

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FERNANDA OSMARA WAGNER

**BIOENSAIOS POR INGESTÃO E MODOS DE AÇÃO DE INSETICIDAS PARA
CARACTERIZAR SUSCETIBILIDADE E RESISTÊNCIA DOS PERCEVEJOS
Euschistus heros E *Dichelops melacanthus***

PONTA GROSSA
2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FERNANDA OSMARA WAGNER

**BIOENSAIOS POR INGESTÃO E MODOS DE AÇÃO DE INSETICIDAS PARA
CARACTERIZAR SUSCETIBILIDADE E RESISTÊNCIA DOS PERCEVEJOS
Euschistus heros E *Dichelops melacanthus***

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós Graduação em Agronomia, linha de pesquisa em manejo fitossanitário.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez

PONTA GROSSA
2017

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

W132 Wagner, Fernanda Osmara
Bioensaios por ingestão e modos de ação de inseticidas para caracterizar suscetibilidade e resistência dos percevejos *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus*/ Fernanda Osmara Wagner. Ponta Grossa, 2017.
75f.

Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração: Agricultura), Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientador: Prof. Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez.

1. Neonicotinóides. 2. Piretróides e organofosforados. I. Sosa-Gómez, Daniel Ricardo. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Agronomia. III. T.

CDD: 632.951.7



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação: "Bioensaios por ingestão e modos de ação de inseticidas para caracterizar suscetibilidade e resistência dos percevejos *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus*".

Nome: Fernanda Osmary Wagner

Orientador: Daniel Ricardo Sosa-Gómez

Aprovado pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez

Dr. Rodolfo Bianco

Prof. Dr. Adalci Leite Torres

Data da Realização: 27 de abril de 2017.

Aos meus pais e irmãos, por todo apoio e incentivo.
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre guiar os meus passos e me dar forças para eu enfrentar as dificuldades.

Ao meu orientador Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez pelos ensinamentos repassados, pela orientação, meu muito obrigada.

À querida Dr. Ivani de Oliveira Negrão Lopes, pela contribuição na realização das análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Rui Scaramella Furiatti, por me proporcionar a primeira oportunidade em trabalhar com entomologia durante a graduação, pelos conselhos e ensinamentos, minha eterna gratidão.

À minha família, por entenderem a minha ausência e por serem os meus incentivadores nesta caminhada, obrigada.

Aos professores do Programa de Pós- Graduação em Agronomia, pelos conhecimentos repassados durante este período.

À Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária (Embrapa Soja) por conceder o espaço físico, materiais e equipamentos para a realização deste trabalho.

À equipe de campo de Embrapa Soja, Oriverto Tonon, Adriano dos Santos Dalben pela ajuda nas coletas de *Euschistus heros*.

Aos meus amigos da Embrapa Soja, Jovenil J. da Silva, Ivanilda L. Sodório, Fábio Paro, Jairo J. da Silva, Sérgio H. da Silva. Em especial, ao Jovenil J. da Silva, pela amizade, pelo conhecimento repassado durante este período, muito obrigada.

Aos amigos do Laboratório de criação de percevejos Érica A. Taguti, Eva C. Assunção, Ana C. Jorgini, Paula Klein, obrigada pela amizade de vocês e pelo incentivo de sempre, meus sinceros agradecimentos.

Aos amigos do Programa de Pós- Graduação em Agronomia da UEPG, pela convivência e pela amizade. Em especial, aos meus amigos, Fernanda V. Hilgemberg, Adliz A. B.B. Salgado, Lucia H. Wiecheteck, Giovani F. Luengo, Sandoval Carpinelli.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa e aos cursos de Agronomia e Pós Graduação desta instituição pela oportunidade concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo durante este período.

Aos amigos, Ronie Barros, Isis Thomaz, Izabel Migacz, Lucas S. Caldeira (*in memorian*), que apesar da distância, sempre torceram por mim, meu muito obrigada.

E a todas as pessoas que, de alguma forma, tornaram possível a concretização deste trabalho.

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado”
SHINYASHIKI, R.

WAGNER, Fernanda Osmary. **Métodos de bioensaios e modos de ação de inseticidas para caracterizar suscetibilidade e resistência dos percevejos *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus***. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

RESUMO

A soja é uma das culturas mais cultivadas no país, sendo os percevejos da família Pentatomidae responsáveis por parte das maiores perdas em produtividade. O percevejo marrom, *Euschistus heros*, causa danos severos em soja. Por outro lado, o percevejo barriga-verde, *Dichelops melacanthus*, causa danos intensos em milho e trigo, podendo atacar também a soja. Para seu controle, podem ser realizadas pulverizações com inseticidas ou o tratamento de sementes, como no caso de *D. melacanthus*. O objetivo deste trabalho, foi determinar a viabilidade de realizar bioensaios de ingestão em *E. heros* e *D. melacanthus*, assim como determinar o modo de ação dos inseticidas utilizados para o controle do percevejo *E. heros*. Os insetos utilizados para o ensaio de ingestão eram provenientes do laboratório e nos ensaios de aplicação tópica, foram realizadas coletas de campo em: Cândido Mota, SP, Palmital, SP, Pedrinhas Paulista, SP e Sertaneja, PR. Os dados obtidos foram analisados por ANOVA e análise de Probit. A CL_{50} de *E. heros* para a mistura thiametoxam + lambda cialotrina calculada foi de $(0,038 + 0,028 \mu\text{g de i.a.mL}^{-1})$ e para *D. melacanthus* $(0,219 + 0,164 \mu\text{g de i.a.mL}^{-1})$, respectivamente. Nos ensaios de ingestão, essa mistura causou mortalidade elevada em comparação aos outros ingredientes ativos testados. Quando foi realizada a inoculação com o inseticida thiametoxam e o agente sinergista butóxido de piperonila (PBO) as mortalidades foram significativamente maiores nas quatro populações testadas indicando que as enzimas monooxigenases estariam realizando a detoxificação do inseticida. Da mesma forma, o imidacloprido causou maior mortalidade quando aplicado com o mesmo sinergista, indicando detoxificação por enzimas monooxigenases e/ou esterases. Os tratamentos com os piretróides (lambda-cialotrina e beta-ciflutrina) e o PBO causaram mortalidades superiores ou mais rápidas que o inseticida aplicado isoladamente. Quando foram realizados os tratamentos com acefato e acefato mais dietil maleato, as mortalidades de *E. heros* foram mais rápidas com o sinergista dietil maleato, indicando o envolvimento de enzimas glutationa-S-transferases, no processo de detoxificação, principalmente com níveis mais elevados na população de Sertaneja-PR.

Palavras-chave: neonicotinóides, piretróides e organofosforados.

WAGNER, Fernanda Osmara. **Bioassays by ingestion and modes of action of insecticides to characterize susceptibility and resistance of stink bugs *E. heros* and *D. melacanthus***. Dissertation (Master's in Agronomy) – Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

ABSTRACT

Soybean is one of the most cultivated crops in the country, and the stink bugs of the largest losses in productivity. The Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* cause severe damage to soybeans, however the green belly stink bug *Dichelops melacanthus* cause severe damage to corn and wheat, and can also attack soybeans. For its control, seed treatment can be performed, as in the case of *D. melacanthus*, or sprays with insecticides. The objective of this work was to determine the feasibility of conducting ingestion bioassays in *E. heros* and *D. melacanthus*, as well as to determine the mode of action of the insecticides used to control the *E. heros* stink bug. The feasibility of ingestion bioassays on *E. heros* and *D. melacanthus* with systemic insecticides was investigated, as well a topical bioassay with synergistic substances on *E. heros* to determine the mode of action of the most common recommended insecticides. The insects used in the bioassays were collected in Cândido Mota-SP, Palmital-SP, Pedrinhas Paulista-SP and Sertaneja-PR. The data obtained were analyzed by ANOVA and Probit analysis. The CL_{50} for *E. heros* for the thiametoxam + lambda cyhalothrin mixture was (0.038 + 0.028 $\mu\text{g i.a.mL}^{-1}$) and for *D. melacanthus* (0.219 + 0.164 $\mu\text{g de i.a.mL}^{-1}$). In ingestion trials, this mixture achieved high mortality compared to the other active ingredients tested. When inoculation with the insecticide thiametoxam and the synergist piperonyl butoxide (PBO) agent was performed, the mortalities were significantly higher in the four populations tested indicating that the monooxygenases would be detoxifying the insecticide. Likewise, imidacloprid caused higher mortality when applied with the same synergist, indicating detoxification by monooxygenase enzymes. In the same way, treatments with pyrethroids (lambda-cyhalothrin and beta-cyfluthrin) and PBO caused higher or faster mortalities than the insecticide applied alone. When treatments with acephate and acephate plus diethyl maleate were performed, *E. heros* mortalities were faster with the synergist diethyl maleate, indicating detoxification of the insecticide by glutathione-S-transferases enzymes, mainly in the population of Sertaneja-PR.

Key words: neonicotinoids, pyrethroids and organophosphates.

LISTA DE FIGURA

- Fig. 1 - Detoxificação geral da maioria dos inseticidas (HODGSON, 1985)..... 31
- Fig. 2 - Mortalidade de *D. melacanthus* após tratamento com diluições dos inseticidas em 100 mL de água: thiametoxam, imidacloprido e as formulações de imidacloprido + beta-ciflutrina, thiametoxam + lambda-cialotrina, 24 h após a infestação..... 40
- Fig. 3 - Mortalidade de *D. melacanthus* causada por diluições dos produtos comerciais em 100 mL de água: thiametoxam, imidacloprido e as formulações de imidacloprido + beta-ciflutrina e thiametoxam + lambda-cialotrina 48 h após a infestação..... 41
- Fig. 4 - Mortalidade de *E. heros* tratados por ingestão com os inseticidas thiametoxam, imidacloprido e as formulações comerciais de imidacloprido + beta-ciflutrina, thiametoxam + lambda-cialotrina 24 h após a infestação. 43
- Fig. 5 - Avaliação de *E. heros* em relação aos ingredientes ativo thiametoxam, imidacloprido e as misturas imidacloprido + beta ciflutrina, thiametoxam + lambda cialotrina em 48 h após a infestação..... 43
- Fig. 6 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Cândido Mota após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h..... 45
- Fig. 7 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Palmital após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h. 46
- Fig. 8 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h..... 46
- Fig. 9 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Sertaneja após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h. 47
- Fig. 10 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* provenientes da criação de laboratório após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 24 h..... 47
- Fig. 11 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Cândido Mota após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h..... 48
- Fig. 12 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Palmital após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h. 49

Fig. 13 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.....	49
Fig. 14 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Sertaneja após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.	50
Fig. 15 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> provenientes da criação de laboratório após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 24 h.....	50
Fig. 16 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Cândido Mota após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.....	51
Fig. 17 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Palmital após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.	52
Fig. 18 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.....	52
Fig. 19 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Sertaneja após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.	53
Fig. 20 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> provenientes da criação de laboratório após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 24 h.....	53
Fig. 21 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Cândido Mota após a aplicação tópica de acefato e acefato + dietil maleato (DEM) após 48 h.....	54
Fig. 22 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Palmital após a aplicação tópica de acefato e acefato + dietil maleato (DEM) após 48 h.....	54
Fig. 23 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de acefato e acefato + dietil maleato (DEM) após 48 h.....	55
Fig. 24 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Sertaneja após a aplicação tópica de acefato e acefato + dietil maleato (DEM) após 48 h.	55
Fig. 25 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> provenientes da criação de Laboratório após a aplicação tópica de acefato e acefato + dietil maleato (DEM) após 24 h.....	56

Fig. 26 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Cândido Mota após a aplicação tópica de beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.....	56
Fig. 27 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Palmital após a aplicação tópica de beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.	57
Fig. 28 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.....	57
Fig. 29 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> na população de Sertaneja após a aplicação tópica de beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.	58
Fig. 30 - Mortalidade \pm EP de <i>E. heros</i> tratado com o inseticida beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + PBO 24 horas após a aplicação.	59

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Inseticidas liberados para o controle de percevejo <i>Euschistus heros</i> na cultura da soja (SEAB, 2016)	24
TABELA 2 - Inseticidas liberados para o controle de percevejo <i>Euschistus heros</i> na cultura da soja (MAPA, 2017)	25
TABELA 3 - Inseticidas liberados para o controle de percevejo <i>Dichelops melacanthus</i> na cultura da soja (SEAB, 2016)	26
TABELA 4 - Locais de coleta, Global Positioning System (GPS) e número de insetos coletados	38
TABELA 5 - Concentração letal 50 para os ingredientes ativos thiametoxam, imidacloprido e as misturas imidacloprido + beta-ciflutrina, thiametoxam + lambda-cialotrina em 48horas após o início do ensaio com o percevejo <i>D. melacanthus</i>	42
TABELA 6 - Concentração letal 50 para os ingredientes ativos thiamethoxam, imidacloprido e as misturas imidacloprido + beta-ciflutrina, thiamethoxam + lambda-cialotrina em 48horas após o início do ensaio com o percevejo <i>D. melacanthus</i>	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2.OBJETIVOS	16
2.1. OBJETIVO GERAL.....	16
2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1. A CULTURA DA SOJA.....	17
3.2.IMPORTÂNCIA DO COMPLEXO DE PERCEVEJOS NA CULTURA DA SOJA	18
3.3.IMPORTÂNCIA DO PERCEVEJO <i>Dichelops melacanthus</i> (Dallas,1851) NA CULTURA DE MILHO, TRIGO E SOJA.....	19
3.4. DANOS DOS PERCEVEJOS.....	21
3.5. NÍVEL DE AÇÃO E CONTROLE DE PERCEVEJOS	22
3.6. TRATAMENTO DE SEMENTES PARA O CONTROLE DE PERCEVEJOS.....	26
3.7.MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DE INSETOS A INSETICIDAS.....	27
3.7.1. Penetração da cutícula.....	28
3.7.2. Detoxificação do inseticida.....	28
3.7.3. Sítio de ação	28
3.7.3.1. Acetilcolinesterase (AChE).....	29
3.7.3.2.Acetilcolina.....	29
3.7.3.3. Canais de sódio.....	30
3.8. RESISTÊNCIA METABÓLICA.....	30
3.8.1. Monooxigenases.....	31
3.8.2. Esterases.....	33
3.8.3. Glutathione S-transferases (GST).....	33
3.9. USO DE SINERGISTAS.....	34
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1. BIOENSAIO POR INGESTÃO.....	36
4.2. BIOENSAIOS PARA DETERMINAÇÃO DO MODO DE AÇÃO	37
5. RESULTADOS	40
5.1. BIOENSAIOS DE INGESTÃO.....	40
5.1.2. AÇÃO SISTÊMICA DE INSETICIDAS EM <i>Dichelops melacanthus</i>	40
5.1.3. AÇÃO SISTÊMICA DE INSETICIDAS EM <i>Euschistus heros</i>	42
5.2. BIOENSAIOS PARA DETERMINAÇÃO DO MODO DE AÇÃO.....	44
6.DISSCUSSÃO.....	60
7. CONCLUSÕES.....	64
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

1.Introdução

A cultura da soja está sujeita ao ataque de diversas pragas que atacam durante o período vegetativo e reprodutivo, e frequentemente há necessidade de realizar múltiplas aplicações de inseticidas. Portanto, o manejo adequado pode diminuir o número de aplicações durante todo o ciclo da cultura, minimizando aplicações em excesso.

Resultados do manejo integrado de pragas da soja na safra 2015/16 no Paraná, verificaram que a espécie predominante nas Unidades de Referência (URs) é o percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius,1798), o que corresponde a 63,9% das espécies de pentatomídeos presentes durante o ciclo da soja, por outro lado, o percevejo *Dichelops melacanthus* corresponde a 10,2% (CONTE et al.,2016).

Na região Norte do Paraná, o percevejo marrom representa 80,5% do total de percevejos ao longo da safra 2015/16 e o percevejo *D. melacanthus* (Dallas, 1851) apresenta 5,9% do total de percevejos (CONTE et al., 2016).

O percevejo-verde (*Nezara viridula*) foi a espécie predominante nos primeiros anos de cultivo de soja no Paraná na década de 70, cedendo lugar ao longo do tempo para outras espécies como o percevejo-marrom. Porém tem ocorrido em proporção considerável em safras recentes, sendo a segunda espécie mais frequente (CONTE et al.,2016).

Os percevejos são considerados como uma das pragas de maior importância para a cultura da soja (CORRÊA-FERREIRA e PANIZZI, 1999, BELORTE et al., 2003) por se alimentarem diretamente de sementes, sendo responsáveis por danos que refletem na redução da produção, na qualidade das sementes e por transmissão de doenças (BELORTE et al., 2003). Pelas altas densidade e elevados danos ocasionados, destacam-se as espécies *E. heros* (Fabricius, 1798), *N. viridula* (Linneaus, 1758), *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837), *D. melacanthus* (Dallas, 1851) (CONTE et al., 2015; SOSA-GÓMEZ e SILVA, 2010), sendo que a flutuação populacional de cada espécie e a severidade dos danos estão relacionados respectivamente com o estágio fenológico das plantas (BELORTE et al., 2003).

A intensificação do cultivo do milho especialmente na segunda época (safrinha), a rotação e sucessão de culturas têm modificado significativamente

os agroecossistemas em relação à composição, abundância e capacidade de adaptação de diferentes espécies de pragas (ÁVILA e DUARTE, 2012).

Essas mudanças, provavelmente, desencadearam o crescimento populacional de algumas espécies de percevejos, como as do gênero *Dichelops*, consideradas pragas secundárias (PANIZZI, 1997) e hoje vistas como pragas iniciais nas culturas do trigo e do milho (BIANCO, 2005; MANFREDI-COIMBRA et al., 2005).

Para o controle destes insetos, são recomendados inseticidas, que embora eficazes, frequentemente ocasionam problemas como desequilíbrio ambiental, intoxicação humana, resíduos em alimentos e eliminação de inimigos naturais (BYRNE et al., 2003) além de aplicações sucessivas de um mesmo produto químico podem favorecer a seleção de indivíduos resistentes (SILVA et al., 2009; SOSA-GÓMEZ et al., 2001).

O controle do percevejo barriga-verde pode ser realizado preventivamente, empregando-se inseticidas aplicados nas sementes ou em pulverizações realizadas na fase inicial de desenvolvimento da cultura (ALBUQUERQUE et al., 2006).

A utilização do manejo integrado de pragas é uma excelente alternativa para o produtor, pois através de um monitoramento na lavoura, pode-se evitar o uso em excesso de inseticidas e como consequência geral, populações resistentes no futuro.

A técnica de bioensaios pode ser um método eficiente para avaliar a atividade inseticida em percevejos, seja através de ingestão ou aplicação tópica. Por serem testes rápidos, podem proporcionar respostas sobre diferentes inseticidas ou caracterizar a respostas de diferentes populações.

Considerando que a enzima citocromo P-450 monooxigenase parece estar envolvida no processo de detoxificação em algumas populações do percevejo *E. heros* (HUSCH, 2016), no presente trabalho, foi testada a ação do butóxido de piperonila (PBO) em aplicações conjuntas com neonicotinóides e piretróides, em diferentes populações, afim de verificar se o sinergista realçava a mortalidade dos insetos, confirmando assim seu modo de ação. A ação do dietil maleato (DEM) foi testado em conjunto com organofosforado (acefato) a fim de verificar sua ação confirmando sua ação em enzimas do grupo glutathiona-S-transferases.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a viabilidade de bioensaios por ingestão para caracterizar a suscetibilidade de *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus* a inseticidas.

Determinar se o modo de ação dos inseticidas, utilizados no controle de *Euschistus heros*, pode auxiliar na identificação de populações resistentes.

2.2. Objetivos Específicos

Construir curvas de suscetibilidade de percevejos através de bioensaios por ingestão, utilizando os ingredientes ativos imidacloprido, thiametoxam e as misturas thiametoxam + lambda-cialotrina, imidacloprido + beta-ciflutrina.

Estabelecer as CL_{50} de thiametoxam, imidacloprido, imidacloprido + beta – ciflutrina e thiametoxam + lambda-cialotrina por meio de ensaios por ingestão para *D. melacanthus* e *E. heros*.

Verificar, em populações geográficas de *E. heros*, se o modo de ação dos inseticidas acefato, thiametoxam, lambda-cialotrina, imidacloprido, beta–ciflutrina e respectivos agentes sinergistas, pode discriminar populações resistentes do percevejo.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. A cultura da soja

O cultivo da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] revolucionou a prática da agricultura no país, tanto pela abertura de novas áreas agrícolas, como pelos desafios no uso de diferentes métodos de controle de pragas (HOFFMANN-CAMPO, et al., 2012). A cultura constitui um dos produtos de maior importância para a economia brasileira (BARBOSA e ASSUMPÇÃO, 2001) e trata-se da principal atividade agrícola do Brasil (ROESSING e LAZZAROTTO, 2004).

A cultura apresenta grande importância na agricultura mundial. Devido à grande diversidade do uso da oleaginosa e ao aumento da demanda global por alimentos, a área destinada ao cultivo de soja vem aumentando anualmente. De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), a área plantada no mundo passou de 81,48 milhões de hectares na safra 2002/03 para 108,55 milhões na safra 2012/13, um crescimento de 33% na década. Além do aumento na área plantada, o investimento em pesquisa e no desenvolvimento de cultivares melhores adaptadas tem resultado em aumento na produtividade (MOREIRA, 2013).

Segundo o levantamento da safra brasileira de grãos de 2016/2017, a estimativa é de que a área plantada alcance 33,71 milhões de hectares. A cultura da soja, responsável por 48,68% da área cultivada do país, permanece como principal responsável pelo aumento de área. A estimativa de produção de grãos é 227,97 milhões de toneladas, onde a soja contribui com 110,16 milhões de toneladas. A média de produtividade brasileira é estimada em 3.268 kg/ha (CONAB, 2017).

A região Sul tem uma estimativa de área para o cultivo de grãos em 19,68 milhões de hectares, sendo que o Estado do Paraná apresenta uma área estimada de 5,24 milhões de hectares com a cultura da soja, com uma produtividade em 3.548 kg/ha (CONAB, 2017).

Entre os insetos que atacam a cultura, os percevejos sugadores de sementes são as principais pragas da soja (BELORTE et al., 2003; PANIZZI, 2002; SUJII et al., 2002), principalmente aqueles da família Pentatomidae (CORRÊA-FERREIRA e AZEVEDO, 2002).

3.2. Importância do complexo de percevejos na cultura da soja.

Os percevejos fitófagos representam um dos grupos mais importantes de insetos-pragas na cultura da soja. Por se alimentarem diretamente das vagens, atingem os grãos, afetando seriamente o rendimento, a qualidade fisiológica e sanitária da semente (CORRÊA-FERREIRA, KRZYZANOWSKI e MINAMI, 2009).

O problema da presença do percevejo na cultura vem se tornando mais sério a cada safra, em função da ocorrência de elevadas populações do inseto, não-realização de um monitoramento adequado das pragas, desenvolvimento de populações resistentes e aplicações indiscriminadas de produtos que levam ao desequilíbrio e à ressurgência mais rápida dos insetos-praga (CONTE, et al., 2015, CONTE, et al., 2016, CORRÊA-FERREIRA, KRZYZANOWSKI e MINAMI, 2009).

Dos percevejos que atacam a soja, as espécies *Euschistus heros*, *Piezodorus guildini* e *Nezara viridula* se destacam pelos danos que podem causar (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000), além de espécies menos comuns, cujos aumentos populacionais são determinados por sistemas de produção, por exemplo, *Dichelops melacanthus* (PANIZZI, 1997).

O percevejo marrom *E. heros* (Heteroptera: Pentatomidae) que é nativo da Região Neotropical (América Tropical), está bem adaptado aos climas mais quentes, sendo mais abundante do Norte do Paraná ao Centro Oeste do Brasil (CORREA-FERREIRA e PANIZZI, 1999; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000).

Esses pentatomídeos iniciam o processo de deixar a cultura da soja, após atingir o pico populacional durante o período em que as plantas iniciam a senescência. Esse processo de abandonar a cultura se intensifica, à medida que as plantas vão secando (CORRÊA-FERREIRA e PANIZZI, 1999). Após o período das culturas de verão, os percevejos se alimentam de plantas hospedeiras alternativas e podem completar mais uma geração, antes de se deslocarem para abrigos, ou podem ainda, continuar a se reproduzir nas plantas alternativas. Além disso, algumas espécies podem alimentar-se de culturas de entressafra, cultivadas em sistema de semeadura direta. Nessas áreas, permanecem no solo sob restos culturais de soja, onde encontram abrigo e alimento (CORRÊA-FERREIRA, KRZYZANOWSKI e MINAMI, 2009).

Portanto, os cultivos da entressafra, bem como as plantas hospedeiras no entorno da lavoura, contribuem para a sobrevivência e a permanência das espécies de percevejos e, principalmente, influenciam a densidade de percevejos no início do ciclo da soja (PANIZZI, BUENO e SILVA, 2012).

Durante a safra da cultura da soja, *E. heros* pode apresentar três gerações. Após a colheita, alimentando-se de outras plantas hospedeiras, completa a quarta geração e entra em dormência (oligopausa) na palhada da cultura anterior, onde se protege da ação dos parasitóides e predadores. Nesse período, que dura aproximadamente sete meses, não se alimenta, mas consegue sobreviver das reservas de lipídios que foram armazenadas antes da oligopausa (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000, PANIZZI, 1997).

Corrêa-Ferreira et al. (2010), estudando parâmetros bioecológicos dessa espécie, constataram que as altas densidades populacionais, inclusive na fase vegetativa da soja, estão também relacionadas com as práticas inadequadas de manejo, principalmente pelo uso abusivo e errôneo de agrotóxicos.

Como hospedeiros alternativos deste percevejo, Panizzi (1997, 2003), Mourão e Panizzi (2000) citam o amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.), algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), ligustro (*Ligustrum* sp.), mamona (*Ricinus communis* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), ervilha (*Pisum sativum* L.), alfafa (*Medicago sativa* L.), e carrapicho de carneiro (*Acanthospermum hispidum* DC).

3.3. Importância do percevejo *Dichelops melacanthus* nas culturas de milho, trigo e soja

As mudanças no cenário agrícola decorrentes do sistema de plantio direto e do cultivo no período da chamada “safrinha” têm propiciado o estabelecimento de diversos insetos-praga (ÁVILA e DUARTE, 2012; CHOCOROSQUI e PANIZZI, 2004). Dentre eles, o percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus*, que pode atacar as culturas do milho (*Zea mays*) L. (CHOCOROSQUI e PANIZZI, 2004; PANIZZI, 1997) e do trigo (*Triticum aestivum*) L. na fase inicial de desenvolvimento, especialmente no Paraná (CHOCOROSQUI e PANIZZI, 2004; MANFREDI-COIMBRA et al., 2005; PANIZZI, 1997).

Entretanto, na cultura da soja, segundo o levantamento nas Unidades de Referência (URs) do Manejo Integrado de Pragas da soja (MIP) na safra de 2015/2016, este inseto foi a terceira espécie mais frequente no Paraná, o que corresponde a 10,2% do total de percevejos encontrados nas lavouras avaliadas e na região Norte do Estado, o mesmo apresenta 5,9% de ocorrência (CONTE et al., 2016).

O percevejo barriga-verde *D. melacanthus* é uma praga neotropical importante em diversas culturas na região Sul do Brasil (BIANCO, 2005; PANIZZI et al., 2007).

O sistema de produção de grãos nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil é caracterizado pela utilização do sistema de plantio direto e uso intenso das áreas por cultivo de milho safrinha, o que tem favorecido o crescimento populacional de algumas espécies de percevejos consideradas anteriormente pragas secundárias no milho, como o percevejo barriga-verde (*D. melacanthus* e *D. furcatus*), percevejo verde (*Nezara viridula*) e também o percevejo marrom (*E. heros*) (QUINTELA et al., 2006).

No Paraná, o cultivo do milho “safrinha” após a colheita da soja ou do milho, e a utilização da mesma área para cultivo do trigo no inverno, fornecem condições ideais para a sobrevivência de insetos polípagos, como o *D. melacanthus*, cuja população aumenta a ponto de causar danos significativos em diversas culturas (CHOCOROSQUI, 2001).

Na cultura do trigo, com a mudança do cenário agrícola a partir da implantação do sistema de semeadura direta, houve uma mudança na incidência de percevejos em trigo, onde os restos de cultura sobre o solo criam um ambiente propício para abrigo e alimentação destes insetos (PANIZZI et al., 2015).

Isto resultou na recomendação aos produtores de controle químico por aplicação de inseticidas nas folhas ou por tratamento de sementes para evitar o dano percevejos para estas culturas (MARTINS, et al., 2009; BRUSTOLIN, BIANCO e NEVES, 2011; ÁVILA e DUARTE, 2012; CHOCOROSQUI e PANIZZI, 2004).

3.4. Danos dos percevejos

Esses pentatomídeos iniciam a colonização das lavouras no final do período vegetativo e início da floração (R1 a R2) (CORRÊA-FERREIRA e PANIZZI, 1999). Nessa época, os percevejos da espécie *E. heros* saem da oligopausa ou de hospedeiros alternativos e colonizam a soja, aumentando progressivamente suas populações durante a fase reprodutiva (CORRÊA-FERREIRA e PANIZZI, 1999; CORRÊA-FERREIRA, 2005).

Próximo à floração, estes insetos iniciam a oviposição e a partir do desenvolvimento de vagens (R3), que os problemas com os percevejos são importantes (CORRÊA-FERREIRA e ROGGIA, 2012).

Portanto, o período da cultura mais crítico ao ataque desses insetos vai de R3 até o final do enchimento de grãos (R6). No período de maturação (R7), próximo à colheita, as plantas suportam ataques maiores de percevejos e sua produtividade praticamente não é afetada (CORRÊA-FERREIRA e ROGGIA, 2012).

Esses percevejos se alimentam diretamente das sementes, provocando danos através da abscisão de legumes. Se a injúria for no início do desenvolvimento destes órgãos, podem causar enrugamento e deformação de sementes, quando o ataque ocorre durante o enchimento das sementes, além de reduções no rendimento, na germinação, transmissão de doenças às sementes e retenção foliar (BELORTE et al., 2003).

Devido ao hábito sugador, essa praga afeta irreversivelmente as sementes, grãos e hastes de soja, constituindo-se atualmente como uma das principais e mais abundantes pragas da cultura no Brasil (SOSA-GÓMEZ e OMOTO, 2012). Os danos aos tecidos vegetais, incluindo sementes e frutos, resultam da frequência da penetração do estilete e da duração da alimentação, associados com as secreções salivares que podem ser tóxicas e causar necrose em tais tecidos (PANIZZI, 2000).

Na fase inicial do desenvolvimento das plantas de soja, são as espécies *E. heros*, *D. melacanthus* ou *Piezodorus guildinii* que normalmente estão presentes, sendo a primeira a mais abundante (CONTE et al., 2015; CONTE et al., 2016; CORRÊA-FERREIRA, 2005).

O sistema de plantio direto pode favorecer a ocorrência de algumas pragas, onde os percevejos que ocorrem na cultura da soja podem atacar plântulas de milho, como é o caso da espécie *D. melacanthus* (CHOCOROSQUI e PANIZZI, 2004; ROZA-GOMES et al., 2011).

O ataque de percevejos causa retardamento da maturação (retenção foliar e haste verde), dificultando a colheita (SOSA-GÓMEZ e MOSCARDI, 1995). Pode levar ao aborto de grãos e legumes, reduzir a germinação e o vigor das sementes, reduzir o teor de óleo dos grãos, causar distúrbios fisiológicos como o retardamento da maturação, e ainda transmitir patógenos, como o fungo *Nematospora coryli* Peglion, causador da mancha-fermento (DAUGHERTY, 1967).

3.5. Nível de ação e controle de percevejos

Na prática do Manejo Integrado de Soja (MIP-Soja), o complexo dos percevejos que atacam a soja deve ser controlado quando a densidade populacional estiver igual ou superior aos níveis de ação, ou seja, 2 percevejos adultos ou ninfas com mais de 0,3 cm por metro em lavouras de grãos e 1 percevejo adultos ou ninfas com mais de 0,3 cm por metro em lavouras destinadas a produção de sementes. Devem dar preferência aos produtos mais seletivos aos inimigos naturais e menos tóxicos ao homem (CONTE et al., 2015; CONTE et al., 2016).

No caso da cultura do milho, o percevejo *D. melacanthus* devem ser controlados quando a densidade populacional da praga estiver abaixo de 0,5 percevejo por metro de linha de plantas (CHIARADIA, NUNES e RIBEIRO, 2016). Ataque intenso de *D. melacanthus* em plantas de milho com até 25 dias de idade, tanto em cultivo normal como milho-safrinha tem causado perdas consideráveis em lavouras do Mato Grosso do Sul e Paraná (QUINTELA et al., 2006).

Uma vez atingido esse nível, o controle deve ser realizado objetivando reduzir as populações da praga (EMBRAPA, 1996). Os inseticidas apresentam um papel importante no controle de percevejos, pois oferece segurança para a implementação do MIP (DEGRANDE et al., 2000).

Alguns pré-requisitos são exigidos no uso de produtos e doses selecionados para uso no MIP, por exemplo: o inseticida, na dose selecionada, deve controlar 80-90% da praga visada; deve apresentar um efeito residual de média duração; deve ser seletivo para os principais inimigos naturais; não deve ter sérias restrições do ponto de vista toxicológico; deve ser econômico para uso na cultura; não podendo permanecer sob a forma de resíduos nos grãos (GAZZONI et al.,1988).

Para o controle químico dos percevejos em estudo, a Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná (SEAB) possui uma lista de produtos liberados que podem ser usados no controle da praga (Tabela 1) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Tabela 2). Os produtos liberados para o controle do percevejo *E. heros* tem como grupo químico os organofosforados, piretróides e neonicotinóides.

Para o controle do percevejo *D. melacanthus* (Tabela 3) existem vinte e dois produtos liberados para o controle do percevejo e dois grupos químicos disponíveis, os piretróides e neonicotinóides (SEAB, 2016). Portanto, poucos grupos químicos com modos de ação diferentes que possam ser utilizados para o controle das duas espécies de percevejos, o que pode favorecer o a seleção de populações resistentes.

TABELA 1 - Inseticidas liberados para o controle de percevejo *Euschistus heros* na cultura da soja (SEAB, 2016).

Nome Comercial	Ingrediente ativo	Concentração (g i.a.L ⁻¹ ou Kg ⁻¹)	Grupo químico
Acefato Nortox	acefato	750g/kg	Organofosforado
Captus 750 SP	acefato	750 g/Kg	Organofosforado
Centouro	acefato	750 g/kg	Organofosforado
Rapel	acefato	750 g/Kg	Organofosforado
Sumithion 500 EC	fenitrotiona	500 g/Kg	Organofosforado
Topstar	acefato	750g/kg	Organofosforado
Urge 750 SP	acefato	750g/kg	Organofosforado
Orthene 750 BR	acefato	750 g/kg	Organofosforado
Pyrinex 480 EC	clorpirifós	480 g/Kg	Organofosforado
Ametista	bifentrina + zeta cipermetrina	180 g/L 200 g/L	Piretróide Piretróide
Arrivo 200 EC	cipermetria	200g/L	Piretróide
Connect	beta ciflutrina + imidacloprido	12,5 g/L 100 g/L	Piretróide Neonicotinóide
Eforia	lambda-cialotrina + thiametoxam	106 g/L 141 g/L	Piretróide Neonicotinóide
Engeo	cipermetrina + thiametoxam	220 g/L 110 g/L	Piretróide Neonicotinóide
Engeo Pleno	lambda-cialotrina + thiametoxam	106 g/L 141 g/L	Piretróide Neonicotinóide
Fastac Duo	acetamiprido + alfa- cipermetrina	100 g/L 200 g/L	Neonicotinóide Piretróide
Galil SC	bifentrina + imidacloprido	50 g/L 250 g/L	Piretróide Neonicotinóide
Hero	bifentrina + zeta- cipermetrina	180 g/L 200 g/L	Piretróide Piretróide
Imidacloprid Nortox	imidacloprido	200 g/L	Neonicotinóide
Incrível	acetamiprido + alfa- cipermetrina	100 g/L 200 g/L	Neonicotinóide Piretróide
Malathion 1000 EC	malationa	1000 g/L	Organofosforado
Cheminova			
Mustang 350 EC	zeta-cipermetrina	350 g/L	Piretróide
Pirephos EC	esfenvalerato + fenitrotiona	40 g/L 400 g/L	Piretróide Organofosforado
Plantinum Neo	lambda-cialotrina + thiametoxam	106 g/L 141 g/L	Piretróide Neonicotinóide

TABELA 2 - Inseticidas liberados para o controle de percevejo *Euschistus heros* na cultura da soja (MAPA, 2017).

Nome Comercial	Ingrediente ativo	Concentração (g i.a.L ⁻¹ ou Kg ⁻¹)	Grupo químico
Acefato Fersol 750	acefato	750 g/kg	Organofosforado
Acefato Nortox	acefato	750 g/Kg	Organofosforado
Captus 750	acefato	750 g/kg	Organofosforado
Centauro	acefato	750 g/kg	Organofosforado
Orthene 750	acefato	750 g/kg	Organofosforado
Perito	acefato	970 g/kg	Organofosforado
Rapel	acefato	750 g/kg	Organofosforado
Pyrinex 480 EC	clorpirifós	480 g/kg	Organofosforado
Malathion 1000 EC	malationa	1000 g/L	Organofosforado
Cheminova			
Sumithion	fenitrotiona	500 g/L	Organofosforado
Pirephos	esfenvalerato + fenitrotiona	40 g/L 400 g/L	Piretróide + Organofosforado
Ametista	bifentrina + cipermetrina	180 g/L + 200 g/L	Piretróides
Arrivo	cipermetrina	200 g/L	Piretróide
Avant	cipermetrina	200 g/L	Piretróide
Commanche	cipermetrina	200 g/L	Piretróide
Mustang	zeta-cipermetrina	350 g/L	Piretróide
Alika	thiametoxam	110 g/L	Neonicotinóide
Adante	ciproconazol +thiametoxam	300 g/kg 300 g/kg	Triazol + Neonicotinóide
Connect	beta-ciflutrina + imidacloprido	12,5 g/L 100 g/L	Piretróides + Neonicotinóide
Eforia	lambda-cialotrina + thiametoxam	106 g/L 141 g/L	Piretróide + Neonicotinóide
Engeo	lambda-cialotrina + thiametoxam	200 g/L 110 g/L	Piretróide + Neonicotinóide
Engeo Pleno	lambda-cialotrina + thiametoxam	106 g/L 141 g/L	Piretróide + Neonicotinóide
Fastac Duo	acetamiprido + alfa-cipermetrina	100 g/L 200 g/L	Neonicotinóides + Piretróide
Galil	bifentrina + ilmidacloprido	50 g/L 250 g/L	Piretróide + Neonicotinóide
Hero	imidacloprido + zeta-cipermetrina	180 g/L 200 g/L	Piretróides
Imidacloprido Nortox	imidacloprido	200 g/L	Neonicotinóide
Incrivel	acetamiprido + alfa-cipermetrina	100 g/L 200 g/L	Neonicotinóide + Piretróide
Plantinum Neo	lambda-cialotrina + thiametoxam	106 g/L 141 g/L	Piretróide + Neonicotinóide
Talisman	bifentrina + carbosulfano	50 g/L 150 g/L	Piretróide + Metilcarbamato de benzofuranila

TABELA 3 - Inseticidas liberados para o controle de percevejo *Dichelops melacanthus* na cultura da soja (SEAB, 2016).

Nome Comercial	Ingrediente ativo	Concentração	Grupo químico
Adage 350 FS	thiametoxam	350 g/L	Neonicotinóide
Adage 700 FS	thiametoxam	700 g/L	Neonicotinóide
Alika	cipermetrina + thiametoxam	220 g/L	Piretróide
		110g/L	Neonicotinóide
Connect	beta ciflutrina + imidacloprido	12,5 g/L	Piretróide
		100 g/L	Neonicotinóide
Crop Star	imidacloprido + tiodicarbe	150 g/L	Neonicotinóide
		450 g/L	Metilcarbamato
Cruiser 350 FS	thiametoxam	350 g/L	Neonicotinóide
Cruiser 700 WS	thiametoxam	700 g/L	Neonicotinóide
Eforia	lambda-cialotrina + thiametoxam	106 g/L	Piretróide
		141 g/L	Neonicotinóide
Engeo	cipermetrina + thiametoxam	220 g/L	Piretróide
		110 g/L	Neonicotinóide
Engeo Pleno	lambda-cialotrina + thiametoxam	106 g/L	Piretróide
		141 g/L	Neonicotinóide
Galil SC	bifentrina + imidacloprido	50 g/L	Piretróide
		250 g/L	Neonicotinóide
Gaucho FS	imidacloprido	600 g/L	Neonicotinóide
Imidacloprid 600 FS	imidacloprido	600 g/L	Neonicotinóide
Imidacloprid Nortox	imidacloprido	480 g/L	Neonicotinóide
Inside FS	clotianidina	600 g/L	Neonicotinóide
Karate Zeon 50 CS	lambda-cialotrina	50 g/L	Piretróide
Lecar	lambda-cialotrina	50g/L	Piretróide
Much 600 FS	imidacloprido	600g/L	Neonicotinóide
Platinum Neo	lambda-cialotrina + thiametoxam	106 g/L	Piretróide
		141 g/L	Neonicotinóide
Poncho	clotianidina	600 g/L	Neonicotinóide
Saluzi 600 FS	imidacloprido	600 g/L	Neonicotinóide
Sombrero 600 FS	imidacloprido	600 g/L	Neonicotinóide

3.6. Tratamento de sementes para o controle de percevejos

Na cultura do milho, *D. melacanthus* causa injúrias três vezes mais intensa que o percevejo-marrom (ROZA-GOMES et al., 2011). Como o inseto está presente na sucessão, entre o final da cultura da soja e a fase inicial da safra do milho, são discutidos os possíveis efeitos do tratamento de sementes, sobre o manejo populacional da praga (CHIESA et al., 2016).

O uso de produtos químicos no tratamento de sementes confere à planta proteção, o que possibilita maior potencial para o desenvolvimento inicial da cultura. Assim, esta prática é adotada pelos produtores e pode mostrar-se eficiente (CECCON et al., 2004; RAGA, SILOTO e SATO, 2000).

A fim de evitar possíveis perdas decorrentes da ação de pragas de solo e da parte aérea, que danificam as sementes e as plântulas jovens, tem-se como

alternativa o uso de inseticidas no tratamento de sementes (MARTINS et al., 2009) com produtos sistêmicos como imidacloprido e thiametoxam, que se translocam sistemicamente dentro da planta e dessa maneira, fornecem proteção contra insetos sugadores (MOSER e OBRYCKI, 2009). Devido a importância inicial de *D. melacanthus* e seu potencial de dano, o tratamento de sementes parece ser uma forma de controle adequada para seu controle ou minimizar seu dano (ALBUQUERQUE et al., 2006; CHIESA et al., 2016; MARTINS et al., 2009). Portanto, a adoção de um método de avaliação da resposta dos insetos aos inseticidas é importante para realizar estudos comparativos de suscetibilidade e de diagnóstico da resistência, assim como para determinar possíveis mecanismos no processo de detoxificação desses compostos.

3.7. Mecanismos de resistência de insetos a inseticidas

Na década de 1990, foram registrados os primeiros casos de falhas de controle de *E. heros* com os produtos à base de endossulfam, metamidofós e monocrotofós. Estes problemas de falhas de controle persistem até hoje, ampliando-se para o grupo dos organofosforados e as misturas de neonicotinóides mais piretróides (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ e SILVA, 2010; HUSCH, OLIVEIRA e SOSA-GÓMEZ, 2014).

Uma vez que há disponibilidade de produtos só com três modos de ação diferentes, é de fundamental importância o estudo de aspectos relacionados com a resistência. Existem diversos mecanismos envolvidos na resistência de insetos a inseticidas, na literatura científica (OPPENORTH, 1985; MULLIN e SCOTT, 1992; KLIOT e GHANIM, 2012) é relatado que os mecanismos fisiológicos envolvem redução da penetração do inseticida pela cutícula do inseto, detoxificação do inseticida por enzimas, reduzida ativação metabólica, redução da sensibilidade do sítio de ação do inseticida e sequestro.

3.7.1. Penetração da cutícula

Formulações inseticidas são desenvolvidas para penetrar no inseto difundindo-se através da cutícula. A espessura pode interferir na absorção do inseticida, onde cutículas mais grossas levam a taxas mais lentas de absorção, o que aumenta a eficiência da detoxificação metabólica realizada por enzimas (WOOD et al., 2010).

3.7.2. Detoxificação do inseticida

Nos insetos, enzimas podem estar envolvidas nos processos de detoxificação. Estas enzimas (esterases, oxidades e transferases), em presença de xenobióticos presentes no organismo, podem aumentar a sua expressão em populações resistentes (ALIZADEH, BANDANI e AMIRI, 2010; HEMINGWAY, 2000).

Alguns trabalhos verificaram a ação destas enzimas em processos de detoxificação. As esterases estão ligadas no processo de detoxificação de organofosforados em *Eurygaster intergriceps* (Putton, 1881) (Hemiptera: Scutelleridae) (ALIZADEH et al., 2010), assim como em populações de *E. heros* (SOSA-GÓMEZ, et al., 2009). Os organofosforados também estão associados com o aumento das atividades metabólicas das esterases e glutathione-s-transferases (GTS), como foi observado nos estudos com *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois, 1818) (Hemiptera: Miridae) (ZHU et al., 2011). De maneira semelhante, os piretróides interagem com as enzimas: esterases, glutathione-s-transferases (GST) e monooxigenases, como observado para *Cimex lectularius* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Cimicidae) (ADELMAN et al., 2011), *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) (SILVA et al., 2015).

3.7.3. Sítio de ação

Este tipo de resistência é ocasionado por mutações em genes que codificam proteínas alvos de ligação do inseticida em receptores do sistema

nervoso central. As alterações estruturais ocorridas nessas proteínas podem dificultar ou impedir a ligação do composto químico, levando a um comprometimento parcial ou integral da atividade do inseticida em questão. Em muitos insetos, a enzima AChE, alvo dos inseticidas organofosforados e quando alterada, perde a sensibilidade aos compostos inseticidas, permitindo a transmissão normal do impulso nervoso (ALOUT et al., 2011; KLIOT e GHANIM, 2012). Testes bioquímicos que utilizam análogos de inseticidas, podem ser utilizados para detectar esse mecanismo de resistência (RAFFA e PRIESTER, 1985).

3.7.3.1 Acetilcolinesterase (AChE)

É o alvo de organofosforados e carbamatos (GUEDES, COSTA e CASTIGLIONI, 2000; HEMINGWAY e RANSON, 2000). Essa enzima é a responsável pela degradação de acetilcolina, neurotransmissor que, quando presente na fenda sináptica, promove a propagação do impulso nervoso, uma vez que provoca a abertura de canais de sódio na célula pós-sináptica.

Em situação normal, após a cessação do estímulo, a acetilcolina é removida por degradação enzimática, sendo a acetilcolinesterase (AChE) a enzima responsável. Organofosforados e carbamatos atuam inibindo a AChE e, em consequência, a acetilcolina permanece na fenda sináptica e o impulso não cessa, levando o inseto à morte (FFRENCH-CONSTANT et al., 1998; HEMINGWAY e RANSON, 2000).

Produtos que possuem o ingrediente ativo acefato, tem o seu sítio de ação na enzima acetilcolinesterase. Esta enzima tem a função de degradar a acetilcolina, mas como a degradação não ocorre, a acetilcolina permanece na fenda sináptica onde o impulso nervoso não para, levando o inseto a morte.

3.7.3.2. Acetilcolina

Fazem parte deste modo de ação, o grupo dos neonicotinóides. São agonistas do receptor nicotínico da acetilcolina e apresentam elevada capacidade inseticida, principalmente contra lepidópteros-praga, e baixa toxicidade a mamíferos (YAMAMOTO et al., 1995). Sua ação leva a transmissão

de impulsos nervosos contínuos, provocando a hiperexcitação do sistema nervoso.

No Brasil, estes inseticidas são utilizados para o controle de mosca branca, percevejos, entre outros. Entre os ingredientes ativos mais utilizados constam, o imidacloprido, thiametoxam, em testes tópicos. Portanto, a exposição repetida pode conduzir à seleção de insetos menos suscetíveis.

3.7.3.3. Canais de sódio

São os principais sítios-alvo dos piretróides. A ligação desses inseticidas mantém os canais de sódio na conformação aberta e, conseqüentemente, a propagação contínua do impulso nervoso, podendo levar o inseto à morte. A resistência é resultante de sensibilidade reduzida do canal de sódio a esses compostos (HEMINGWAY e RANSON, 2000).

Mais conhecido como mecanismo *knock down* (ou kdr), esse tipo de resistência a DDT e piretróides foi registrado para várias espécies (VAIS et al, 2000).

3.7.4. Resistência metabólica

Os insetos são capazes de modificar ou eliminar a toxicidade dos inseticidas a uma taxa suficientemente rápida, evitando o acúmulo do ingrediente ativo no local alvo do mesmo, levando a formação de produtos menos tóxicos aos insetos (BROGDON e MCALLISTER, 1998; FUKUTO e MALLIPUDI, 1983). Com isso, tem-se um aumento das enzimas que provocam a degradação do inseticida (BROGDON e MCALLISTER, 1998). Várias enzimas ou complexos delas e sistemas enzimáticos estão envolvidos, como as esterases, oxidases, transferases que aumentam sua eficiência ou sua expressão nas populações resistentes (HEMINGWAY, 2000; YU e NGUYEN, 1992).

A desintoxicação afeta todos os inseticidas, sinergistas e xenobióticos. A transformação é alcançada em duas etapas, chamada de fase I e fase II. Fase I realizada por monoxigenases e esterases, e fase II pelas glutathionas-S-

transferases. A figura 1 mostra a sequência da transformação (HODGSON, 1985).

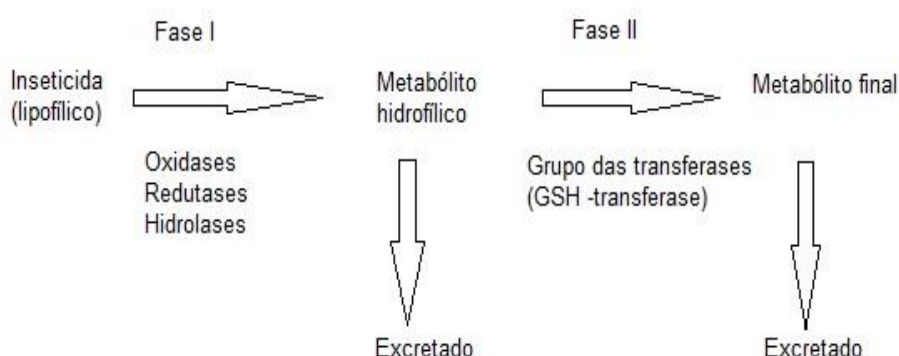


Fig. 1 - Detoxificação geral da maioria dos inseticidas (HODGSON, 1985).

As enzimas oxidases e esterases são enzimas que estão comumente envolvidas na detoxificação de numerosos compostos. Já as esterases são de maior importância, especificamente na detoxificação de organofosforados (CONYERS, MACNICOLL e PRICE, 1998). Por exemplo, o alvo de inseticidas organofosforados é a enzima acetilcolinesterase que atua nas sinapses nervosas, e o alvo dos inseticidas piretróides são os canais de sódio localizados na bainha da célula nervosa (MIYAZAKI et al., 1996; WILLIAMSON et al., 1996).

3.7.4.1. Monooxigenases

O citocromo P-450 foi descrito pela primeira vez em insetos no ano de 1967 (RAY, 1967). É um componente chave do sistema monooxigenase (COON, VAZ e BESTERVELT, 1996; HODGSON, 1983; OMTA e SATO, 1964). Ocorre em várias formas e possui várias funções de interesse nas áreas de toxicologia, bioquímica e fisiologia de insetos (HODGSON, 1983).

O papel do citocromo P-450 na desintoxicação de oxigênio foi proposto pela primeira vez por WICKRAMASINGHE e VILLEE em 1975. Seu nome é derivado do pico proeminente de 450 nm (nanômetros) na diferença óptica do espectro de monóxido de carbono. Realiza diversas reações como oxidações de função mista ou mono-oxigenações, onde um átomo de oxigênio é reduzido a água, enquanto o outro é incorporado no substrato. Para ocorrer o processo, o oxigênio e um redutor na forma de NADPH (forma reduzida de nicotinamida

adenina dinucleótido fosfato) são necessários. Os elétrons são transferidos do NADPH para o citocromo por outra enzima, a NADPH-citocromo P-450 redutase, uma flavoproteína (HODGSON, 1983).

Nos insetos, o citocromo P-450 ocorre no intestino médio, corpos gordurosos e túbulos de Malpighi (BERGÉ, FEYERENSEN e AMICHOT, 1998; HODGSON, 1983; SCOTT, 1999).

Grande parte do interesse pelo citocromo P-450 dependente de monooxigenase tem sido gerado pelo seu papel no metabolismo dos inseticidas e o modo de ação dos sinergistas (HODGSON, 1983). Estas enzimas são uma linha crucial de defesa contra os inúmeros produtos químicos através da detoxificação (BRATTSTEN et al., 1986; ESTABROOK, 2016; ISHAAYA, 1993; WILKINSON e BRATTSTEN, 1972).

O complexo enzimático formado por monooxigenases dependentes do citocromo P-450, possuem um grande número de substratos, catalizando vários tipos de reações, principalmente de oxidação (BRATTSTEN et al., 1986; BERNARD e PHILOGÈNE, 1993). O envolvimento do metabolismo oxidativo com a resistência pode ser obtida com a adição, em bioensaios com inseticidas, de inibidores de Oxidases (BERGÉ, FEYERENSEN e AMICHOT, 1998; SAYYED e WRIGHT, 2006; SCOTT, 1999).

O uso de sinergistas aumenta a letalidade dos inseticidas e tem tido importância na evidenciação preliminar dos mecanismos de resistência em artrópodes (BERNARD e PHILOGÈNE, 1993; BRATTSTEN et al., 1986). O tratamento de insetos resistentes com butóxido de piperonila (PBO) pode resultar em uma perda completa de resistência, indicando que a resistência é devida apenas à atividade P-450 (BERGÉ, FEYERENSEN e AMICHOT, 1998; BINGHAM et al., 2011; BRATTSTEN et al., 1986; HODGSON, 1983; ISHAAYA, 1993, SAYYED e WRIGHT, 2006; SCOTT, 1999).

O PBO é o agente sinérgico mais importante com alto efeito de ação aos piretróides (BINGHAM et al., 2011; BROWN e BRYSON, 1996; CAMPANHOLA e PLAPP, 1989). Atuam inibindo as enzimas metabólicas do inseto e conseqüentemente, a detoxificação do inseticida. (USMANI e KNOWLES, 2001).

3.7.4.2. Esterases

As esterasas compreendem seis famílias de proteínas pertencentes à superfamília de α/β hidrolases que destroem um amplo espectro de inseticidas, por hidrolisarem as ligações ésteres (OAKESHOTT et al., 1993) para gerar um ácido e um álcool como metabólitos (MONTELLA, SCHAMA e VALLE, 2012). Elas agem sequestrando os inseticidas mais rapidamente do que os metabolizam, impedindo, dessa maneira, que alcancem seu local de ação (KADOUS et al., 1983).

São enzimas importantes no metabolismo de várias classes de compostos exógenos e endógenos. Elas desempenham uma série de funções cruciais no desenvolvimento e comportamento de insetos, como degradação de inseticidas e funções relacionadas com a reprodução e digestão. Feromônios e outros semioquímicos são tipos de ésteres que são hidrolisados por estas enzimas (MONTELLA, SCHAMA e VALLE, 2012).

Vários inseticidas que contêm o grupo éster na sua estrutura química (organofosforados, carbamatos e piretróides) são suscetíveis à reação de hidrólise. As enzimas que catalisam essas reações são coletivamente chamadas de hidrolases ou esterasas (BROGDON e MCALLISTER, 1998; CONYERS, MACNICOLL e PRICE, 1998; HEMINGWAY e KARUNARATNE, 1998).

O envolvimento das esterasas com a resistência pode ser verificado com a adição de inibidores em ensaios com os inseticidas, como o S, S, S - tributil fosforotriato (DEF) (APERSON e GEORGIU, 1975; BROGDON e MCALLISTER, 1998; CONYERS, HEMINGWAY e KARUNARATNE, 1998; MACNICOLL e PRICE, 1998).

3.7.4.3. Glutathione S-transferases (GST)

As GSTs são enzimas diméricas, ou seja, é necessário haver duas partes encaixadas para tornar a proteína funcional (PRAPANTHADARA et al., 1996) e multifuncionais que possuem função de detoxificação de vários xenobióticos (CHELVANAYAGAM et al., 2001; HEMINGWAY e RANSON, 2000, PRAPANTHADARA et al., 1996). Estas enzimas possuem um papel

fundamental em mecanismos de detoxificação intracelular de compostos xenobióticos (CHELVANAYAGAM et al., 2001; HUANG, et al., 1998; MEISTER e ANDERSON, 1983), como defesa celular contra oxidação por conjugação de glutathione reduzida (GSH) (HUANG et al., 1998; MEISTER e ANDERSON, 1983) aos centros eletrofílicos de xenobióticos, incluindo inseticidas, aleloquímicos e compostos ativados endogenamente, tais como epóxidos, hidroperóxidos e lipídios (HUANG et al., 1998).

Estas enzimas estão envolvidas no transporte intracelular, além de biossíntese de hormônios e proteção contra estresse oxidativo (ENAYATI, RANSON e HEMINGWAY, 2005; MARTINS et al., 2003).

As glutathione S-transferases são enzimas metabólicas de fase II (biossíntese), podem ser metabolizadas em duas formas, onde a GST é capaz de conjugar glutathione reduzida a centros eletrofílicos, a fim de produzir metabólitos solúveis em água, que são facilmente excretados (ENAYATI, RANSON e HEMINGWAY, 2005; FUJIOKA e CASIDA, 2007; LUNJUAM et al., 2007; OPPENNORTH et al., 1972; RANSON e HEMINGWAY, 2005; LI, SCHULER e BERENBAUM, 2007; LUNJUAM et al., 2007) e a outra possibilidade é ligando-se a compostos que não são seus substratos, ocorrendo um armazenamento, transporte de substâncias como inseticidas, hormônios, ácidos graxos, entre outros (LUNJUAM et al., 2007).

Tem sido relacionadas na defesa contra organofosforados (BERNARD e PHILOGÈNE, 1993; OPPENOORTH et al., 1979; CLARK et al., 1986; FOURNIER et al., 1992; GRANT e MATSUMURA, 1989; REIDY et al., 1990; TERRIERI, 1984).

3.8 . Uso de sinergistas

Agentes sinérgicos têm sido utilizados comercialmente a pelo menos cinquenta anos e esses produtos tem contribuído para melhorar a letalidade dos inseticidas, principalmente quando temos problemas com resistência. São produtos químicos considerados não tóxicos (BERNARD e PHILOGÈNE, 1993; CASIDA e QUISTAD, 1998; BRINDLEY e SELIM, 1984; HINKS e SPURR, 1991; METCALF, 1967).

Sua utilização tem importância na descoberta dos mecanismos de resistência em insetos (BERNARD e PHILOGÈNE, 1993; BRATTSTEN et al., 1986; BRINDLEY e SELIM, 1984; ISHAAYA, 1993), e age no bloqueio de sistemas metabólicos, restaurando a susceptibilidade dos insetos aos inseticidas (BERNARD e PHILOGÈNE, 1993) e é considerado uma importante ferramenta de laboratório para auxiliar na determinação dos mecanismos de resistência em uma população de insetos (LORINI e GALLEY, 200; RAFFA e PRIESTER, 1985).

A ação do sinergista minimiza a quantidade de inseticida químico necessária para o controle de insetos (CASIDA, 1970; RAFFA e PRIESTER, 1985) pois age como um substrato alternativo, poupando o inseticida da detoxificação, ou reage com outro sítio no sistema enzimático, prevenindo a detoxificação do inseticida (CASIDA, 1970). Portanto, sua ação proporciona indícios que ajudam a determinar o mecanismo (s) de resistência a inseticidas. Compostos com ação sinérgica podem retardar o desenvolvimento de resistência (RAFFA e PRIESTER, 1985).

O papel dos agentes de sinergismo na resistência está diretamente relacionado com uma ação inibidora da enzima. São consideradas ferramentas simples para superar a resistência metabólica (ANSPAUGH et al., 1994).

Uma maneira eficaz de gerenciar a resistência de inseticidas é a mistura do agente sinérgico com o inseticida, com o objetivo de neutralizar a ação enzimática. Os agentes sinérgicos agem através do bloqueio das vias metabólicas, restaurando assim a suscetibilidade ao produto químico (BERNARD e PHILOGÈNE, 1993) e facilitando o controle.

4. Material e Métodos

4.1. Bioensaios por ingestão

Os insetos utilizados nos bioensaios eram provenientes da criação do laboratório da Embrapa Soja, Londrina – PR. Os percevejos *Dichelops melacanthus* e *Euschistus heros* foram criados em câmaras com condições controladas de temperatura: $25 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$, umidade: $60 \pm 10\%$ UR e fotoperíodo de 14:10 horas (L:D), conforme metodologia de Sosa-Gómez e Silva (2010).

Os adultos que vieram da criação do laboratório foram deixados em jejum por 24 horas até o início do experimento.

Os inseticidas usados para as duas espécies de percevejos foram: imidacloprido [Imidacloprido Nortox[®] 480 g i.a. L⁻¹, Suspensão Concentrada (SC), Nortox S.A., Arapongas, PR], thiametoxam [Cruiser[®] 350 g i.a. L⁻¹, (SC), Syngenta, São Paulo], thiametoxam 141 g i.a. L⁻¹ + lambda-cialotrina 106 g i.a. L⁻¹ [Engeo Pleno[®] (SC), Syngenta Proteção de cultivos Ltda., São Paulo], imidacloprido (100g i.a. L⁻¹) + beta-ciflutrina (12,5 g i.a. L⁻¹) [Connect[®] (SC) Bayer Crop Science Ltda., São Paulo].

Grãos de soja do cultivar BRS 254 foram imersos em diluições de inseticidas em diferentes concentrações [39,59, 89, 133, 200, 300 e 450 µl de produto comercial (p.c).100⁻¹ ml para *D. melacanthus*] e (26, 39, 59, 89, 133, 200 e 300 µl de p.c. 100⁻¹ ml para *E. heros*) para serem posteriormente oferecidos aos insetos adultos e que estavam em jejum por 24 h. Os grãos foram imersos em um volume de 100 ml, por 4 horas, com as diferentes concentrações dos produtos. Depois desse tempo, permaneceram por meia hora em exaustor para remover o excesso de umidade dos grãos. Após este processo, foram colocados em recipientes de plásticos (formato quadrado, com 2,5cm de comprimento x 2,5cm de largura e 1cm de altura), cobertos com filme plástico parafilm “M” Laboratory Film (Pichney Plastic Packaging, Chicago, IL 60631). A quantidade de grãos colocada por recipiente foi de 24 grãos.

Os recipientes com os grãos tratados foram colocados em vidros de 300 g de capacidade. Em cada vidro, foram colocados 10 insetos, totalizando 40 insetos por concentração. A mortalidade foi avaliada após 24 horas da instalação do experimento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com

sete concentrações e quatro repetições. Para verificar o processo de alimentação, foi usado solução de fucsina para tratar os grãos e poder verificar a presença das bainhas alimentares, conforme metodologia descrita por Bowling (1980). Os grãos foram deixados por 15 min em solução de fucsina, e depois lavados em água corrente, conforme metodologia de Corrêa-Ferreira e Roggia, (2003).

Os dados obtidos foram analisados pelo programa Sistema para Análise e Separação de Médias em Experimentos Agrícolas (SASM – Agri) (CANTERI, et al., 2001) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a $p < 0,05$. Os valores de CL_{50} , intervalo de confiança, inclinação e qui-quadrado foram calculados mediante análise de Probit utilizando o programa Polo-PC (LEORA, 2002).

4.2. Bioensaios para determinação do modo de ação

Os resultados dos bioensaios utilizando os inseticidas isolados e em aplicação conjunta com um sinergista foram testados nas populações de Cândido Mota, Palmital, Pedrinhas Paulista, Sertaneja, além da criação proveniente do laboratório (Tabela 3). Os insetos foram coletados a campo e levados no mesmo dia para o laboratório da Embrapa Soja, situada no município de Londrina – PR. Os insetos coletados em cada localidade, foram mantidos em gaiolas conforme metodologia de Sosa-Gómez e Silva (2010).

TABELA 4 - Locais de coleta, coordenadas geográficas e número de insetos coletados.

Locais de coleta	Latitude e Longitude	Data da coleta	Número de insetos coletados
Cândido Mota	S 22° 45' 02,0"	16/06/2016	800
	W 50° 19' 24,9"		
	S 22° 45' 01,8"	10/08/2016	1.460
	W 50° 19' 25,1"		
	S 22° 45' 02,0"	02/09/2016	400
	W 50° 19' 24,8"		
Palmital	S 22° 45' 01,7"	19/10/2016	1.000
	W 50° 19' 24,6"		
	S 22° 42' 28,9"	08/09/2016	1.300
	W 50° 14' 58,5"		
Pedrinhas Paulista	S 22° 42' 28,5"	11/10/2016	1.200
	W 50° 14' 58,2"		
	S 22° 42' 25,4"	01/11/2016	200
	W 50° 14' 55,9"		
	S 22° 49' 36,1"	06/07/2016	300
	W 50° 44' 45,7"		
Sertaneja	S 22° 49' 36,0"	25/08/2016	2.000
	W 50° 44' 45,8"		
	S 22° 49' 36,4"	05/10/2016	1.500
	W 50° 44' 45,6"		
Sertaneja	S 22° 59' 30,1"	15/09/2016	1.000
	W 50° 51' 04,3"		
	S 22° 59' 30,1"	01/11/2016	1.200
	W 50° 51' 04,0"		

Os inseticidas foram aplicados com o uso de microaplicador (Burkard Manufacturing Co. Ltda. Rickmansworth, Hertfordshire, WD31PJ, England). Foram aplicados 2 µl de inseticida no pronoto de cada adulto e as testemunhas foram tratadas com água. Nos ensaios de sinergismo, a aplicação de 1µl do agente sinergista foi realizada após meia hora, para permitir a evaporação da diluição do inseticida. O delineamento experimental foi inteiramente casualizados, com sete tratamentos e quatro repetições [(0,1; 1 e 10 µg i.a de thiametoxam.adulto⁻¹, sem e com 1 µl de PBO), (1,10 e 100 µg i.a de imidacloprido.adulto⁻¹, sem e com 1 µl de PBO), (1,5; 3 e 6 µg i.a lambda-cialotrina. adulto⁻¹, sem e com 1 µl de PBO), (0,08; 0,20 e 1,5 µg i.a de beta-ciflutrina. adulto⁻¹, sem e com 1 µl de PBO)].

O inseticida acefato, foi aplicado em cinco tratamentos (3,55 e 7,1 µg i.a.adulto⁻¹, sem e com 1 µl de DEM. As doses de 0 µg i.a.adulto⁻¹ (testemunhas) foram adicionadas somente água.

Os inseticidas usados foram: imidacloprido (Nortox[®] 480 g i.a. L⁻¹, Suspensão Concentrada (SC), Nortox S.A., Arapongas, PR), thiametoxam (Cruiser[®] 350 g i.a. L⁻¹, (SC), Syngenta, São Paulo), lambda-cialotrina (Karatê Zeon[®] 50 g i.a.L⁻¹, (CS), Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, SP),

beta-ciflutrina (Bulldock 125 Suspensão concentrada (SC), Bayer CropScience, Ltda, São Paulo, SP), acefato (Orhene[®] 750 BR, pó solúvel, Hokko do Brasil Indústria Química e Agropecuária, Ltda, São Paulo, SP).

Os sinergistas usados foram Butóxido de Piperonila (grau técnico 90%, Sigma - Aldrich[®] Brasil Ltda, São Paulo, SP) que possuem ação nas enzimas monooxigenases e Dietil Maleato (grau técnico 97% Sigma –Aldrich[®] Brasil Ltda, São Paulo, SP) que possuem ação nas enzimas glutatona-S-transferases.

Em todos os tratamentos, foi adicionado uma vagem de feijão para servir de alimento para os percevejos. A mortalidade foi avaliada a cada 24 horas, durante seis dias. Com o auxílio de um pincel, os insetos eram tocados e quando não apresentavam movimento, foram considerados mortos. Os dados obtidos foram analisados pelo programa de Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas (SASM – Agri) (CANTERI, et al., 2001) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a $p < 0,05$.

5. Resultados

5.1. Bioensaios por ingestão

5.1.2. Ação sistêmica de inseticidas em *Dichelops melacanthus*

Os percevejos adultos foram testados com imersão de grãos tratados com formulações comerciais de imidacloprido + beta-ciflutrina, thiametoxam + lambda-cialotrina, thiametoxam, imidacloprido e água para as testemunhas. A testemunha apresentou mortalidade de 7,5%. Os resultados de 24 horas após a exposição dos insetos com as formulações comerciais estão representados na Figura 2.

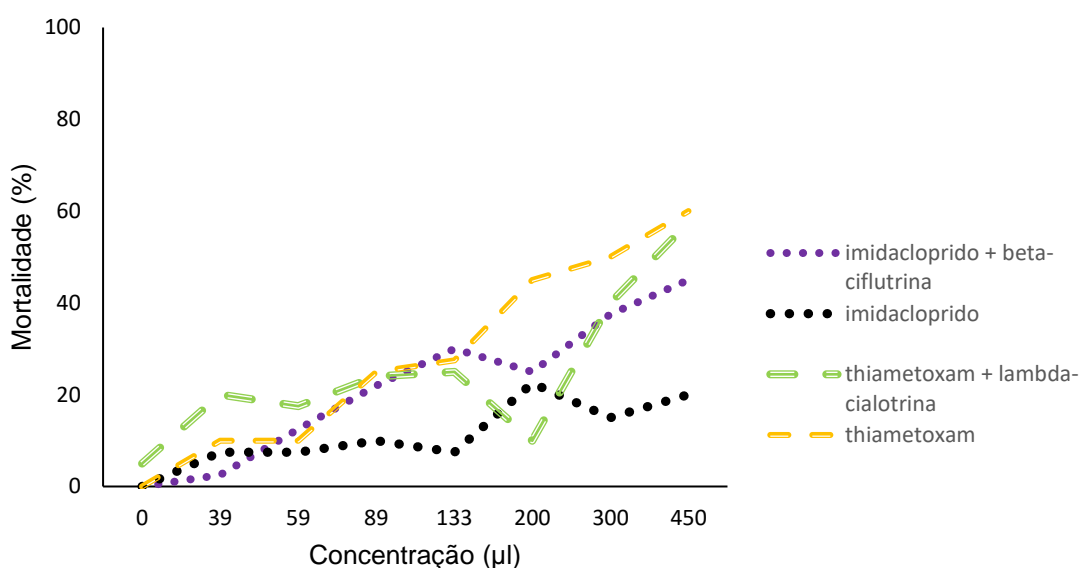


Fig. 2 – Mortalidade de *D. melacanthus* após tratamento com diluições dos inseticidas em 100 mL de água: thiametoxam, imidacloprido e as formulações de imidacloprido + beta-ciflutrina, thiametoxam + lambda-cialotrina, 24 h após a infestação.

D. melacanthus foi mais suscetível ao thiametoxam e a mistura thiametoxam + lambda cialotrina, as quais causaram de mortalidade de 60% e 56,67%, respectivamente, em um período de 24 horas após o início do ensaio com a concentração de 450µl de p.c.100⁻¹ ml de água. O imidacloprido + beta-ciflutrina provocou 45% de mortalidade para esta mesma concentração e

imidacloprido causou mortalidades inferiores a 20%. Analisando o ensaio após 48 horas (Fig. 3) podemos verificar um aumento na mortalidade, o que permitiu discriminar de forma apropriada os diferentes tratamentos.

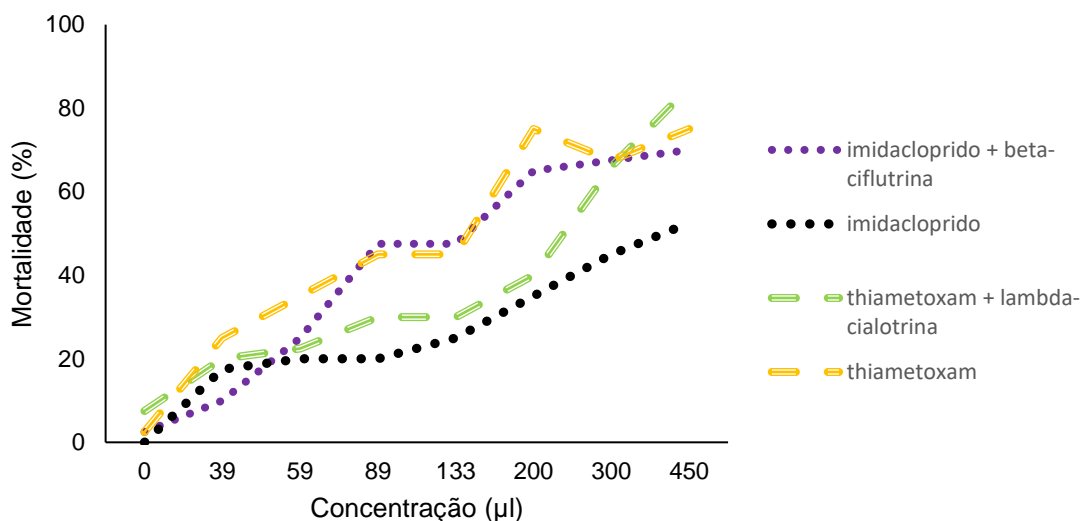


Fig. 3 – Mortalidade de *D. melacanthus* causada por diluições dos produtos comerciais em 100 mL de água: thiametoxam, imidacloprido e as formulações de imidacloprido + beta-ciflutrina e thiametoxam + lambda-cialotrina 48 h após a infestação.

Verifica-se que a mistura thiametoxam + lambda-cialotrina proporcionou melhores respostas em concentrações maiores, como 450 µl de p.c.100⁻¹ ml de água (86,67% de mortalidade), 300µl de p.c.100⁻¹ ml de água (75% de mortalidade). A mistura imidacloprido+ beta-ciflutrina analisada provocou 70% na concentração de 450 µl de p.c. p.c.100⁻¹ ml de água e o imidacloprido 52,5% na mesma concentração. Concentrações menores causaram menores mortalidades através do tempo. Por exemplo, a concentração de 39 µl de p.c.100⁻¹ ml de água para thiametoxam provocou 25% de mortalidade, enquanto que a concentração de 200 µl de p.c.100⁻¹ ml de água causa 75% de mortalidade em 48 horas.

A análise comparativa entre inseticidas indica que o imidacloprido apresentou a menor atividade após 48 h da ingestão (Tabela 5). Por outro lado, nos ensaios com a mistura de thiametoxam + lambda-cialotrina e o inseticida thiametoxam foram observados os menores valores de concentração letal 50 (CL₅₀), 38,420 µg i.a.100⁻¹ ml de água e 40,796 µg i.a.100⁻¹ ml de água respectivamente, indicando sua maior atividade biológica para *D. melacanthus*.

TABELA 5 – Concentração letal 50 (CL₅₀) e parâmetros associados dos inseticidas thiametoxam, imidacloprido e as misturas imidacloprido + beta-ciflutrina, thiametoxam + lambda-cialotrina 48 h após o tratamento por ingestão em *Dichelops melacanthus*.

Inseticida	N ¹	CL ₅₀ ²	I.C. ³	b ⁴	g.l. ⁵	χ ²
Imidacloprido	280	72,291	55,290 - 156,013	1,577 ± 0,236	5	6,128*
Thiametoxam	280	40,796	17,509 - 63,312	1,281 ± 0,284	4	4,233*
Thiametoxam + lambda-cialotrina	280	38,420	28,526 - 53,433	1,494 ± 0,281	5	4,711*
Imidacloprido + beta-ciflutrina	280	44,086	28,862 - 106,40	1,005 ± 0,265	5	0,713

¹número de insetos; ²concentração letal 50 (µg i.a./100 ml de água); ³intervalo de confiança a 95% de probabilidade; ⁴inclinação; ⁵graus de liberdade; *significativo a 5% de probabilidade.

5.1.3. Ação sistêmica de inseticidas em *Euschistus heros*

A população de laboratório foi testada com quatro formulações comerciais de inseticidas, sendo duas misturas. As testemunhas foram testadas com água e não apresentaram mortalidade durante o período de avaliação. As avaliações de mortalidade foram realizadas após 24 e 48 h.

Nos ensaios de ação sistêmica, o inseticida imidacloprido aplicado nas populações geográficas de *E. heros* mantidas em laboratório causou reduzida mortalidade em todas as concentrações testadas (Fig. 4 e 5). Por outro lado, a formulação imidacloprido + beta-ciflutrina apresentou melhor performance através do tempo quando comparada com o imidacloprido isolado. Da mesma maneira, o inseticida thiametoxam, apresentou melhor comportamento na formulação em mistura com lambda-cialotrina. Ambas as misturas causaram mortalidade mais rápida que os neonicotinóides isolados (Fig. 5). No período de 48 horas, a mistura de thiametoxam com lambda-cialotrina alcançou 100% de mortalidade a partir da concentração de 89 µl de p.c.100 mL⁻¹ de água.

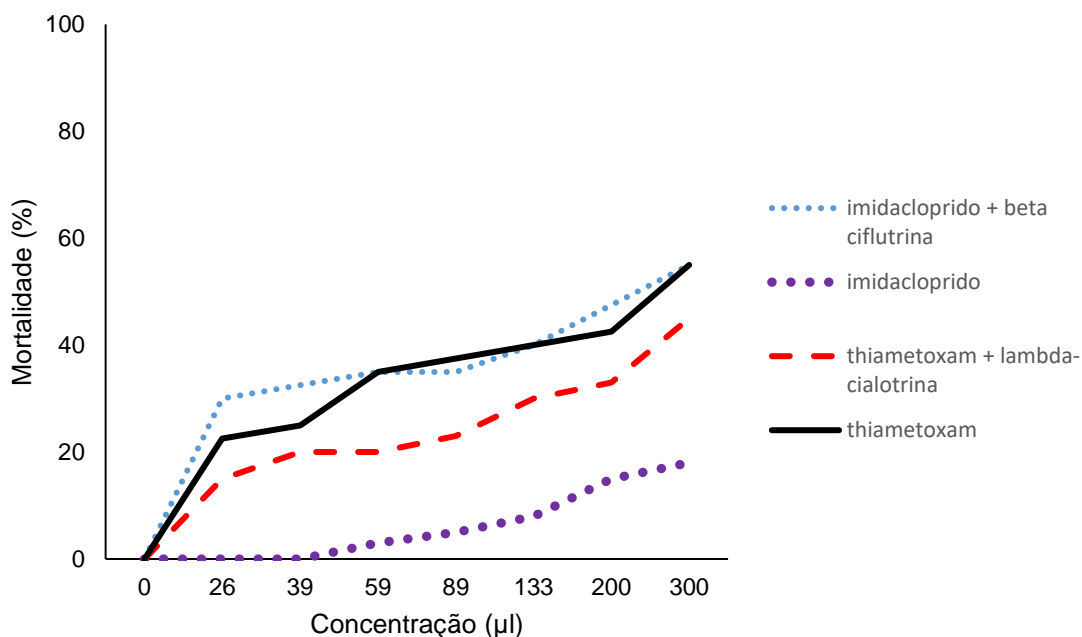


Fig. 4 - Mortalidade de *E. heros* tratados por ingestão com os inseticidas thiametoxam, imidacloprido e as formulações comerciais de imidacloprido + beta-ciflutrina, thiametoxam + lambda-cialotrina 24 h após a infestação.

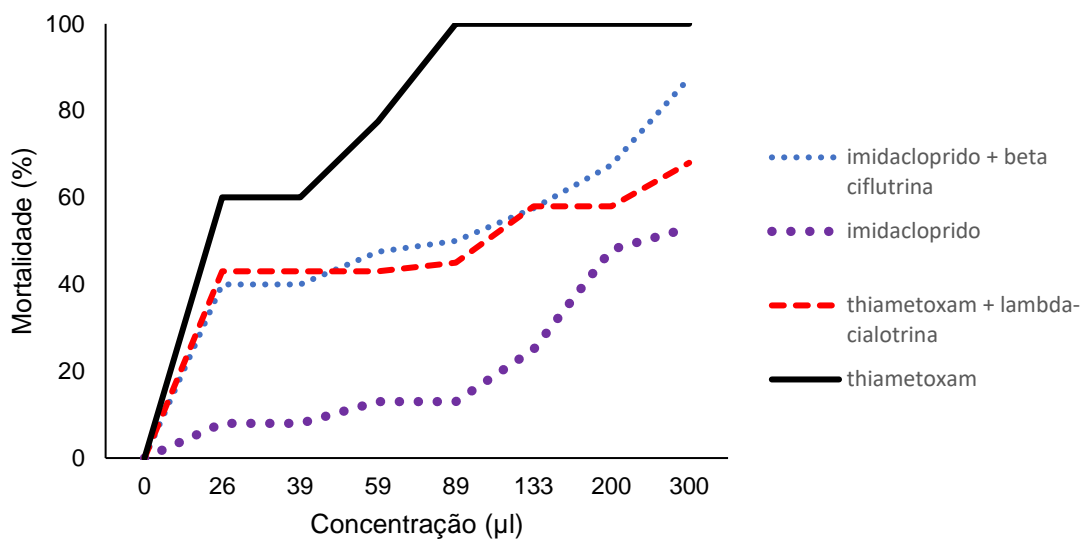


Fig. 5 – Avaliação de *E. heros* em relação aos ingredientes ativo thiametoxam, imidacloprido e as misturas imidacloprido + beta-ciflutrina, thiametoxam + lambda-cialotrina em 48 h após a infestação.

A análise comparativa entre inseticidas indica que o imidacloprido apresentou a menor atividade após 48 h da ingestão (Tabela 6). Por outro lado,

ambas misturas tiveram menor CL₅₀ indicando sua maior atividade biológica para *E. heros*.

TABELA 6 – Concentração letal 50 e parâmetros associados dos inseticidas thiametoxam, imidacloprido e as misturas imidacloprido + beta ciflutrina, thiametoxam + lambda cialotrina 48 h após o tratamento por ingestão em *E. heros*.

Inseticidas	N ¹	CL50 ²	I.C ³	b ⁴	g.l ⁵	χ ² 6
Imidacloprido	280	115,115	91,218 - 165,530	2,069 ± 0,333	4	2,420*
Thiametoxam	280	28,870	17,374 - 58,672	0,614 ± 0,215	4	10,000*
Thiametoxam + lambda- cialotrina	280	6,602	5,762 - 8,955	3,197 ± 0,527	5	9,384*
Imidacloprido + beta-ciflutrina	280	8,484	5,708 -11,154	1,390 ± 0,287	4	3,118*

¹ número de insetos; ²concentração letal 50 (µg i.a./100 ml de água); ³intervalo de confiança a 95% de probabilidade; ⁴inclinação; ⁵grau de liberdade; *significativo a 5%.

5.2. Bioensaios para determinação do modo de ação

Em todos os ensaios, foram testados os inseticidas já mencionados e as testemunhas tratadas somente com água. Nas testemunhas, a água foi aplicada topicamente e não apresentaram mortalidade durante o período de avaliação.

O inseticida thiametoxam, em todas as doses testadas, provocou mortalidades inferiores a 50% nas populações de Cândido Mota, Palmital, Pedrinhas Paulista, e Sertaneja após 48 horas da aplicação tópica (Fig. 6, 7, 8 e 9). A única exceção foi a população de laboratório, em que o thiametoxam testado na menor dose (0,1 µg.adulto⁻¹) causou mortalidade de 78,33%. Entretanto, quando o inseticida foi aplicado e imediatamente após foi aplicado topicamente o sinergista butóxido de piperonila (PBO), para verificar o modo de ação, foi observado um incremento significativo da atividade do thiametoxam. As diferenças de atividade foram mais evidentes nas populações provenientes de Cândido Mota, Sertaneja e Pedrinhas Paulista. A população de Palmital a diferença foi menor permanecendo uma diferença na ordem de 20% na concentração máxima testada de 10 µg de i.a. adulto⁻¹ de *E. heros*. De maneira geral, os dados analisados apresentaram diferenças significativa (p<0,05) para

os resultados de thiametoxam e thiametoxam + PBO em 48 horas após a aplicação.

Na população de Cândido Mota, o sinergismo foi mais evidente, tendo um aumento de 60% da mortalidade na dose de 10 μg de i.a. adulto⁻¹, 21,66% na dose de 1 μg de i.a. adulto⁻¹ e 28,33% na dose 0,1 μg de i.a. adulto⁻¹ (Fig. 6).

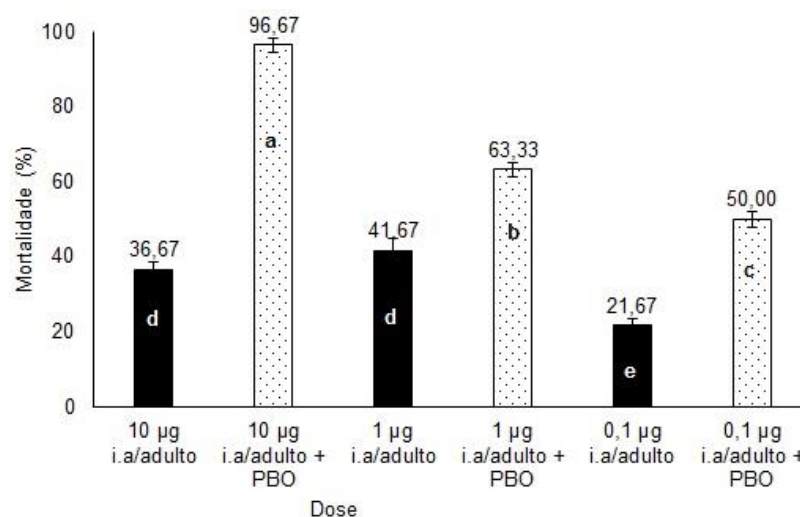


Fig. 6 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Cândido Mota após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

Os estudos realizados com a população de Palmital (Fig.7), indicam diferenças significativas entre os indivíduos tratados com e sem o agente sinergista, quando aplicada a dose maior (10 μg de i.a.adulto⁻¹). Esta diferença foi na ordem de 20 pontos percentuais. Entretanto, estas diferenças foram menores (8,33 e 10%) e não significativas ao nível de 0,5%, quando os insetos foram inoculados com doses menores, de 1 e 0,1 de i.a.adulto⁻¹.

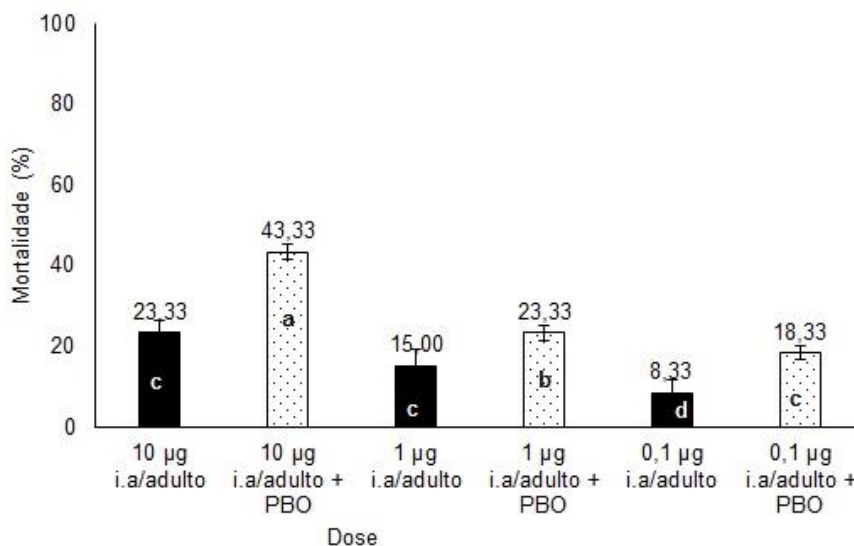


Fig. 7 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Palmital após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

A população de Pedrinhas Paulista apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com e sem o agente sinergista, resultando da mesma maneira que a população de Palmital, as maiores diferenças quando os insetos foram tratados com 10 μg de i.a. adulto⁻¹ com um aumento de 41,66% quando adicionamos o inseticida e o agente sinergista.

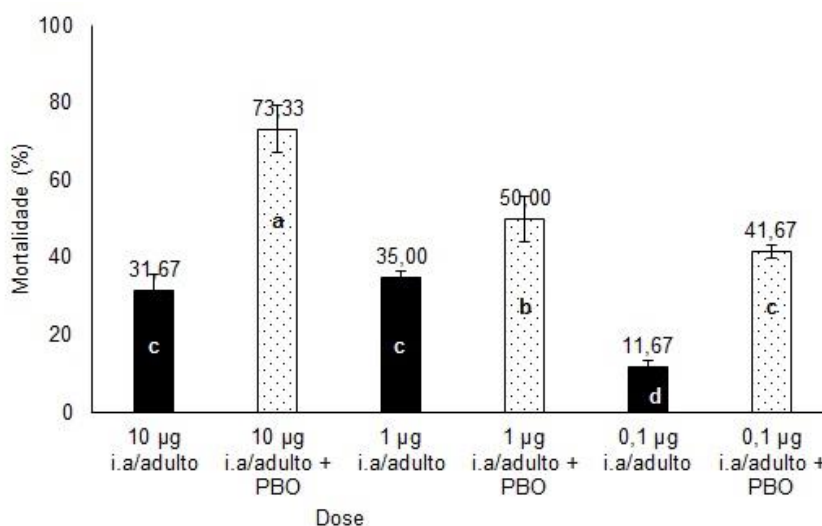


Fig. 8 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

A população de Sertaneja (Fig.9) apresentou um sinergismo evidente, principalmente na dose de 10 μg de i.a. adulto⁻¹, onde a diferença com a utilização do inseticida + o sinergista foi de 56,67%. Não houve diferença entre

as doses $1 \mu\text{g}$ de i.a. por adulto⁻¹ e $0,1 \mu\text{g}$ de i.a. por adulto⁻¹ quando aplicado somente o inseticida.

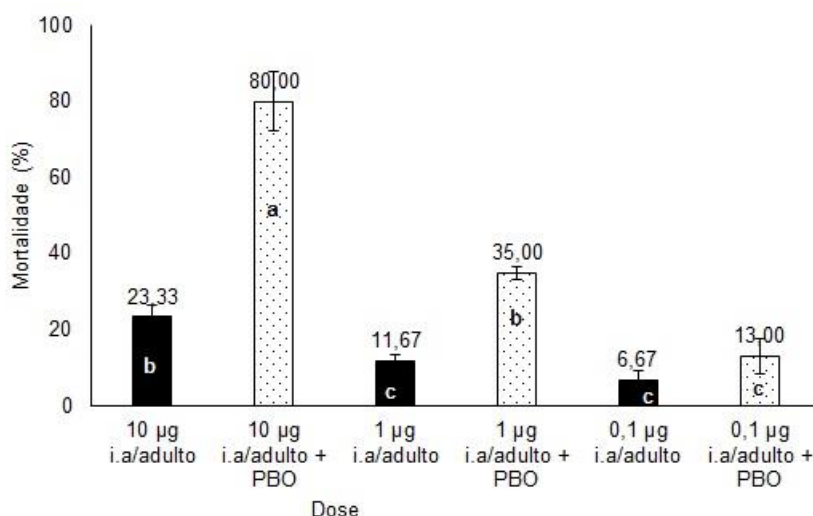


Fig. 9 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Sertaneja após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

Em relação a avaliação da população suscetível de laboratório, o resultado é apresentado na Fig. 10. Verifica-se que a mortalidade foi elevada (>78%) independente da aplicação do agente sinergista ou não. A aplicação do sinergista em conjunto com o thiametoxam não proporcionou diferenças significativas (Tukey, $p < 0,05$) de mortalidade, após 24 h, em relação ao tratamento com thiametoxam aplicado isoladamente ou entre as diferentes doses de thiametoxam. Após 48 h, a mortalidade foi de 100% em todas as doses testadas.

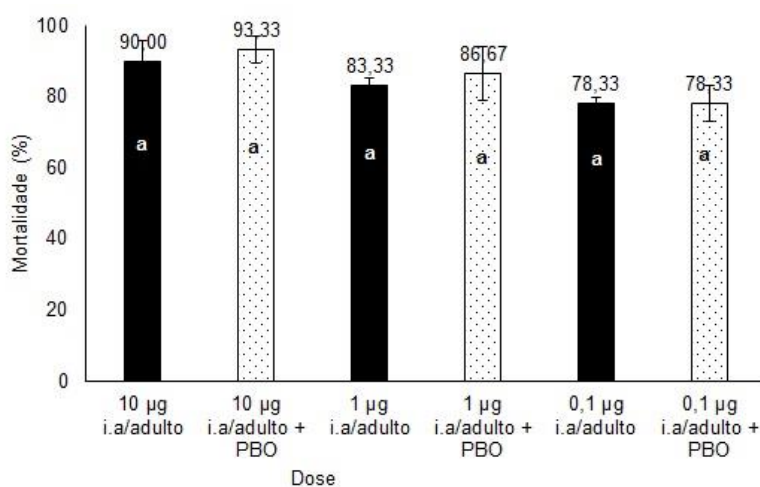


Fig. 10 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* provenientes da criação de laboratório após a aplicação tópica de thiametoxam e thiametoxam + butóxido de piperonila (PBO) após 24 h.

Nos estudos realizados aplicando topicamente imidacloprido, nas mesmas populações (Cândido Mota, Palmital, Pedrinhas Paulista, Sertaneja) verifica-se que a maiores doses aplicadas (100 e $10 \mu\text{g i.a.adulto}^{-1}$) provocaram mortalidades reduzidas, menores a 40%.

Comparativamente, a população de Cândido Mota apresentou a maior mortalidade (40%) 48 horas após a aplicação (Fig. 11) indicando maior suscetibilidade que as outras populações. Apesar disso foram observadas diferenças significativas (Teste de Tukey, $p < 0,05$) entre as doses de 100 e $10 \mu\text{g i.a.adulto}^{-1}$ quando aplicados o inseticida isolado e em conjunto com o PBO.

Nas populações de Palmital (Fig. 12), Pedrinhas Paulista (Fig. 13) e Sertaneja (Fig. 14), foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Teste Tukey, $p < 0,05$) com e sem o agente sinergista em todas as doses testadas.

Os indivíduos menos suscetíveis ao imidacloprido foram os provenientes de Sertaneja, os quais apresentaram mortalidade de 6,67% quando inoculados com $100 \mu\text{g i.a.adulto}^{-1}$, entretanto os indivíduos tratados com o sinergista, apresentaram mortalidade de 80%.

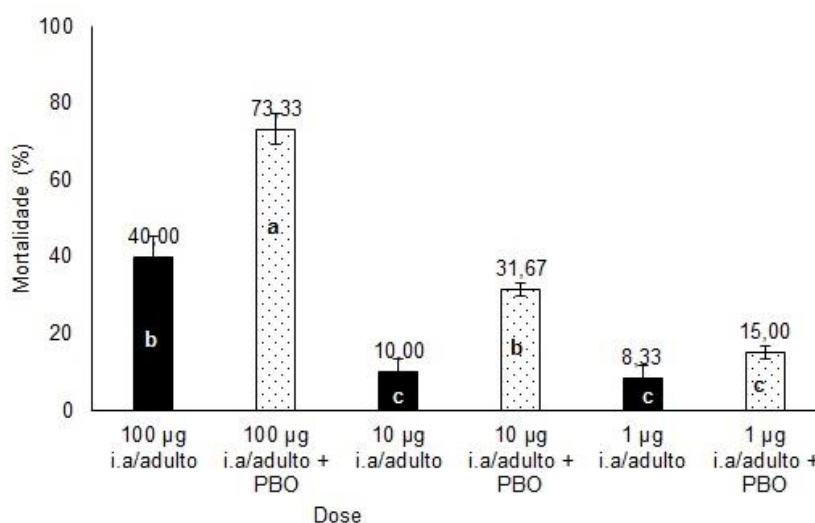


Fig. 11 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Cândido Mota após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

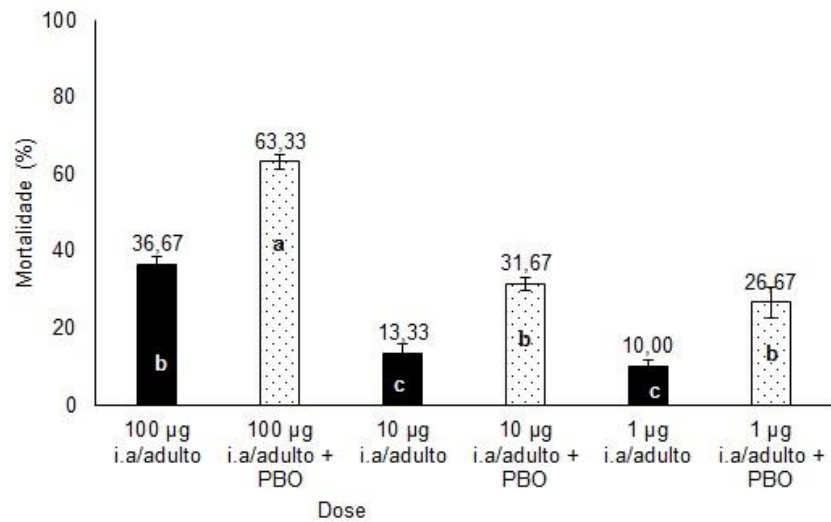


Fig. 12 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Palmital após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

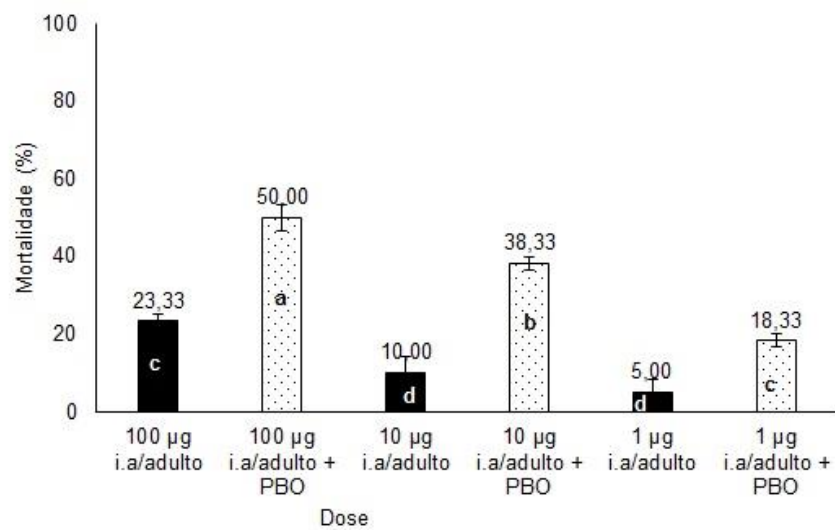


Fig. 13 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

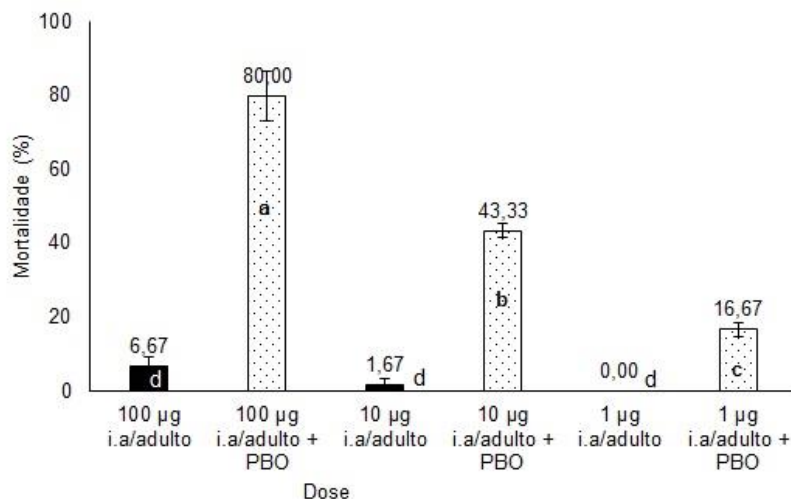


Fig. 14 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Sertaneja após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

Após 24 horas, a população de laboratório tratada com o inseticida imidacloprido, em todas as doses testadas, com e sem a adição de sinergista apresentou mortalidade superior a 80 %, o qual indica que esta população é suscetível e a adição do sinergista não contribui para ocasionar maior mortalidade. Não foram observadas diferenças significativas (Teste de Tukey $p < 0,05$) na mortalidade dos insetos causadas pelos diferentes tratamentos. Após 48 horas, todas as doses causaram mortalidade total (Fig. 15).

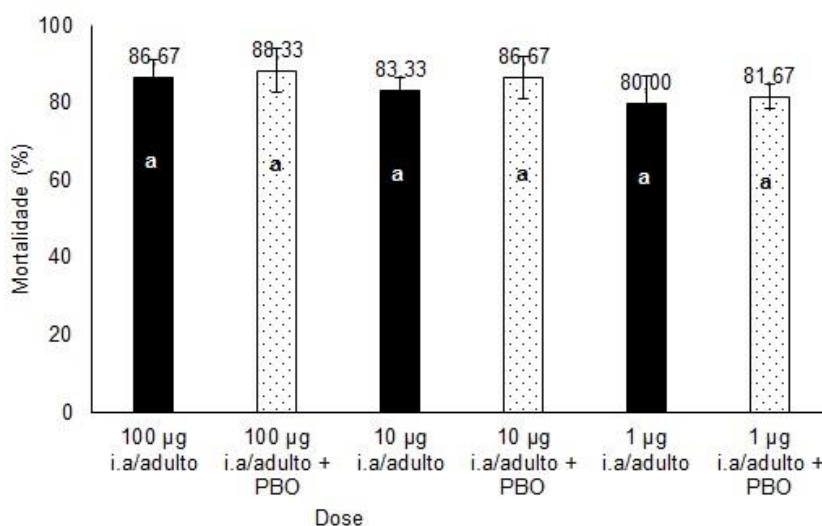


Fig. 15 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* provenientes da criação de laboratório após a aplicação tópica de imidacloprido e imidacloprido + butóxido de piperonila (PBO) após 24 h.

Nos ensaios realizados com o inseticida lambda-cialotrina foi observada maior suscetibilidade nos indivíduos provenientes de Cândido Mota (Fig. 16). A dose de 6 μg i.a.adulto⁻¹ causou mortalidade total, portanto não diferiu do tratamento com o inseticida e o sinergista. Entretanto foram observadas diferenças evidentes entre os tratamentos com e sem sinergista, quando aplicadas as doses de 3 μg i.a.adulto⁻¹ e 1,5 μg i.a.adulto⁻¹.

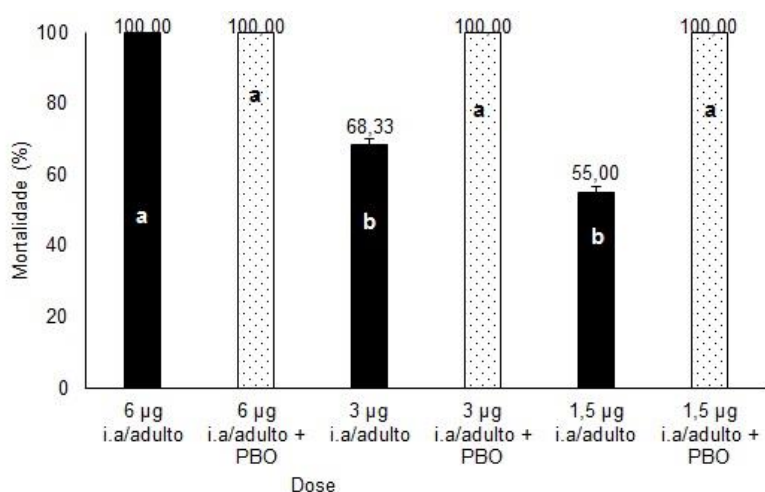


Fig. 16 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Cândido Mota após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

Por outro lado, as populações de Palmital (Fig. 17), Pedrinhas Paulista (Fig. 18) e Sertaneja (Fig. 19) apresentaram a mesma tendência, evidenciando de maneira geral, diferenças significativas entre a dose de 6 μg i.a.adulto⁻¹ de lambda-cialotrina e deste inseticida aplicado com o sinergista.

A menor suscetibilidade a lambda-cialotrina foi observada na população de Pedrinhas Paulista que apresentou 43,33% de mortalidade com a dose de 6 μg i.a.adulto⁻¹ de lambda-cialotrina, da mesma maneira a mortalidade foi menor que as outras populações, com as menores doses.

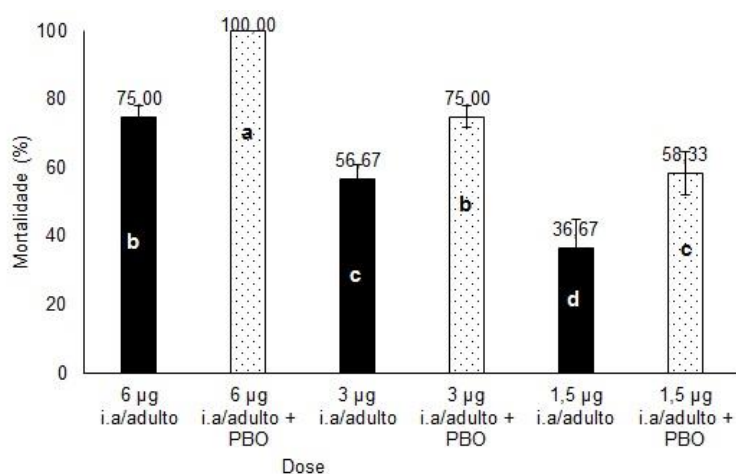


Fig. 17 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Palmital após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

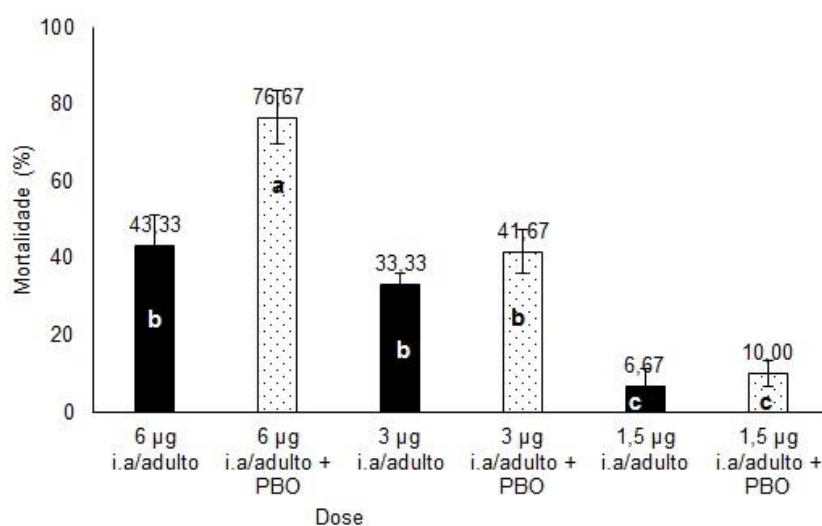


Fig. 18 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

A análise dos dados de mortalidade indica que as populações de Cândido Mota e Sertaneja (Figs. 16 e 19) apresentaram maior suscetibilidade a lambda-cialotrina que as outras populações. Por este motivo as diferenças de mortalidade entre os tratamentos com inseticida aplicado isolado e em presença do sinergista não foram evidentes.

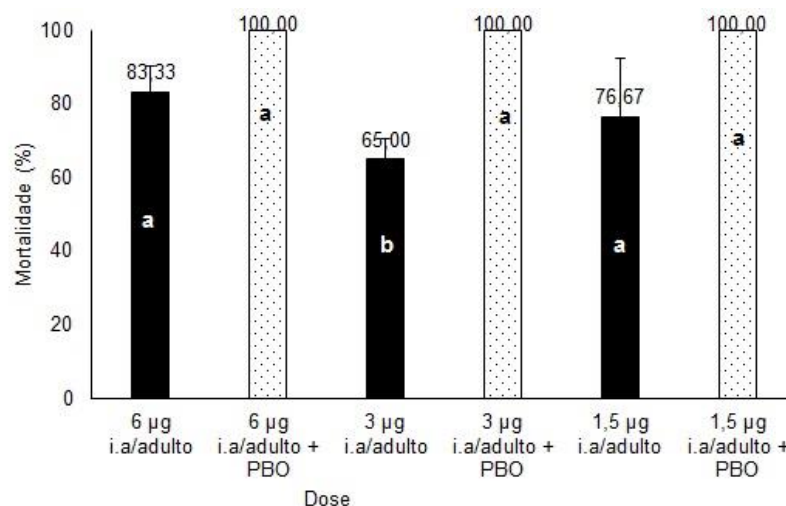


Fig. 19 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Sertaneja após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

A Figura 20 representa a mortalidade da população de laboratório 24 horas após a aplicação. Esta população não apresentou diferenças significativas (teste de Tukey, $p < 0,05$) entre as diferentes doses, assim como nos tratamentos com e sem sinergista.

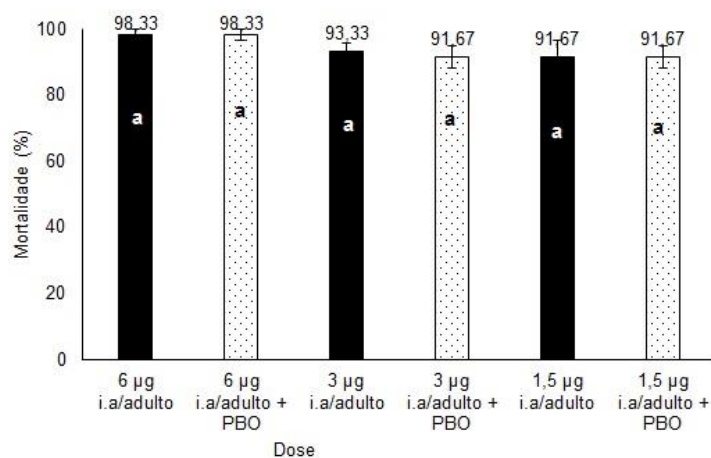


Fig. 20 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* provenientes da criação de laboratório após a aplicação tópica de lambda-cialotrina e lambda-cialotrina + butóxido de piperonila (PBO) após 24 h.

As mesmas populações já testadas anteriormente, também foram submetidas a bioensaios de aplicação tópica com o inseticida acefato. De maneira geral, os tratamentos com e sem o sinergista evidenciaram diferenças significativas de mortalidade. A única exceção foi a população de Cândido Mota

(Fig. 21) que não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos quando os *E. heros* foram inoculados com a dose de $7,1 \mu\text{g i.a.adulto}^{-1}$.

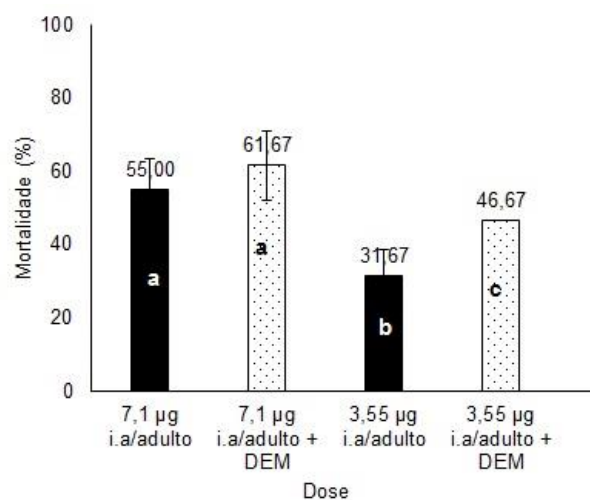


Fig. 21 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Cândia Mota após a aplicação tópica de acefate e acefate + dietil maleato (DEM) após 48 h.

Os insetos provenientes de Palmital (Fig. 22) apresentaram maior mortalidade no tratamento com o sinergista, na maior e menor dose testada, com diferenças de 28,33% e 45% respectivamente.

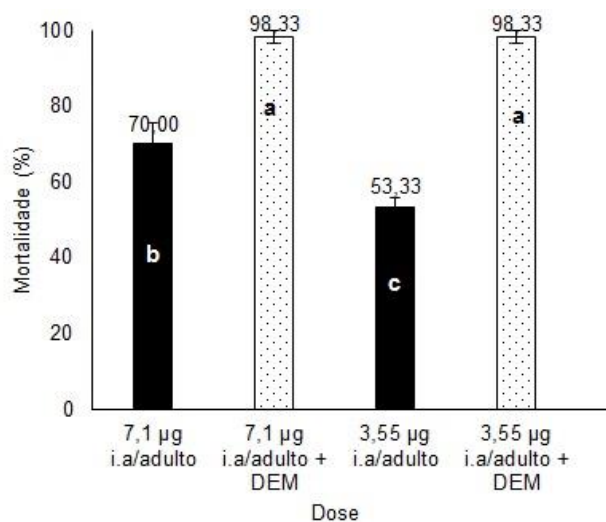


Fig. 22- Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Palmital após a aplicação tópica de acefate e acefate + dietil maleato (DEM) após 48 h.

Os insetos de Pedrinhas Paulista (Fig. 23) também apresentaram diferenças significativas em relação aos tratamentos com inseticida isolado e inseticida com o sinergista.

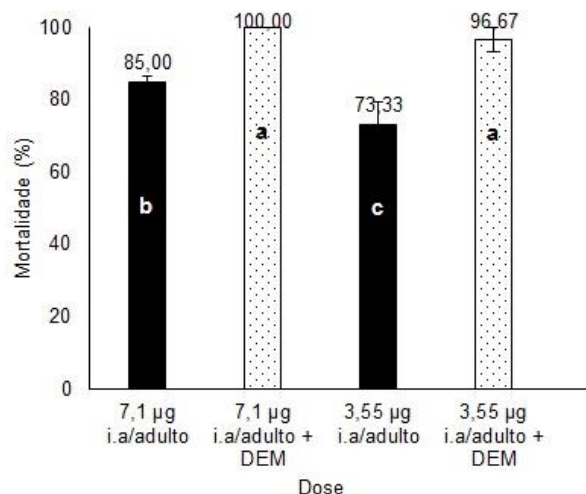


Fig. 23 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de acefato e acefato + dietil maleato (DEM) após 48 h.

O aumento de mortalidade mais evidente quando aplicado o sinergista foi observada, na população de Sertaneja (Fig. 24), cuja mortalidade com acefato na dose de $3,55 \mu\text{g}$ de i.a.adulto^{-1} foi de 35%. Quando aplicado o inseticida mais o sinergista, a mortalidade foi de 100%, o que representa aumento de mortalidade (61,67%) significativo (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

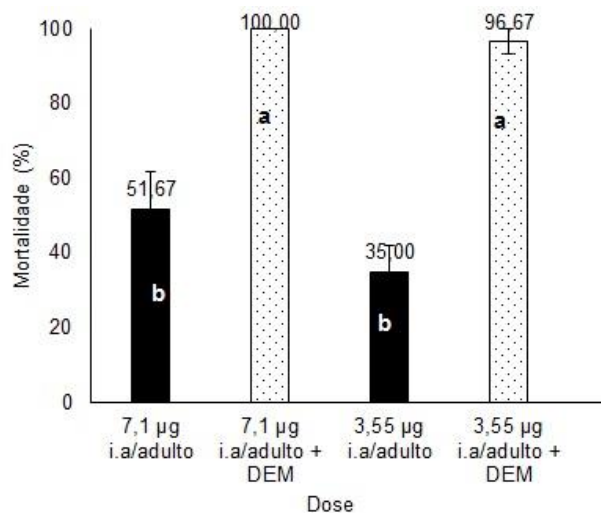


Fig. 24 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Sertaneja após a aplicação tópica de acefato e acefato + dietil maleato (DEM) após 48 h.

Nos ensaios com a população proveniente do laboratório a comparação da mortalidade provocada pelo acefato com e sem a adição do sinergista dietil maleato não indica diferenças entre os tratamentos (Fig.25). Após 72 horas da

aplicação, a mortalidade alcançou 100% independente da dose utilizada, o que indica efeito nulo do sinergista na população suscetível.

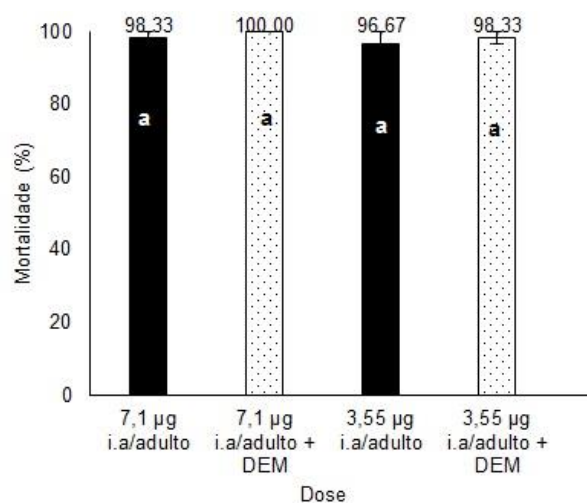


Fig. 25 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* provenientes da criação de laboratório após a aplicação tópica de acefato e acefato + dietil maleato (DEM) após 24 h.

O inseticida beta-ciflutrina também foi testado com as mesmas populações. Nos ensaios com a população de Cândido Mota foi observado efeito mais evidente do sinergismo, na dose mais elevada, de 1,5 µg de i.a.adulto⁻¹, cuja diferença em relação a aplicação da beta-ciflutrina isolada foi de 58,33% (Fig. 26).

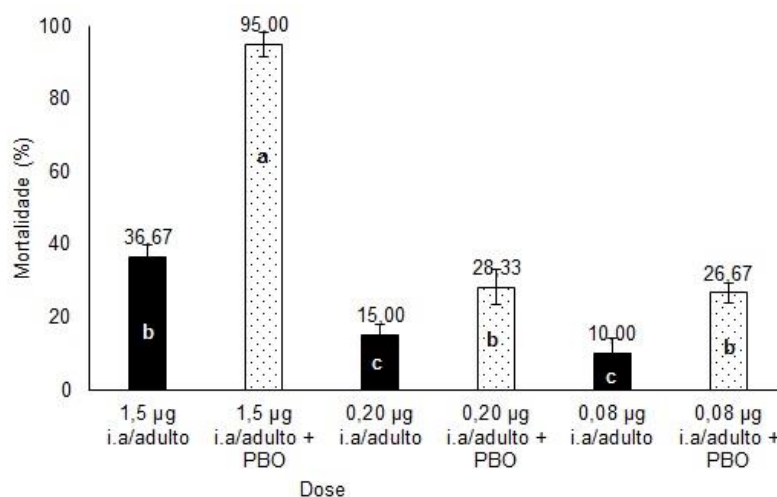


Fig. 26 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Cândido Mota após a aplicação tópica de beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

A adição do sinergista provocou aumento significativo (Teste de Tukey, $p < 0,05$) da mortalidade, em todas as doses ensaiadas, nos insetos coletados em

Palmital (Fig. 27), indicando provavelmente a inibição da detoxificação pelas enzimas monooxigenases e/ou esterases.

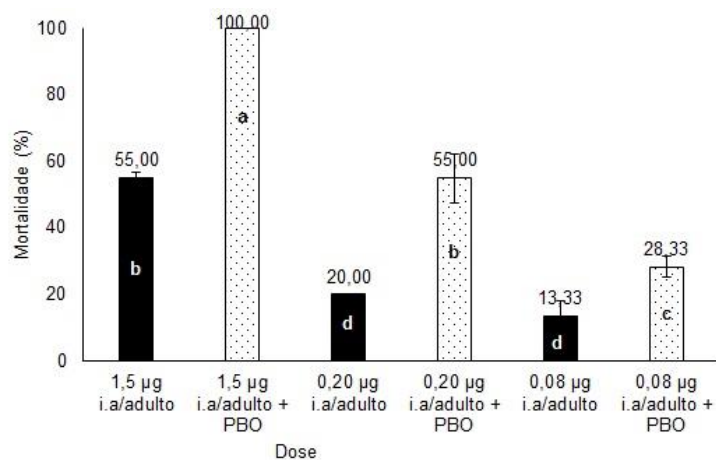


Fig. 27 – Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Palmital após a aplicação tópica de beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

A mesma tendência observada na população de Palmital foi observada na população de Pedrinhas Paulista (Fig. 28). Em todas as doses testadas foi observada diferença significativa entre os tratamentos com e sem o sinergista. As doses menores com a aplicação do sinergista, provocaram aumento da mortalidade na ordem de 28,33 a 60%.

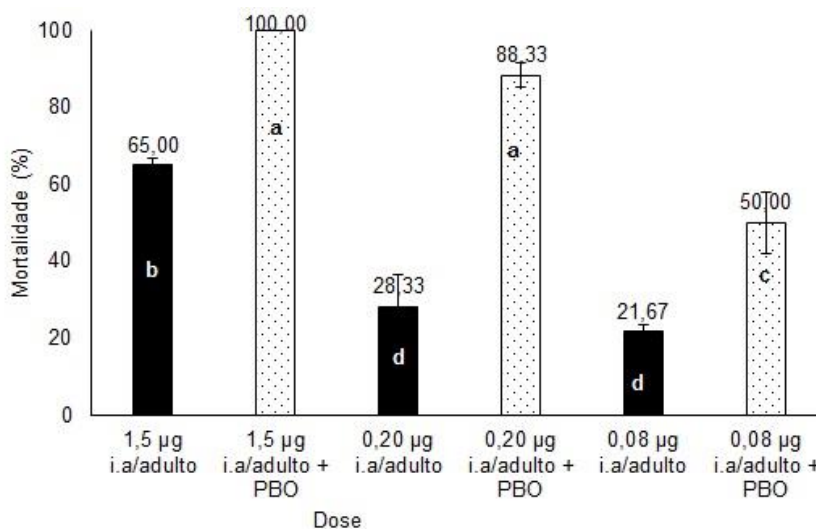


Fig. 28 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Pedrinhas Paulista após a aplicação tópica de beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

Os indivíduos coletados em Sertaneja apresentaram diferenças na ordem de 15% e 55% pontos percentuais quando tratados com as maiores doses de beta-ciflutrina (Fig. 29). Entretanto, a dose de 0,08 μg de i.a.adulto⁻¹ não apresentou diferenças significativas de mortalidade quando os insetos foram tratados somente com o inseticida ou com a mistura de inseticida mais sinergista.

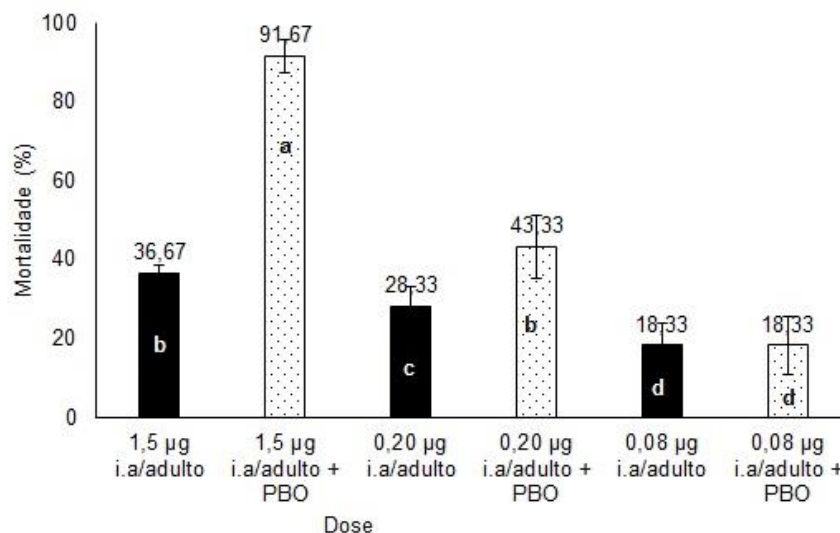


Fig. 29 - Mortalidade \pm EP de *E. heros* na população de Sertaneja após a aplicação tópica de beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + butóxido de piperonila (PBO) após 48 h.

Nos ensaios realizados com a população provenientes de laboratório não foram observadas diferenças significativas de mortalidade entre os insetos tratados com o inseticida isolado e a mistura inseticida mais o agente de sinergismo (Fig. 30). Isto indica suscetibilidade desta população ao inseticida beta-ciflutrina ou ausência deste mecanismo de resistência nessa população. A mortalidade alcançou 100% no segundo dia de avaliação em ambas as doses.

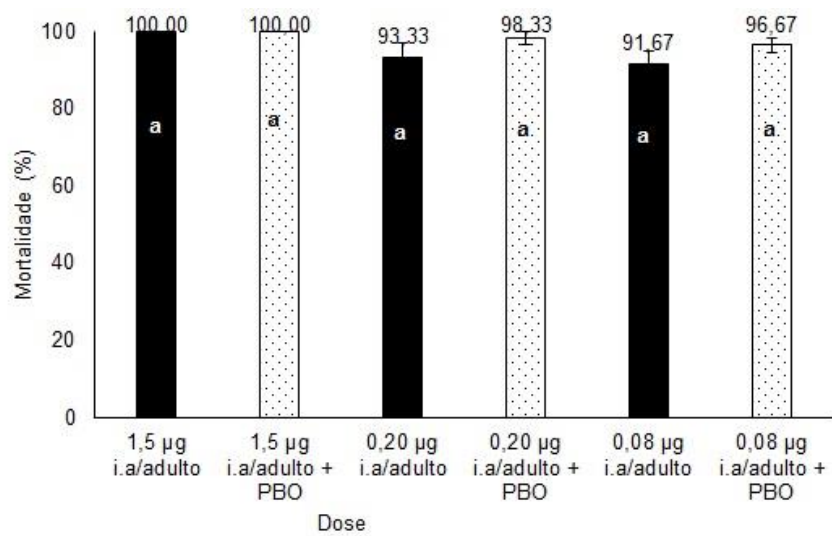


Fig. 30– Mortalidade \pm EP de *E. heros* tratado com o inseticida beta-ciflutrina e beta-ciflutrina + PBO 24 horas após a aplicação.

6. Discussão

Conforme a Secretaria de Agricultura e do Abastecimento do Paraná (SEAB, 2016), existem poucos inseticidas liberados para o controle dos percevejos *E. heros* e *D. melacanthus*. A partir de 2004, foi recomendada a primeira mistura de neonicotinóides (imidacloprido) com piretróides (beta-ciflutrina) para controle de *E. heros* e em 2005, uma nova formulação dessa mistura foi colocada no mercado, thiametoxam e lambda-cialotrina (SOSA-GÓMEZ e SILVA, 2010).

Uma vez que os produtos que em sua composição contém neonicotinóides apresentam ação sistêmica (SIMON-DELSO et al., 2015), a definição de metodologia para realizar bioensaios de ingestão pode ser útil para avaliar sua atividade biológica em condições controladas evitando ou minimizando o contato tarsal ou através de áreas extensas do tegumento. Esse método de bioensaio apresenta vantagem, pois o inseto não entra em contato direto com o inseticida, uma vez que a membrana de parafilm atua como uma barreira e por sua vez permite a alimentação através dela. Por outro lado, o método é simples, rápido e aparentemente proporciona respostas consistentes permitindo a comparação inequívoca de atividade entre inseticidas, respostas de populações geográficas e parâmetros associados aos ensaios. Entretanto, aspectos que merecem maior atenção com possibilidades de serem melhorados, são: a possibilidade de volatilização dos inseticidas através do parafilm, resultando em mortalidade adicional não devida a ingestão e a deterioração dos tecidos vegetais após 3 dias de iniciado o experimento.

A concentração letal (CL_{50}) determinada nos bioensaios por ingestão em *D. melacanthus* indicou maior atividade da mistura de thiametoxam + lambda-cialotrina e do inseticida thiametoxam. Entretanto, as misturas thiametoxam + lambda-cialotrina e imidacloprido + beta-ciflutrina apresentaram maior atividade biológica em *E. heros* que os inseticidas isolados. A menor atividade biológica foi determinada nos ensaios com o imidacloprido.

Em ambas as espécies de pentatomídeos a tendência observada foi semelhante, indicando que são necessárias concentrações menores de thiametoxam do que de imidacloprido, para causar mortalidades semelhantes.

Segundo Guill e Bielza (2013), em estudos sobre modos de ação de neonicotinóides, a principal enzima a ser inibida durante um processo de sinergismo são as monooxigenases P-450, e ensaios utilizando misturas com sinergistas pode apresentar uma maior toxicidade ao inseto (GUILL e BIELZA, 2013). Isso pode ser verificado para a população de Sertaneja quando foi utilizado o inseticida imidacloprido e na população de Cândido Mota quando foi tratada com o inseticida thiametoxam.

Os ensaios de aplicação tópica foram escolhidos para determinar o modo de ação dos inseticidas devido a sua praticidade e facilidade de manutenção dos insetos após a aplicação do inseticida e do agente sinergista. Para todos os inseticidas ensaiados foram observadas diferenças evidentes, nas doses mais elevadas, entre o inseticida aplicado isoladamente ou conjuntamente com seu sinergista. Ensaios realizados por Mota-Sanchez et al (2006) e Clements et al (2016) verificaram em inseticidas neonicotinóides a participação da enzima monooxigenase no processo de detoxificação do inseticida.

As maiores diferenças de mortalidade observadas ocorreram nas comparações entre as aplicações com thiametoxam ou thiametoxam com PBO, assim como nos tratamentos com beta-ciflutrina ou beta-ciflutrina com PBO, envolvendo as populações de Sertaneja e Cândido Mota.

Por falta de alternativas, o acefato e misturas de neonicotinóides e piretróides, são os inseticidas mais usados para o controle de percevejos, isto tem aumentado o risco de selecionar indivíduos resistentes (SOSA-GÓMEZ e SILVA, 2010). As diferenças de suscetibilidade podem ser devidas a este fenômeno, já observado em estudos realizados por Sosa-Gómez e Silva (2010) e Husch (2016) que trabalharam com endosulfam, metamidofós e acefato.

Insetos utilizam enzimas de desintoxicação, incluindo monooxigenases do citocromo P-450, glutathione S-transferases e esterases para metabolizar metabólitos secundários de outras substâncias, como por exemplo, os inseticidas. As respostas dos insetos a esses metabólitos podem incluir insensibilidade ao local alvo, passagem rápida de toxinas através do intestino e detoxificação metabólica direta (LI, et al., 2007). Neste trabalho, foi utilizado os sinergistas butóxido de piperonila e dietil maleato objetivando verificar a mortalidade dos insetos com a adição do sinergista ao inseticida, sugerindo assim a ação de monooxigenases e glutathione-S-transferases, respectivamente.

Ensaio com acefato para determinação de sinergismo indicaram diferenças de mortalidade na ordem 47 e 61,7 pontos percentuais nas doses de 7,1 e 3,55 µg de i.a. de acefato nos indivíduos da população de Sertaneja tratados com e sem dietil maleato. O que sugere sinergismo por ação de glutathione S-transferases na detoxificação do organofosforado (ANDREW et al., 2003). O envolvimento das enzimas glutathione-S-transferases (GSTs) no processo de resistência a inseticidas foi constatado em diversas espécies de insetos (FRAGOSO et al., 2000; RIBEIRO et al., 2003), assim como na espécie *E. heros* utilizando análises enzimáticas (HUSCH, 2016).

Neste trabalho, os piretróides estudados foram beta-ciflutrina e lambda-cialotrina, aplicados com o sinergista butóxido de piperonila (PBO). O inseticida beta-ciflutrina avaliado após 48 h provocou mortalidades inferiores a 65% (Pedrinhas Paulista). Quando foi adicionado o sinergista PBO todas as populações apresentaram aumento da mortalidade, maior que 91,67% (Sertaneja). Os indivíduos provenientes de Pedrinhas Paulista apresentaram um aumento mais evidente da mortalidade, indicando um nível maior de resistência.

Estudos realizados por Amweg e Weston (2007) com piretróides e o sinergista PBO provocaram aumento da toxicidade do inseticida. O mesmo foi verificado neste trabalho, todas as populações testadas apresentaram maior mortalidade quando foi adicionado o agente sinergista PBO.

Nos estudos de Abro et al (2013), Beckel, Lorini e Lazzari (2006), Bingham et al (2008), Romero, Potter e Haynes (2009) e Fragoso et al (2000) também foram observados um aumento na toxicidade dos inseticidas quando adicionado o PBO, indicando o envolvimento das enzimas monooxigenases dependentes do citocromo P-450. A combinação de inseticida e sinergista deve resultar na eliminação da detoxificação enzimática no inseto (YU e HSU, 1993).

Fragoso, et al., (2000) testaram alguns inseticidas organofosforados com agentes sinergistas, onde o DEM conseguiu sinergizar todas as populações testadas e a enzima glutathione-S-transferase pode ser uma das enzimas envolvidas no processo da detoxificação do inseticida.

A detoxificação do inseticida ocorre por diversos processos onde o produto (inseticida) é transformado em uma forma não tóxica ao organismo ou é eliminado o mais rápido do corpo do inseto. A ação do sinergista minimiza a quantidade de inseticida necessária para o controle de insetos, pois age como

um substrato alternativo, poupando o inseticida da detoxificação, ou reage com outro sítio no sistema enzimático, prevenindo a detoxificação do inseticida (CASIDA, 1970), aumentando assim a letalidade dos mesmos nas populações resistentes (BRINDLEY e SELIM, 1984). Estudos complementares de determinação das concentrações letais com e sem a aplicação de sinergistas podem orientar e ser informativos sobre os níveis de resistência de ocorrência atualmente.

7. Conclusões

A metodologia de bioensaios por ingestão pode ser utilizada para obter curvas de resposta de suscetibilidade dos pentatomídeos a inseticidas sistêmicos.

A atividade biológica da mistura thiametoxam + lambda-cialotrina é superior a outros inseticidas para *D. melacanthus*. Entretanto, a mortalidade de *E. heros* tratados com as misturas thiametoxam + lambda-cialotrina e imidacloprido+beta-ciflutrina foram semelhantes.

Independente da mistura, é preciso, aproximadamente, cinco vezes mais produto para provocar os mesmos níveis de mortalidade de *D. melacanthus* comparado a *E. heros*.

Enzimas monooxigenases dependentes do citocromo-P-450 estão envolvidas nos mecanismos de resistência de *E. heros* aos inseticidas thiametoxam, imidacloprido, lambda-cialotrina e beta-ciflutrina.

Enzimas glutathiona-S-transferases estão envolvidas no processo de detoxificação do acefato (organofosforado) em populações resistentes de *E. heros*.

A utilização de sinergistas pode auxiliar na identificação das populações de percevejos resistentes a inseticidas.

8. Referências Bibliográficas

ABRO, G.H.; SYED, T.S.; KALHORO, A.N.; SHEIKH, G.H.; AWAN, M.S.; JESSAR, R.D.; SHELTON, A.M. Insecticides for control of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pakistan and factors that affect their toxicity. **Crop Protection**, v.52, p.91-96, 2013.

ADELMAN, Z.A.; KILCULLEN, K.A.; KOGANEMARU, R.; ANDERSON, M.A.E.; ANDERSON, T.D.; MILLER, D.M. Deep sequencing of pyrethroid resistant bed bugs reveals multiple mechanisms of resistance within a single population. **PLoS ONE**, v. 6, n. 10, p. 1-9, 2011.

ALBUQUERQUE, F.A.; BORGES, L.M.; IACONO, T.O.; CRUBELATI, N.C.S.; SINGER, A.C. Eficiência de inseticidas aplicados em tratamento de sementes e em pulverização, no controle de pragas iniciais do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.5, n.1, p.15-25, 2006.

ALIZADEH, M.; BANDANI, A. L.; AMIRI, A. Evaluation of insecticide resistance and biochemical mechanism in two populations of *Eurygaster integriceps* puton (Heteroptera: Scutelleridae). **Munis Entomology & Zoology Journal**, v. 5, n. 2, p. 734 – 744, 2010.

ALOUT, H.; LABBÉ, P.; PASTEUR, N.; WEILL, M. High incidence of ace-1 duplicated haplotypes in resistant *Culex pipiens* mosquitoes from Algeria. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 29-35, 2011.

AMWEG, E.L.; WESTON, D.P. Whole-sedimenttoxicity identification evaluation tools for pyrethroid insecticides: I. piperonyl butoxide addition. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n.11, p.2389–2396, 2007.

ANSPAUGH, D.D.; ROSE, R.L.; KOEHLER, P.G.; HODGSON, E.; ROE, R.M. Multiple mechanisms of pyrethroid resistance in the german cockroach, *Blattella germanica* (L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.50, n.2, october, p.138-118, 1994.

ÁVILA, C.J.; DUARTE, M.M. Eficiência de inseticidas, aplicados nas sementes e em pulverização, no controle do percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae), na cultura do milho. **BioAssay**, v.7, n.6, p. 1-6, 2012.

BARBOSA, M.Z.; ASSUMPÇÃO, R. Ocupação territorial da produção e da agroindústria da soja no Brasil, nas décadas de 80 e 90. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.31, n. 11, p. 7-17, novembro, 2001.

BECKEL, H.S.; LORINI, I.; LAZZARI, S.M.N. Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. **Revista Brasileira de Entomologia** v.50, n.1, p.110-114, março 2006.

BELORTE, L.C.; RAMIRO, Z.A.; FARIA, A.M.; MARINO, C.A.B. Danos causados por percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) em cinco cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill, 1917) no município de Araçatuba, SP. **Arquivos Instituto Biológico**, v.70, n.2, p.169-175, 2003.

BERGÉ, J.; FEYERENSEN, T.; AMICHOT, M. Cytochrome P450 monooxygenases and insecticide resistance in insects. **Philosophical Transactions Royal Society London Series B**. n.353, p.1701-1705, set. 1998.

BERNARD, C.B.; PHILOGÈNE, B.J.R. Insecticide synergists: role, importance, and perspectives. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v.38, p.199-223, 1993.

BIANCO, R. Manejo de pragas do milho em plantio direto. In: INSTITUTO BIOLÓGICO DE SÃO PAULO. (Org.), 2005, Campinas, SP. Encontro de fitossanidade de grãos. Campinas: Emopi, 2005. p.8-17.

BINGHAM, G.; GUNNING, R.V.; DELOGU, G.; BORZATTA, V.; FIELD, L.M.; MOORES, G.D. Temporal synergism can enhance carbamate and neonicotinoid insecticidal activity against resistant crop pests. **Pesticide Management Science** v. 68, p.81–85, 2008.

BINGHAM, G.; STRODE, C.; TRAN, L.; KHOA, P.T.; JAMET, H.P. Can piperonyl butoxide enhance the efficacy of pyrethroids against pyrethroid-resistant *Aedes aegypti*? **Tropical Medicine and International Health**, v. 16, n.4, p.492–500, April 2011.

BOLWING, C.C. The stylet sheath as na indicator of feeding activity by Southern green stink bug on soybeans. **Journal of Economic Entomology**, v. 73, p.1-3, 1980.

BRATTSTEN, L.B.; HOLYOKE, JR.; LEEPER, J.R.; RAFFA, K.F. Inseticide resistance: challenge to pest management and basic research. **Science**, v.231, p.1255-1260, 1986.

BRINDLEY, W.A.; SELIM, A.A. Synergism and antagonism in the analysis of insecticide resistance. **Environmental Entomology**, n.13, p.348–353, 1984.

BROGDON, W.G; MCALLISTER, J.C. Insecticide resistance and vector control. **Emerging Infectious Diseases**.v.4, n.4, p. 605-613, october-december 1998.

BROWN, T.M.; BRYSON, P.K. Synergism by propynyl aryl ethers in permethrin-resistant tobacco budworm larvae, *Heliothis virescens*. **Pesticide Science**, v.43, p.323-331, 1996.

BRUSTOLIN, C.; BIANCO, R.; NEVES, P. M. Inseticidas em pré e pós-emergência do milho (*Zea mays* L.), associados ao tratamento de sementes, sobre *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.10, n.3, p. 215-223, 2011.

BYRNE, F.J.; CASTLE, S.; PRABHAKER, N.; TOSCANO, N.C. Biochemical study of resistance to imidacloprid in B biotype *Bemisia tabaci* from Guatemala. **Pesticide Management Science**, v.59, n.3, p.347-352, 2003.

CAMPANHOLA, C.; PLAPP, F.W Toxicity of synergism of inseticides against susceptible and pyrethoid-resistant neonate larvae and adults of the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** v.82, n.6, p.1527-1533, 1989.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p.18-24. 2001.

CASIDA, J. E. Mixed-function oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergists. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.18, p.753–772, 1970.

CASIDA, J. E.; QUISTAD, G. B. Golden Age of Insecticide research: Past, Present, or Future? **Annual Review Entomology**. v.43, p.1–16. 1998.

CECCON, E.; RAGA, A.; DUARTE, A.P.; SILOTO, R.C. Efeito de inseticidas na semeadura sobre pragas iniciais e produtividade de milho safrinha em plantio direto. **Bragantia**, v.63, p.227-237, 2004.

CHIARADIA, L.A.; NUNES, C.; RIBEIRO, L.P. Nível de dano econômico do percevejo barriga-verde, *Dichelops furcatus* (Fabr.) (Hemiptera: Pentatomidae), em milho. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.29, n.1, p.63-67, jan./abr. 2016.

CHIESA, A.C.M.; SISMEIRO, M.N.S.; PASINI, A.; ROGGIA, S. Tratamento de sementes para manejo do percevejo-barriga-verde na cultura de soja e milho em sucessão. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.51, n.4, p.301-308, abr. 2016.

CHOCOROSQUI, V.R.; PANIZZI, A.R. Impact of cultivation systems on *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) abundance and its damage to wheat in southern Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 33, n.4, p. 487-492, 2004.

CLARK, A.G.; SHAMAAN, N.A.; SINCLAIR, M.D.; DAUTERMAN, W.C. Insecticide metabolism by multiple glutathione S–transferases in two strains of the house fly *Musca domestica* (L.). **Pesticide Biochemistry Physiology**, v.25, p.169–175, 1986.

CLEMENT, J.C.; SCHOVILLE, S.; PETERSON, N.; LAN, Q.; RUSSELL, C.; GROVES, L. Characterizing molecular mechanisms of imidacloprid resistance in select populations of *leptinotarsa decemlineata* in the central sands region of Wisconsin. **PLoS One**, v.11, n.1, 2016.

CONAB, 2017. Acompanhamento da safra brasileira de grãos – Sétimo levantamento. Safra 2016/2017. v. 4, n. 7, abril, 2017. ISSN 2318-6852. Disponível em http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_04_17_17_20_55_boletim_graos_abr_2017.pdf, acesso em 05/04/2017, 15:21h.

CONYERS, C.M.; MACNICOLL, A.D.; PRICE, N.R. Purification and characterisation of an esterase involved in resistance to organophosphorus insecticides in the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 28, p.435–448, 1998.

CONTE, O.; OLIVEIRA, F.T.; HARGER, N.; CORRÊA-ERREIRA, B.S.; ROGGIA, S.; PRANDO, A.M.; SERATTO, C.D. **Resultados do manejo integrado de pragas da soja na safra 2015/16 no Paraná**. Embrapa Soja, 59p, Londrina, 2016.

CONTE, O.; OLIVEIRA, F.T.; HARGER, N.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; ROGGIA, S. **Resultados do manejo integrado de pragas da soja na safra 2014/15 no Paraná**. Embrapa Soja, 60p, Londrina, 2016.

COON, M.J.; VAZ, A.D.; BESTERVELT, L.L. Peroxidative reactions of diversozymes. **FASEBJ**, v.10, n.4, p. 428-434, 1996.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; PANIZZI, A. R. Percevejos da soja e seu manejo. Londrina: EMBRAPA-Soja. **Circular Técnica**, 24, 45p, 1999.

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; KRZYZANOWSKI, F.C.; MINAMI, C.A. Percevejos e a qualidade da semente de soja – série sementes. Londrina: Embrapa Soja, **Circular Técnica**, n.67, 15p., 2009.

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; ROGGIA, S. Manejo Integrado de percevejos na cultura da soja: antes, durante e pós –safra da soja. **VI Congresso Brasileiro de Soja**, Cuiabá, MT, p.1-5, 2012.

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; AZEVEDO, J. Soybean seed damage by different species of stink bugs. **Agriculture and Forest Entomology**, v.4, p.145-150, 2002.

DAUGHERTY, D.M. Pentatomidae as vectors of yeast-spot disease of soybeans. **Journal of Economic Entomology**, v.60, p.147-152, 1967.

DEGRANDE, P.E.; OLIVEIRA, M.A.; SHIMOHIRO, A.; BARROS, R. Controle químico do percevejo *Euschistus heros* (Fabr.,1794) (Heteroptera: Pentatomidae) na cultura da soja em aplicação aérea. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.6, n. 144, p.144-148, mai-ago, 2000.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná 1996/97**. Documentos, 97, Londrina: Embrapa Soja, 187p. 1996.

ENAYATI, A.A.; RANSON, H.; HEMINGWAY, J. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. **Insect Molecular Biology**, v.14, n.1, p.3-8, 2005.

ESTABROOK, R.W. The remarkable P- 450s: a historical overview of these versatile heme protein catalysts. **The FASEB Journal**, v.10, p.202–204, 2016.

FFRENCH-CONSTANT, R.H.; PITTENDRIGH, B.; VAUGHAN, A.A.N. Why there so few resistance-associated mutation target genes? **Philosophical Transactions of the Royal Society London**, n. 353, p.1685-1693, 1998.

FRAGOSO, D.B.; GUEDES, R.N.; JUSSELINO-FILHO, P.; MAGALHÃES, L.C. Sinergismo a inseticidas fosforados em populações de *Leucoptera coffeellum* (Guèr-Mènev) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Anais do I Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. p. 1283-1285, 2000.

FUJIOKA, K.; CASIDA, J.E. Glutathione S-transferase conjugation of organophosphorus pesticides yields Sphospho-, S-aryl-, and S-alkylglutathione derivatives. **Chemical Research in Toxicology**, v.20, p. 1211–1217, 2007.

FUKUTO, T.R.; MALLIPUDI, N.M. Supression of metabolic resistance through chemical structure modification, p. 557-578, 1983. In: G. P. Georghiou & T. Saito (ed.). **Pest resistance to pesticides: challenges and prospects**. Plenum Press, New York, United States of America.

GAZZONI, D.; OLIVEIRA, E.B.O.; CORSO, I.C.; FERREIRA, B.S.C.; BÔAS, G.L.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A.R. **Manejo de pragas da soja**. Londrina: Embrapa, Circular Técnica n.5, 44p., 1988.

GRANT, D.F.; MATSUMURA, F. Glutathione S-transferase 1 and 2 in susceptible and insecticide resistant *Aedes aegypti*. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v.33, p.132–143, 1989.

GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, 234p, Pallotti: 2000.

GUILL, J.; BIELZA, P. Thiamethoxam acts as a target-site synergist of spinosad in resistant strains of *Frankliniella occidentalis*. **Pesticide Management Science**, v.69, p.188–194, 2013.

HEMINGWAY, J.; KARUNARATNE, S.H. Mosquito carboxylesterases: a review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. **Medical and Veterinary Entomology**, v.12, n.1, p.1-12, 1998.

HEMINGWAY, J.; RANSON, H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annual Review of Entomology**, v.5, p. 371–391, 2000.

HEMINGWAY, J. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** v.30, p. 1009–1015, 2000.

HINKS, C.F., SPURR, D.T. The efficacy and cost benefits of binary mixtures of deltamethrin combined with other insecticides or synergists against grasshoppers at two temperatures. **Journal of Agricultural Entomology**, v.8, p. 29–39, 1991.

HODGSON, E. Short Review: The significance of cytochrome P-450 in insects. **Insect Biochemistry**, v.13, n.3, p. 237-246, 1983.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CATTELAN, A.J.; NEPOMUCENO, A.L.; MOSCARDI, F.; LIBERATTI, I.A.; PEREIRA, L.L.; KASTER, M.; NEUMAIER, N.; SARAIVA, O.F. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Circular Técnica, 30, 70p., Embrapa Soja: Londrina, 2000.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros arthópodes-praga**. Embrapa, Brasília, v.1, 859p. 2012.

HUANG, H.S.; HU, N.T.; YAO, C.Y.; WU, C.Y.; CHIANG, S.W. Molecular cloning and heterologous expression of a glutathione S-transferase involved in insecticide resistance from the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Insect Biochemistry Molecular Biology**, v. 28, p.651–658, 1998.

HUSCH, P.E.; OLIVEIRA, M.C.N.; SOSA-GÓMEZ, D.R. Characterization of Injury Caused by *Edessa mediatunda* (F.), *Chinavia impicticornis* (Stål), and *Piezodorus guildinii* (West.) (Hemiptera: Pentatomidae) to Soybean. **Neotropical Entomology**, v.43, p.276–281, 2014.

HUSCH, P.E. **Suscetibilidade a inseticidas, atividade enzimática e variabilidade genética em *Euschistus heros* (F., 1798) (Hemiptera: Pentatomidae)**. 2016, 75 f. Tese (doutorado em Entomologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

ISHAAYA, I. Insect detoxifying enzymes: Their importance in pesticide synergism and resistance. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v.22, p.263-276, 1993.

KADOUS, A.A.; GHASUDDIN, S.M.; MATSUMURA, F.; SCOTT, J.G.; TANAKA, K. Difference in the picrotoxinin receptor between the cyclodiene-resistant and susceptible strains of the German cockroach. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v.19, p. 157-166, 1983.

KLIOT, A.; GHANIM, M. Fitness costs associated with insecticide resistance. **Pesticide Management Science**, West Sussex, v. 68, n. 11, p. 1431-1437, 2012.

LEORA Software. **Polo Plus**. A user's guide to probit and logit analysis. Berkeley, CA, USA, 2002.

LI, X.C.; SCHULER, M.A.; BERENBAUM, M.R. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Annual Review Entomology**, v.52, p.231–253, 2007.

MANFREDI-COIMBRA, S.; SILVA, J.J.; CHOCOROSQUI, V.R.; PANIZZI, A.R. Danos do percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) em trigo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.6, p.1243-1247, 2005.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons, acesso em 27/03/2017 13:03h.

MARTINS, G.L.M.; TOSCANO, L.C.; TOMQUELSKI, G.V.; MARUYAMA, W.I. Controle químico do percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) na cultura do milho. **Arquivo Instituto Biológico**: São Paulo, v.76, n.3, p.475-478, jul/set, 2009.

MARTINS, T.; OCHOU, O.G.; VAISSAYRE, M.; FOURNIER, D. Oxidases responsible for resistance to pyrethroids sensitize *Helicoverpa armigera* (Hubner) to triazophos in West Africa. **Insect Biochemistry Molecular Biology**, v. 9, p.883-887, 2003.

MEISTER, A.; ANDERSON, M.E. Glutathione. **Annual Reviews Biochemistry**, v.52, p. 711,1983.

METCALF, R.L. Mode of action of insecticide synergists. **Annual Review of Entomology**, v.12, p. 229–256, 1967.

MIYAZAKI, M.; OHYAMA, K.; DUNLAP, D.Y.; MATSNMURA, F. Cloning and sequencing of the para-type sodium channel gene from susceptible and kdr-resistant German cockroaches (*Blattella germanica*) and house fly (*Musca domestica*). **Molecular Genetics Genomics**, v. 252, p. 61-68, 1996.

MONTELLA, I.R.; SCHAMA, R.; VALLE, D. The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance - A Review. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n.4, p. 437-449, Rio de Janeiro, June 2012.

MOREIRA, G.M. DERAL - Departamento de Economia Rural. **Soja – Análise da Conjuntura Agropecuária**. Novembro de 2013. Disponível em <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/soja__2013_14.pdf>, acesso em 06/07/2015, 16:03h.

MOSER, S.E.; OBRYCKI, J.J. Non-target effects of neonicotinoid seed treatments; mortality of coccinellid larvae related to zoophytophagy. **Biological Control**, v.51, p.487–492, 2009.

MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M.; GRAFIUS, E.J.; MOYER, D.D. Resistance and cross-resistance to neonicotinoid insecticides and spinosad in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Pesticide Management Science**, n.62, p.30–37,2006.

MOURÃO, A.P.M.; PANIZZI, A. Diapausa e diferentes formas sazonais em *Euschistus heros* (Fabr.) (Hemiptera: Pentatomidae) no Norte do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n.2, p.205-218, 2000.

OAKESHOTT, J.G.; PAPPENRECHT, V.; BOYCE, T.M.; HEALY, M.J.; RUSSEL, R.J. Evolutionary genetics of *Drosophila* esterases. **Genetica**, v.90, p. 239-268, 1993.

OMUTA, T.; SATO, R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. **Journal of biology and chemistry**, v.239, p. 2370-2378, 1964.

OPPENORTH, F.J.; PAS, L.J.T.; HOUX, N.W.H. Glutathione S-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos-resistant strain of house fly and their influence on resistance. **Pesticide Biochemistry. Physiology**, v. 11, p. 176, 1979.

OPPENORTH, F.J. Biochemistry and genetics of insecticide resistance. In: KERKUT, G.A.; GILBERT, L.I. **Comprehensive insect physiology, biochemistry, and pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, p.731-773, 1985.

PANIZZI, A.R. Wild hosts of pentatomids: Ecological Significance and role in their pest status on crops. **Annual Review Entomology**, v. 42, p. 99-122, 1997.

PANIZZI, A.R. Suboptimal Nutrition and Feeding Behavior os Hemipterans on Less Preferred Plant Food Sources. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v. 29, n. 1, p. 1-12, Março, 2000.

PANIZZI, A.R. Stink bugs on soybean in Northeastern Brazil and a new record on the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 2, p. 331-332, 2002.

PANIZZI, A.R. A biodiversidade vegetal no manejo de percevejos. In: CORRÊA-FERREIRA, B.S (Org.). **Soja orgânica: alternativas para o manejo dos insetos pragas**. p.47-55, Embrapa soja: Londrina,2003.

PANIZZI, A.R.; BUENO, A.F.; SILVA, F.A.C. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros arthópodes-praga**. Embrapa, Brasília, v.1, 859p., 2012.

PANIZZI, A.R.; DUO, L.J.S.; BORTOLATO, N.M.; SIQUEIRA, F. Nymph developmental time and survivorship, adult longevity, reproduction and body weight of *Dichelops melacanthus* (Dallas) feeding on natural and artificial diets. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 51, n. 4, dez. 2007.

PANIZZI, A.R.; AGOSTINETTO, A.; LUCINI, T.; SMANIOTTO, L.F.; PEREIRA, P.R.V.S. Manejo integrado dos percevejos barriga-verde, *Dichelops* spp. em trigo. **Documentos 114**, Embrapa Trigo, Passo Fundo, 36p, 2015.

PRAPANTHADARA, L.A.; KOOTTATHEP, S.; PROMTET, N.; HEMINGWAY, J.; KETTERMANTS, A.J. Purification and characterization of a major glutathione-S-transferase from the mosquito *Anopheles dirus*. **Insect Biochemistry**, v.26, p. 277-285, 1996.

QUINTELA, E.D.; SILVA, J.F.A.; FERREIRA, S.B.; OLIVEIRA, L.F.C.; LEMES, A.C.O. **Efeito do tratamento de sementes com inseticidas químicos sobre danos de percevejos fitófagos e sobre a lagarta do cartucho no milho**. Circular Técnica, n. 76, 6p., 2006.

RAFFA, K.F.; PRIESTER, T.M. Synergists as research tools and control agents in agriculture. **Journal of Agricultural Entomology**, v. 2, p. 27-45, 1985.

RAGA, A.; SILOTO, R.C.; SATO, M.E. Efeito de inseticidas sobre o percevejo castanho *Scaptocoris castanea* (Hem.: Cydnidae) na cultura algodoeira. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, p.93-97, 2000.

RANSON, H.; HEMINGWAY, J. Mosquito glutathione transferases. **Methods Enzymology Journal**, v.401, p.226-241, 2005.

REIDY, G.F.; ROSE, H.A.; VISETSON, S.; MURRAY, M. Increased glutathione S-transferase activity and glutathione content in an insecticide-resistant strain of *Tribolium castaneum* (Herbst). **Pesticide Biochemistry Physiology**, v.36, p. 269-276, 1990.

RIBEIRO, B.M.; GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, E.E.; SANTOS, J.P. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.39, p. 21-31, 2003.

ROESSING, A.C.; LAZZAROTTO, J.J. **Criação de empregos pelo complexo agroindustrial da soja**. Documentos, 233. Embrapa – Soja, 50p, Londrina, 2004.

ROMERO, A.A.; POTTER, M.F.; HAYNES, K.F. Evaluation of piperonyl butoxide as a deltamethrin synergist for pyrethroid-resistant bed bugs. **Journal Economic Entomology**, v.102, n.6, p. 2310- 2315, 2009.

ROZA-GOMES, M.F.; SALVADORI, J.R.; PEREIRA, P.R.V.S.; PANIZZI, A.R. Injuries of four species of stink bugs to corn seedlings. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.7, p.1115-1119, jul, 2011.

SAYYED, A.H.; WRIGHT, D.J. Genetics and evidence for an esterase-associated mechanism of resistance to indoxacarb in a field population of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Pesticide Management Science**, v. 62, p. 1045-1051, 2006.

SCOTT, J.G. Cytochromes P450 and insecticide resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.29, n.9, p. 757-777, 1999.

SEAB – Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. **Agrotóxicos no Paraná.** Disponível em <http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp>, acesso em 13/10/2016, 13:36h.

SILVA, L.D.; OMOTO, C.; BLEICHER, E.; DOURADO, P.M. Monitoramento de suscetibilidade a inseticidas em populações de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) no Brasil. **Neotropical Entomology**, v.38, n.1, p.116-125, 2009.

SILVA, W.M.; BERGER, M.; BASS, C.; BALBINO, V.Q.; AMARAL, M.H.P.; CAMPOS, M.R.; SIQUEIRA, H.A.A. Status of pyrethroids resistance and mechanisms in Brazilian populations of *Tuta absoluta*, **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.122, p.8-14, 2015.

SIMON-DELISO, N., AMARAL-ROGERS, V., BELZUNCES, L. P., BONMATIN, J. M., CHAGNON, M., DOWNS, C. ... WIEMERS, M. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. **Environmental Science and Pollution Research International**, v.22, p.5–34, 2015.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; MOSCARDI, F. Retenção foliar diferencial em soja provocada por percevejos (Heteroptera: pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.24, p. 401-404, 1995.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORSO, I.C.; MORALES, L. Insecticide resistance to endosulfan, monocrotophos and metamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 317-320, Londrina, jun. 2001.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; SILVA, J.J. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.45, n.7, p.767-769, Brasília, jul. 2010.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; OMOTO, C. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associado à cultura da soja. In: HOFFMANN –CAMPO, C.B., CORRÊA-FERREIRA, B.S., MOSCARDI, F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes**. 859p. Embrapa, 2012.

SUJII, E.R.; COSTA, M.L.M.; PIRES, C.S.S.; COLAZZA, S.; BORGES, M. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean bug complex. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1541-1549, 2002.

TERRIERE, L.C. Induction of detoxification enzymes in insects. **Annual Review Entomology**, v.29, p.71-88, 1984.

USDA – United States Department of Agriculture. **World agricultural supply and demand estimates (Wasde)**, May 10, 2016. Disponível em <<http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>>, acesso em 24/05/2016, 09:02h.

USMANI, K.A.; KNOWLES, C.O. Pharmacokinetic mechanisms associated with synergism by DEF of cypermethrin toxicity in larval and adult *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda*, and *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 4, p. 874-883, 2001.

VAIS, H.; WILLIAMSON, M.S.; GOODSON, S.J.; DEVONSHIRE, A.L.; WARMKE, J.K.; USHERWOOD, P.N.; COHEN, C.J. Activation of *Drosophila* sodium channels promotes modification by deltamethrin. Reductions in affinity caused by knock-down resistance mutations. **Journal of General Physiology**, v. 115, n. 3, p. 305-318, 2000.

ZHANG, M.; SCOTT, J.G. Purification and characterization of cytochrome b5 reductase from the house fly, *Musca domestica*. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.113B, p.175-183, 1996.

ZHU, Y.C.; WEST, S.; SNODGRASS, G.; LUTTRELL, R. Variability in resistance related enzyme activities in field populations of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 99, p. 265-273, 2011.

WICKRAMASINGHE, R.H.; VILLEE, C.A. Earh role during chenal evolution for cytochrome P-450 in oxygen detoxification. **Nature**, v.256, n.7, p.509-511, 1975.

WILKINSON, C.F.; BRATTSTEN, L.B. Microsomal drug-metabolizing enzymes in insects. **Drug Metabolism Reviews**, v.1, p. 153-227, 1972.

WILLIAMSON, M.S.; MARTINEZ-TORRES, D.; HICK, C.A.; DEVONSHIRE, A.L. Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knock down resistance (*kdr*) to pyrethroid insecticides. **Molecular Genects Genomics**, v. 252, p. 51-60, 1996.

WOOD, O.R; HANRAHAN, S.; COETZEE, M.; KOEKEMOER, L.L.; BROOKE, B.D. Cuticle thickening associated with pyrethroid resistance in the major malaria vector *Anopheles funestus*. **Parasite and Vectors**, v.3, p. 67, London, 2010.

YAMAMOTO, I.; YABUTA, G.; TOMIZAWA, M.; SAITO, T.; MIYAMOTO, T.; KAGABU, S. Molecular mechanism for selective toxicity of nicotinoids and neonicotinoids. **Journal of Pesticide Science**, v.20, p.33-40, Tokyo 1995.

YU, S.J.; NGUYEN, N. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the diamondback moth. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 44, p. 74–81, 1992.

YU, S.J.; HSU, E.L. Induction of detoxification enzymes in phytophagous Insects: roles of insecticide synergists, larval age, and species. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v.24, p. 21-32, 1993.