van Asperen (1962) adaptado. A solução estoque (250 mM) dos substratos α -naftil acetato e β -naftil acetato foram preparados em acetona. Para reação, foi usada 2 μ L do substrato α -naftil acetato (25 mM), 20 μ L de amostra e 188 μ L de tampão fosfato de sódio por poço na micro placa. O procedimento foi repetido para análise de esterase usando o substrato β -naftil acetato (25 mM). As amostras foram incubadas em 30°C por 15 minutos. A reação foi parada usando 33,2 μ L de FAST Blue B a 0,3%. A absorbância foi lida em 595 nm na leitora de micro placa (Elx800, BioTek[®], Winooski, VT, USA). Cada amostra foi analisada em triplicata, as medidas estavam compreendidas no total de nove repetições. A curva padrão foi preparada com α -naphthol e β -naphthol. A atividade de esterase é expressa como nmol naftol x min⁻¹ x mg de proteína⁻¹.

Atividade de Conjugação por GST. Atividade da GST foi medida com base sobre o método por Habig *et al.* (1974). A solução de 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB, 150 mM) foi preparada em álcool etílico e a glutatona reduzida (10 mM) foi dissolvida em tampão fosfato de sódio (0,1M; pH 7,5). Para a reação foram utilizados 138 μ L de tampão fosfato de sódio (0,1M, pH 7,5), 10 μ L da amostra, 150 μ L de glutatona reduzida (10 mM). A pré-mistura foi incubada em banho maria a 30°C por 5 minutos. Posteriormente, 2 μ L de CDNB (150 mM) foram adicionados à reação e imediatamente a atividade de formação de 2,4-dinitrofenil-S-glutaciona foi analisada por espectrofotometria a 340 nm. A reação foi lida por 5 min, com intervalo de leitura a cada 30s. Os dados de absorbância foram analisados em função do tempo de reação após adição do CDNB. A

inclinação da reta (absorbância/min) foi transformada em unidade de concentração utilizando o coeficiente de extinção do CDNB ($9,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Atividade de monoxigenases dependentes de citocromo P₄₅₀ (O-desalquilação). O substrato *p*-nitroanisole foi utilizado para determinar a atividade de monoxigenases dependentes de citocromo P450, através da reação de formação de *p*-nitrofenol conforme descrito por Rose & Brindley (1985). As amostras foram analisadas em triplicata. Utilizou-se 178,8 μL de tampão fosfato de sódio de ressuspensão (0,1M, pH 7,5), 56,2 μL da amostra, 2,5 μL *p*-nitroanisol (1,5mM diluído em álcool etílico), 12,5 μL de NADPH reduzido (9,6mM) em cada poço. A mistura foi incubada por 15 minutos a 37°C. Posteriormente, o HCl (1M) foi adicionado como solução de parada. Em seguida, foi centrifugado a 15000 g a 4°C por 10 minutos, apenas e então 200 μL do sobrenadante foi colocado na microplaca para leitura. A absorbância foi lida a 405 nm na leitora de placa (Elx800, BioTek®). A atividade de monoxigenase dependente de citocromo P450 por amostra foi obtida da equação linear estimada para a absorbância em função da curva padrão de *p*-nitrofenol que foi disposta em $\eta\text{Mol } p\text{-nitrofenol} \times \text{min}^{-1} \times \text{mg de proteína}^{-1}$.

Análise estatística. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit utilizando o programa POLO – Plus (LeOra Software 2005). A mortalidade foi corrigida utilizando a metodologia de Abbott (1925). As razões de toxicidade e seus intervalos de confiança a 95% foram calculados pelo método descrito por Robertson & Preisler (1992). Nos ensaios enzimáticos para esterase, glutathione-S-transferase e citocromo P450 as análises estatísticas foram realizadas no programa SAS (SAS Institute, 2002) utilizando os seguintes procedimentos: Pressuposição da normalidade da variância foi testada utilizando o procedimento PROC UNIVARATE. Posteriormente, foi realizado a análise de variância (PROC ANOVA, SAS Institute 2002) e o teste Tukey HSD $p < 0,05$ para diferenças entre as médias das populações. A correlação de Pearson $p < 0,05$ foi realizada (PROC CORR, SAS Institute 2002) entre os ensaios enzimáticos e

a razões de resistência das populações, para cada inseticida, seguido pela análise de regressão (PROC COR, SAS Institute 2002).

Resultados

As doses recomendadas de abamectina e espinosade foram eficazes para todas as populações de *L. sativae*, causando mortalidade de 100% dos indivíduos testados. Os resultados de concentração-mortalidade ajustaram-se ao modelo de probit (χ^2 não significativo, $P > 0,05$). Os valores de CL_{50} das populações para abamectina variaram de 2,76 (Pau Branco 1, tomada como referência) a 4,78 (Mossoró 2) mg i.a./L (Tabela 2). As razões de tolerância (RT_{50}) variaram de 1,05 (Pau Branco 2) a 1,78 vezes (Mossoró 2) para abamectina. Quanto aos valores de CL_{99} das populações para abamectina variaram de 25,75 (Pau Branco 2) a 769,34 (Mossoró 2) mg i.a./L (Tabela 2).

Os valores de CL_{50} das populações para clorantraniliprole variaram de 0,46 (Mossoró 2, tomada como referência) a 15,75 (Pau Branco I) mg i.a./L (Tabela 2). As razões de tolerância (RT_{50}) variaram de 3,93 (Mossoró 1) a 34,53 vezes (Pau Branco 1). Quanto aos valores de CL_{99} das populações para clorantraniliprole variaram de 49,29 (Mossoró 1) a 371250,1 (Pau Branco 3) mg i.a./L (Tabela 2). Quanto aos valores de CL_{50} das populações para ciantraniliprole variaram entre 0,73 (Mossoró 1, tomada como referência) e 5,19 (Camocim de São Felix) mg i.a./L (Tabela 2). As razões de tolerância (RT_{50}) variaram de 2,73 (Pau Branco 2) a 7,15 vezes (Mossoró 2) para ciantraniliprole. Os valores de CL_{99} das populações para ciantraniliprole variaram de 8,69 (Mossoró 1) a 193,78 (Camocim de São Felix) mg i.a./L (Tabela 2).

Os valores de CL_{50} das populações para espinosade variaram de 1,03 (Pau Branco 3, tomada como referência) a 13,45 (Mossoró 2) mg i.a./L (Tabela 2). As razões de tolerância (RT_{50}) variaram de 1,21 (Pau Branco 2) a 13,07 vezes (Mossoró 2) para espinosade. Quanto aos valores de

CL₉₉ das populações para espinosade variaram de 22,59 (Camocim) a 1029,05 (Pau branco 1) mg i.a./L (Tabela 2). Quanto aos valores de CL₅₀ das populações para espinetoram variaram de 0,19 (Pau Branco 3, tomada como referência) a 0,60 (Mossoró 2) mg i.a./L (Tabela 2). As razões de tolerância (RT₅₀) variaram de 1,13 (Pau Branco 2) a 3,12 vezes (Mossoró 2). Os valores de CL₉₉ das populações para espinetoram variaram de 2,06 (Pau Branco 2) a ,84,54 (Mossoró 2) mg i.a./L (Tabela 2).

As inclinações das curvas de concentração-mortalidade para os inseticidas em geral variaram de 0,48 (Pau Branco 3) a 3,97 (Camocim de São Félix) para clorantraniliprole e espinetoram, respectivamente (Tabela 2). As inclinações das curvas de concentração-mortalidade foram mais baixas para o inseticida clorantraniliprole do que para os demais inseticidas, sugerindo alta variação na resposta a este inseticida.

A média de atividade enzimática para α -naftol variou de 31,92 a 87,64 η mol/min/mg para as populações de Mossoró 1 e Pau Branco 3, respectivamente. A média de atividade enzimática para β -naftol variou de 72,35 a 129,52 η mol/min/mg de proteína para as populações de Mossoró 2 e Mossoró 1 respectivamente. A atividade enzimática média de GSDNB variou de 5,87 a 162,04 μ moles/min/mg de proteína para as populações de Camocim 1 e Mossoró 2, respectivamente. A média de atividade enzimática para P-nitrofenol mediada pela monoxigenase P450 variou de 0,12 a 0,40 para as populações de Camocim 1 e Mossoró 1, respectivamente (Tabela 3).

A possibilidade de resistência cruzada entre os inseticidas testados foi verificada através de correlação entre os valores de CL₅₀. Houve correlação positiva entre o inseticida ciantraniliprole e os inseticidas espinosade ($r=0,46$; $P=0,004$), espinetoram ($r=0,75$; $P=0,0001$) e Abamectina ($r=0,55$; $P=0,0001$). O clorantraniliprole correlacionou negativamente com os inseticidas espinosade ($r= -0,55$; $P=0,0003$) e abamectina ($r= -0,64$; $P=0,0001$). O inseticida abamectina

correlacionou positivamente com os inseticidas espinosade ($r=0,87$; $P=0,0001$) e espinetoram ($r=0,55$; $P=0,0001$). O inseticida espinetoram correlacionou positivamente com o inseticida espinosade ($r=0,58$; $P=0,0001$).

Discussão

A evolução de resistência a inseticidas é o principal risco para a sustentabilidade de agroecossistemas como do meloeiro em Mossoró, RN. A resistência de *L. sativae* a inseticidas já foi relatada em alguns países (Mason *et al.* 1987; Johansen *et al.* 2003; Ferguson, 2004), embora tal fenômeno ainda não tenha sido relatado nesta espécie no Brasil. Este é o primeiro relato de suscetibilidade a inseticidas em *L. sativae* no Brasil e os resultados demonstram que o risco de evolução a resistência existe. As populações em geral responderam homoganeamente ao abamectina, porém uma variação mais ampla foi observada nas CL_{99S} , sugerindo frequência maior de indivíduos tolerantes nestas estimativas. O abamectina vem sendo usado nas áreas onde foram coletadas as populações *L. sativae* há mais de 10 anos e falhas de controle têm sido relatadas. Porém, medidas proativas devem ser adotadas para mitigar a evolução a abamectina nestas áreas.

As populações de *L. sativae* foram mais sensíveis às espinosinas do que às diamidas antranílicas, respondendo mais homoganeamente às primeiras. No entanto, a sensibilidade reduzida das populações a ciantraniliprole pode ser resultado de prévia exposição ao inseticida clorantraniliprole, que é usado para o controle de outras pragas tanto em cucurbitaceae (ex.: *Diaphania nitidalis* Cramer) quanto em solanaceae (ex.: *Neoleucinodes elegantalis* Guenée). Além disso, alguns produtores têm usado clorantraniliprole com objetivo direto de controlar moscas minadoras por observarem relativa eficácia. De fato, o clorantraniliprole foi utilizado em todas as áreas onde foram coletadas as populações. Produtores da região de Mossoró-RN, onde foram coletadas as populações Mossoró 2, Pau Branco 1, Pau Branco 2 e Pau Branco 3; relataram que a utilização do clorantraniliprole no gotejo ocasionava uma supressão satisfatória da mosca minadora

nas culturas do meloeiro e melancia. Contudo, tal prática pode ter favorecido a evolução mais rápida da resistência ao clorantraniliprole e, sobretudo, a ciantraniliprole que se encontra em fase de registro no Brasil para controle de várias pragas, incluindo *Liriomyza* spp. O ciantraniliprole apresentou maior eficiência do que clorantraniliprole provavelmente por ser mais solúvel em água, pois apresenta menor logP (Hamaguchi *et al.* 2012, Selby *et al.* 2013). Isto aumenta a partição do produto nos tecidos foliares, razão pela qual este foi mais tóxico do que clorantraniliprole para a mosca minadora. Apesar de pertencerem ao grupo das diamidas e possuírem o mesmo sítio de ligação (Lahm *et al.* 2007), não foi observada correlação significativa entre as duas diamidas antranílicas. Este resultado pode ser devido às variações nas respostas das populações a clorantraniliprole, o qual não é muito eficiente a *L. sativae*, sobretudo se aplicado via foliar, e ainda de acordo com Lahm *et al.* (2007), o clorantraniliprole é mais eficaz para pragas da ordem Lepidoptera. Embora o clorantraniliprole não tenha demonstrado uma eficiência satisfatória quanto à mortalidade larval, observou-se que não houve a formação de pupas ou houve a formação de pupas miniaturizadas após a exposição das larvas as concentrações deste inseticida. Este resultado corrobora com o relato dos produtores de que esta diamida ocasiona uma supressão satisfatória da *L. sativae* em campo apesar de não ser registrado para o controle desta praga.

As populações de *L. sativae* responderam homogeneamente aos inseticidas espinosade e espinetoram, com exceção da população Mossoró 2 que se apresentou mais tolerante que as demais, sugerindo indícios de uma resistência inicial nesta população a espinosinas. De fato, aplicações de espinosade estavam sendo conduzidas nas áreas onde foram realizadas as coletas, o que explica uma elevação na frequência de indivíduos tolerantes. Os inseticidas espinetoram e espinosade correlacionaram positivamente indicando a possibilidade de resistência cruzada entre esses inseticidas, sugerindo atenção no uso de tais produtos para controle de *L. sativae*. Este resultado pode ser explicado por estes inseticidas pertencerem ao mesmo grupo químico

(espinosinas) e possuírem o mesmo sítio de ligação. Sial et al (2010), em estudo da suscetibilidade de *Choristoneura rosaceana* Harris (Lepidoptera: Tortricidae), e Campos (2013) estudando resistência de *Tuta absoluta* Meyrick a espinosade, também encontraram correlação entre espinosade e espinetoram, evidenciando a possibilidade de resistência cruzada entre esses dois produtos. Assim como ciantraniliprole, espinetoram está em fase de registro para controle de *L. sativae*, desta forma, se medidas de controle no uso de espinosinas nas áreas de cultivos não forem tomadas, o uso de espinetoram pode estar comprometido após sua liberação.

Correlações negativas e significantes foram observadas entre clorantraniliprole e espinosade e abamectina, sugerindo que esta diamida poderia ser usada em rotação com ambos os produtos. Contudo, a alta variação nos ensaios toxicológicos com clorantraniliprole é provavelmente uma causa destas correlações, uma vez que não há razão para esta associação entre tais produtos. Conroy et al. (2008) não encontraram evidências de resistência tanto a espinosade quanto a clorantraniliprole em populações canadenses de *Liriomyza* quando comparadas a população considerada padrão de suscetibilidade. Esta razão é também provável de explicar a inexistência de associação entre as duas diamidas, pois em outros estudos tal associação tem sido observada (Campos 2013). A diamida ciantraniliprole correlacionou positivamente com as duas espinosinas e abamectina. Tais resultados necessitam de uma avaliação mais precisa, como por exemplo, através de seleção a ciantraniliprole e análise do espectro de resistência cruzada a outros inseticidas, uma vez que estes produtos não apresentam modos de ação similares. No entanto, o metabolismo destoxicativo pode estar desempenhando algum papel nestas associações, particularmente pelos baixos valores de variação nas respostas das populações frente aos inseticidas. Correlações moderada a forte entre abamectina e espinosinas foram também observadas, o que pode ser explicado pelo fato desses inseticidas pertencerem ao grupo das lactonas macrocíclicas e possuírem sítios alvo em comum (Sparks et al 2001). Segundo estes

autores, as espinosinas possuem um sítio de ligação secundário, atuando também nos receptores do ácido γ -aminobutírico (GABA) o que provavelmente pode influenciar na evolução da resistência da *L. sativae* para esses inseticidas. No entanto, muito senso deve ser exercitado quanto analisar tais resultados. Ferguson (2004) avaliando populações originárias de estufas comerciais de plantas ornamentais nos Estados Unidos relatou tolerância de mosca minadora ao inseticida abamectina e uma alta resistência a espinosade, no entanto, não constatou uma resistência cruzada entre esses dois produtos. Estudos posteriores devem ser conduzidos, particularmente de resistência cruzada, para esclarecer tais associações. Não é possível afirmar que a rotação entre os inseticidas ciantraniliprole e espinetoram, por exemplo, seja desaconselhável. Apesar da variação na atividade enzimática encontrada, não há evidências plausíveis para inferir que esta atividade enzimática esteja relacionada a uma maior tolerância desta praga aos inseticidas testados. De acordo com Brown & Brogdon (1987); Hemingway (1989); Hemingway *et al.* (1995) em casos de resistência é possível observar aumentos significativos nas quantidades destas enzimas em populações resistentes quando estas são comparadas a populações sensíveis. Dessa forma, mais pesquisas devem ser conduzidas a fim de elucidar se há alguma associação entre o mecanismo metabólico e uma possível tolerância ou resistência de *L. sativae* a inseticidas.

A resistência, bem como o seu manejo, tem se tornado uma das principais preocupações para mercado de inseticidas, uma vez que é cada vez maior a quantidade de princípios ativos aos quais pragas importantes em diversas culturas têm reduzido a sua suscetibilidade (Georghiou, 1990). A existência de poucos produtos registrados para o controle de *L. sativae* dificulta o manejo da resistência, apesar disso, pouca ou nenhuma importância tem sido dada para esta problemática. No entanto, a utilização combinada destes inseticidas é possível desde que haja uma estratégia de manejo adequada. Neste contexto, estudos de suscetibilidade tornam-se necessários para avaliação

do status atual da praga, bem como, para estabelecimento de uma linha base para os produtos em fase de registro, com o objetivo de retardar o desenvolvimento da resistência e a substituição precoce desses princípios ativos.

Agradecimentos

A CAPES pela bolsa de estudos. Ao Laboratório de Entomologia Aplicada da Universidade Federal Rural do Semiárido pelo apoio ao projeto. Ao Laboratório de genética da Universidade Federal de Pernambuco, especialmente ao Professor Valdir Balbino, pela identificação das espécies utilizadas nessa pesquisa.

Literatura Citada (OBSERVAR A ORDEM DAS PALAVRAS DA SEGUNDA LINHA)

- Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Araujo, E.L., D.R.R. Fernandes, L.D. Geremias, A.C. Menezes Netto & M.A. Filgueira. 2007.** Mosca minadora associada à cultura do meloeiro no semi-árido do Rio Grande do Norte. R. Caatinga. 20: 210-212.
- Brown, T.M. & W.G. Brogdon. 1987.** Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. Annu. Rev. Entomol. 32: 145-162.
- Campos, M.R. 2013.** Linha base de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) a diamidas e espinosinas e caracterização da resistência a espinosade. Tese de doutorado, UFRPE, Recife, 158p.
- Conroy, L., C.D. Scott-Dupree, G.D. Murphy, A.B. Broadbent & C.R. Harris. 2007.** Assessing the resistance shown by American serpentine leafminers. greenhouse Canada. 41:38-39.
- Cox, D.L., M.D. Remick, J.A. Lasota, & R.A. Dybas. 1995.** Toxicity of avermectins to *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) larvae and adults. J. Econ. Entomol. 88: 1415-1419.

- Croft, B.A., B.A. Roft & B. Van. 1988.** Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. *Exp. Appl. Acarol.* 4: 277-300.
- Ferguson, J.S. 2004.** Development and stability of insecticide resistance in the leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine, abamectin and spinosad. *J. Econ. Entomol.* 97: 112-119.
- Georghiou, G.P. 1990.** Overview of insecticide resistance, in managing resistance to agrochemicals: from fundamental research to practical strategies. Ed. By Brown MB, LeBarom HM and Moberg WK, American Chemical Society. Washington, DC, USA, pp. 18-41.
- Georghiou, G.P. 1983.** Management of resistance in arthropods, p. 769-792. In G.P. Georghiou & T. Saito (eds.), *Pest Resistance to Pesticides: Challenges and Prospects*. New York, Plenum Press, 797p.
- Guimarães, J.A., M.M. Filho, V.R. Oliveira, R.S. Liz & E.L. Araujo. 2009.** Biologia e manejo de mosca minadora no meloeiro. Embrapa Hortaliças, 9p. (Circular técnica 77).
- Habig, W.H., M.J. Pabst & W.B. Jakoby. 1974.** Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139.
- Hemingway, J., 2000.** The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 30: 1009-1015.
- Hamaguchi, H., T. Hirooka, T. Masaki, G.P. Lahm, D. Cordova, J.D. Barry, J.T. Andaloro, I.B. Annan, P.C. Marcon, H.E. Portillo, T.M. Stevenson & T.P. Selby. 2012.** Insecticides Affecting Calcium Homeostasis, pp. 1389-1425, *Modern Crop Protection Compounds*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Hemingway, J., 1989.** A note on simple biochemical methods for resistance detection and their field application in Sri Lanka. *Pestic. Sci.* 27: 281-285.
- Hemingway, J., G.J. Small, S. Lindsay & F.H. Collins. 1995.** Combined use of biochemical, immunological and molecular assays for infection, species identification and resistance detection in field populations of *Anopheles* (Diptera: Culicidae). In: Symondson, W.O.C., Lydell, E. (Eds.), *The Ecology of Agricultural Pests: Bio-chemical Approaches*. Chapman and Hall, London.
- Johansen, N.S., T.M. Tuan, L.T.K. Oanh & E. Nordhus. 2003.** Susceptibility of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) larvae to some insecticides scheduled for their control in North Vietnam. *Grønn kunnskap* 7: 17.
- Jones, V.P., Parrella, M.P. & D.R. Hodel. 1986.** Biological control of leafminers in greenhouse chrysanthemums. *Calif. Agr.* 40: 10-12.
- Keil, C.B. & M.P. Parrella. 1990.** Characterization of insecticide resistance in two colonies of *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae). *J. Econ. Entomol.* 83: 18-6.

- Lahm, G.P., Stevenson, T.M., Selby, T.P., Freudenberger, J.H., Cordova, D., Flexner, L., Bellin, C.A., Dubas, C.M., Smith, B.K., Hughes, K.A., Hollinghaus, J.G., Clarck, C.E., Benner, E.A. 2007.** RynaxypirTM: A new insecticidal anthranilic diamide that acts as a potente and selective ryanodine receptor activator. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17: 6274-6279.
- LeOra-Software 2005.** POLO-Plus, POLO for Windows computer program, version 2.0. LeOra-Software, Petaluma, CA. computer program, version By LeOra-Software.
- Mason, G.A, M.W. Johnson & B.E. Tabashnik. 1987.** Susceptibility of *Liriomyza sativae* and *L. trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to Permethrin and Fenvalerate. *J. Econ. Entomol.* 80: 1262-1266.
- Musgrave, C.A., S.L. Poe & D.R. Bennett. 1975.** Leafminer population estimation in polycultured vegetables. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 88: 156-160.
- Parrella, M.P. 1987.** Biology of *Liriomyza*. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 210-226.
- Reitz, S.R., Y.L. Gao & Z.R. Lei. 2013.** Insecticide Use and the Ecology of Invasive *Liriomyza* Leafminer Management, p. 233-253, In: *Insecticides - Development of Safer and More Effective Technologies*, Prof. Stanislav Trdan (Ed.), InTech, Rijeka, Croatia.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. 2 ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL, p.127.
- Rose, R.L. & W.A. Brindley. 1985.** An evaluation of the role of oxidative enzymes in Colorado potato beetle resistance to carbamate insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 23: 74-84.
- SAS Institute 2001.** SAS user's guide: statistics, version 8.2. SAS Institute, Cary, NC computer program, version By SAS Institute.
- Selby, T.P., G.P. Lahn, T.M. Stevenson, K.A. Hughes, D. Cordova, I.B. Annan, J.D. Barry, E.A. Benner, M.J. Currie & T.F. Pahutski. 2013.** Discovery of cyantraniliprole, a potent and selective anthranilic diamide ryanodine receptor activator with cross-spectrum insecticidal activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23: 6341-6345.
- Sial, A.A., J.F. Brunner & M.D. Doerr. 2010.** Susceptibility of *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) to two new reduced-risk insecticides. *J. Econ. Entomol.* 103: 140-6.
- Silva, J.E., H.A.A. Siqueira, T.B.M. Silva, M.R. Campos & R. Barros. 2012.** Baseline susceptibility to chlorantraniliprole of Brazilian populations of *Plutella xylostella*. *Crop Prot.* 35: 97-101.
- Sparks, T.C., G.D. Crouse, & G. Durst. 2001.** Natural products as insecticides: the biology, biochemistry and quantitative structure activity relationships of spinosyns and spinosoids. *Pest Manag. Sci.* 57: 896-905.

- van Asperen, K. 1962.** A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.* 8: 401-416.
- Wang, X., X. Li, A. Shen & Y. Wu. 2010.** Baseline Susceptibility of the Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) to Chlorantraniliprole in China. *J. Econ. Entomol.* 103: 843-848.
- Whalon, M.E., D. Mota-Sanchez & R.M. Hollingworth. 2008.** Global pesticide resistance in arthropods. London: CABI, Oxfordshire. 208p.

Tabela 1. Locais de coleta das de *Liriomyza sativae* (Blanchard).

População	Sigla	Mapa	Cultura	Posição Geográfica	Histórico
Pau Branco 1, RN	PB1	1	Melão	S 4° 54' 15", W 37° 22' 31"	abamectina, ciromazina, clorantraniliprole, espinosade, cloridrato de cartape, deltametrina, acetamiprido, piriproxifen
Pau Branco 2, RN	PB2	2	Melão	S 4° 59' 15", W 37° 33' 16"	Idem
Pau Branco 3, RN	PB3	3	Melancia	S 4° 53' 37", W 37° 21' 55"	Idem
Mossoró 1, RN	MSR1	-	Melão	População de laboratório	Ausente de pressão de seleção há 10 anos
Mossoró 2, RN	MSR2	4	Melão	S 4° 54' 36", W 37° 22' 12"	abamectina, ciromazina, clorantraniliprole, espinosade, cloridrato de cartape, deltametrina, acetamiprido, piriproxifen
Camocim de São Felix, PE	CMSF	5	Tomate	S 8° 23' 24", W 35° 45' 0"	abamectina, clorantraniliprole, espinosade, metomil, deltametrina, <i>Bacillus thuringiensis</i> , var. <i>kurstaki</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> , var. <i>aizawai</i>

Tabela 2. Toxicidade relativa de inseticidas a larvas de *Liriomyza sativae*. Temperatura: 25 ± 1°C; U.R.: 70 ± 10% e fotofase de 12 h

Inseticida	População	n ^a	GL ^b	Inclinação ± EP ^c	CL ₅₀ (IC95%) ^d	CL ₉₉ (IC95%) ^d	χ ^{2e}	RT ₅₀ (IC95%) ^f
Abamectina	PB1	249	5	1,41 ± 0,15	2,76 (1,89-3,98)	122,30 (59,9-349,1)	3,85	-
	PB2	317	5	2,45 ± 0,56	2,90 (1,50-4,04)	25,75 (15,00-96,8)	4,81	1,1 (0,45-2,47)
	PB3	243	5	1,44 ± 0,16	3,17 (2,17-4,44)	130,74 (66,6-359,7)	3,55	1,2 (0,67-1,97)
	MSR1	220	5	2,16 ± 0,28	3,59 (2,64-4,64)	61,80 (29,4-338,1)	4,66	1,3 (0,82-2,07)
	CMSF	365	6	1,36 ± 0,16	3,82 (2,46-5,38)	196,84 (105,6 - 507,7)	2,41	1,4 (0,81-2,37)
	MSR2	225	5	0,97 ± 0,17	4,78 (2,60-7,33)	769,34 (197,4 - 23110,3)	3,06	1,8 (0,99-3,16)
Clorantniliprole	MSR2	293	8	1,08 ± 0,16	0,46 (0,12-0,99)	549,34 (155,5-6184,4)	2,15	-
	MSR1	243	5	1,62 ± 0,27	1,79 (0,966-2,62)	49,29 (25,7-169,5)	1,79	3,9 (1,31-11,79)*
	PB2	202	8	1,04 ± 0,12	3,35 (1,89-5,67)	568,93 (211,2-2565,6)	2,49	7,4 (2,37-22,89)*
	PB3	240	8	0,48 ± 0,08	5,67 (1,30-17,17)	371250,1 (30756,1 – 39012585,7)	1,23	12,5 (2,55-60,85)*
	CMSF	382	9	0,73 ± 0,10	5,82 (2,57-10,28)	9111,3 (2545,1 – 77407,1)	8,79	12,8 (3,85-42,44)*
	PB1	155	5	0,97 ± 0,21	15,75 (3,57-34,96)	3902,6 (1019,8 – 88048,7)	2,32	34,5 (8,41-141,84)*
Ciantraniliprole	MSR1	416	5	2,16 ± 0,25	0,73 (1,33-2,93)	8,69 (5,8-16,1)	4,12	-
	PB3	300	5	2,17 ± 0,25	1,98 (1,42-2,58)	23,40 (15,4-43,5)	4,54	2,7 (1,86-3,99)*
	PB2	287	5	1,58 ± 0,20	2,65 (1,71-3,72)	78,86 (43,4-201,1)	2,26	3,7 (2,32-5,72)*
	PB1	217	5	1,66 ± 0,18	3,03 (2,22-4,04)	76,88 (42,6-185,5)	4,95	4,2 (2,85-6,12)*
	MSR2	418	6	1,47 ± 0,12	5,01 (3,94-6,30)	193,78 (113,5-402,4)	3,61	6,9 (4,93-9,66)*
	CMSF	211	5	2,04 ± 0,28	5,19 (3,59-6,96)	71,57 (42,7-166,0)	4,80	7,2 (4,78-10,69)*

Tabela 2. Continuação...

Inseticida	População	n ^a	GL ^b	Inclinação ± EP ^c	CL ₅₀ (IC95%) ^d	CL ₉₉ (IC95%) ^d	χ ^{2e}	RT ₅₀ (IC95%) ^f
Espinósade	PB3	280	5	1,29 ± 0,19	1,03 (0,48-1,75)	66,14 (30,3 – 247,1)	4,61	-
	PB2	356	5	1,15 ± 0,12	1,25 (0,80-1,80)	131,51 (63,0 – 388,9)	3,39	1,2 (0,57-2,54)
	CMSF	164	5	2,22 ± 0,47	2,02 (1,06-2,88)	22,59 (12,6 – 82,7)	4,69	2,00 (0,91-4,22)
	PB1	214	4	1,28 ± 0,21	2,03 (1,23-3,44)	1029,05 (246,0 – 11787,0)	2,98	2,00 (0,82-4,75)
	MSR1	213	6	1,62 ± 0,27	3,77 (2,53-5,13)	78,43 (42,3 – 225,8)	4,64	3,7 (1,79-7,47)*
	MSR2	210	4	2,41 ± 0,33	13,45 (10,14-16,91)	124,37 (80,00 – 256,4)	3,50	13,1 (6,67-25,63)*
Espinotoram	PB3	299	5	1,21 ± 0,14	0,19 (0,12-0,28)	16,41 (7,5-54,4)	4,54	-
	PB2	214	5	1,26 ± 0,17	0,22 (0,13-0,34)	15,17 (6,5-61,7)	4,77	1,1 (0,60-2,12)
	MSR1	126	8	1,13 ± 0,23	0,31 (0,09-0,63)	35,39 (11,2- 432,9)	2,04	1,6 (0,61-4,20)
	CMSF	259	5	3,97 ± 0,85	0,53 (0,39-0,64)	2,06 (1,5-4,5)	0,59	2,8 (1,72-4,45)*
	PB1	216	5	1,56 ± 0,19	0,54 (0,37-0,76)	16,57 (8,2-49,4)	1,75	2,8 (1,61-4,83)*
	MSR2	228	6	1,08 ± 0,16	0,60 (0,35-0,91)	84,5 (30,4-527,3)	5,21	3,1 (1,68-5,81)*

^a Número total de insetos utilizados.

^b Grau de liberdade.

^c Erro padrão.

^d Miligramas de ingrediente ativo por litro de água.

^e Qui-quadrado.

^f Razão de resistência: razão das estimativas da CL₅₀ entre a população tolerante e suscetível, calculada através do método de Robertson & Preisler (1992) e intervalo de confiança a 95% das estimativas da CL₅₀. * Razões de tolerância significativas.

Tabela 3. Média de atividade enzimática de larvas de terceiro instar de *Liriomyza sativae* (Temperatura: 25 ± 1°C, UR: 60 ± 5%)

População	α -Naftol ^a	β -Naftol ^a	GSDNB ^a	P-nitrofenol ^a
PB III	87,64 (± 8,04) a	112,55(± 6,13)ab	96,08 (± 13,16)bc	0,16 (± 0,03)bc
PB II	62,00 (± 6,78) b	88,87(± 9.05)c	62,33 (± 13,83)dc	0,27 (± 0,05)b
CMSF	55,36 (± 2,42) bc	109,76(± 3,48)ab	5,87 (± 0,36)d	0,12 (± 0,01)c
MSR II	49,51 (± 1,24) bc	72,35(± 4,68)c	162,04 (± 22,23)a	0,21 (± 0,01)bc
PB I	42,66 (± 5,92) bc	89,56(± 6,48)bc	124,38 (± 15,76)ab	0,18 (± 0,03)bc
MSR I	31,92 (± 6,63) c	129,52(± 5,05)a	60,93 (± 2,33)dc	0,4 0(± 0,03)a

Médias seguidas da mesma letra, dentro da mesma coluna, não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

^a η mol/min/mg de proteína.

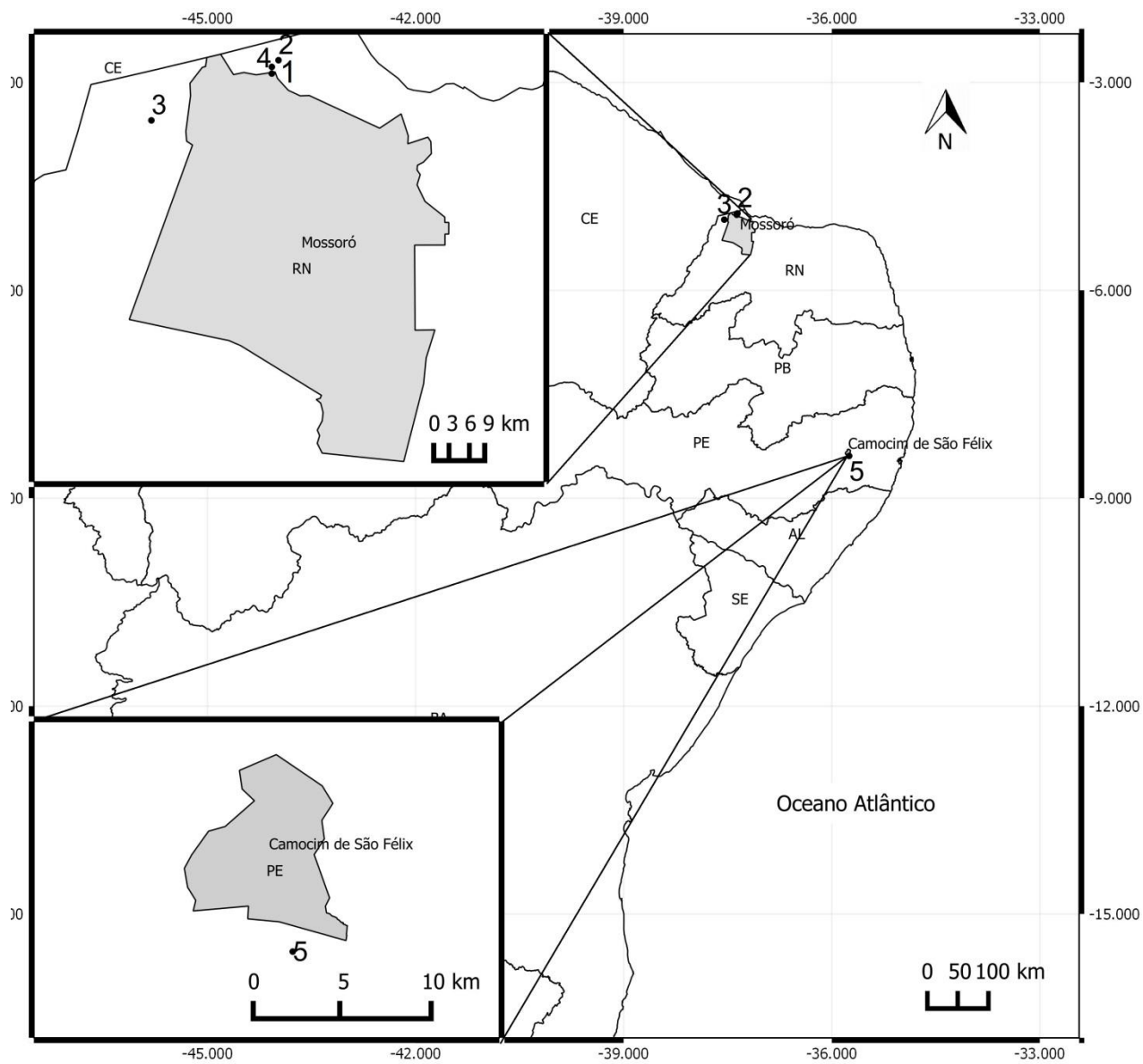


Figura 1. Locais de coleta de *Liriomyza sativae* nos estados de Pernambuco e Rio Grande do Norte