

Bioassay

Linha Básica de Suscetibilidade de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) a Benzoato de Emamectina

Naiara R. Nunes¹, Fátima T. Rampelloti Ferreira¹, Leonardo V. Thiesen², Janaina N. Corassa¹, Rafael M. Pitta³

¹ Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop-MT, Brasil. ² Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP, Brasil. ³ Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop-MT, Brasil.

✉ Corresponding author: rafael.pitta@embrapa.br

Edited by: Leandro Delalibera Geremias

Received: December 06, 2019. Accepted: December 12, 2019. Published: December 17, 2019.

Baseline susceptibility of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) to Emamectin Benzoate

Abstract. Emamectin Benzoate was registered recently in Brazil to control *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) in soybean. We studied the baseline susceptibility of Mato Grosso populations of *C. includens* to support Insect Resistance Management programs by standard feeding assays on insecticide-surface of artificial diet. Variation in susceptibility between populations was low. The LC₅₀ values from 11 populations varied between 0.015 a 0.065 µg i.a. cm⁻². Based on our results, we propose the discriminant concentration of 2.867 µg i.a. cm⁻² of emamectin benzoate to monitor insecticide resistance in *C. includens*.

Keywords: Resistance management, monitoring, avermectin, soybean looper.

Chrysodeixis includens (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta-falsa-medideira é um dos principais lepidópteros praga em cultivos de soja, algodão, feijão e girassol no Brasil (Carvalho et al. 2012, Guedes et al. 2015). Devido à sua polifagia (Specht et al. 2015), essa espécie pode se desenvolver, simultaneamente, em diferentes plantas hospedeiras.

O controle de *C. includens* é realizado, principalmente, pelo uso de inseticidas químicos e cultivares transgênicas de soja e algodão que expressam proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911). Contudo, no estado de Mato Grosso são cultivados cerca de 60,5 mil hectares de girassol, 56,6 mil hectares de feijão e 220 mil hectares de feijão caupi (Conab 2019), além de pelo menos 3,5 milhões de hectares de cultivares não *Bt* de soja cultivados como área de refúgio estruturado por ser uma estratégia essencial de manejo da resistência de lagartas as proteínas *Bt* (IRAC-BR 2018). Nessas áreas o controle de *C. includens* é feito principalmente com aplicação de inseticidas químicos.

Casos de resistência de *C. includens* a inseticidas são documentados na literatura aos ingredientes ativos acetato, BHC, DDT, cipermetrina, deltametrina, permetrina, teflutrina, fenvalerato, metomil, paratiom metílico, tiodicarbe e flubendiamida (Owen 2013, IRAC 2019) e baixa suscetibilidade a lambda-cialotrina, teflubenzuron e novaluron (Stacke et al. 2019).

Benzoato de emamectina foi recentemente registrado para o controle de *C. includens*. Este inseticida pertence ao grupo químico das avermectinas enquadrado ao modo de ação 6 (MoA 6) (IRAC 2019). Sua atuação ocorre nos receptores do GABA (ácido gama aminobutírico), induzindo o fluxo de cloro para o interior da célula que resulta na ruptura dos impulsos nervosos paralisando o inseto irreversivelmente e, desse modo, cessando atividade alimentar. Sua atuação se dá por contato e ingestão, sendo a ingestão considerada a principal via de intoxicação (Jansson & Dybas 1996).

Considerando que o benzoato de emamectina é registrado para *C. includens* nas culturas do feijão e soja, é estratégico o conhecimento dos níveis de suscetibilidade de populações dessa espécie a esse

ingrediente ativo. Portanto, objetivou-se nesse estudo estabelecer a linha de suscetibilidade de populações de *C. includens* a esse inseticida e estimar uma concentração diagnóstica para avaliar a evolução da resistência em futuros monitoramentos.

Para a caracterização da suscetibilidade de *C. includens* a benzoato de emamectina, 10 populações de *C. includens* foram coletadas em importantes regiões produtoras de soja do estado de Mato Grosso na safra agrícola de 2017/2018 (Tab. 1). Em cada local foram coletadas, aproximadamente, 150 lagartas padronizadas por tamanho para a constituição das populações. Além das populações de campo foi avaliada uma população criada em laboratório, em condições controladas, sem exposição a inseticidas, proteínas *Bt* e produtos à base de microrganismos por gerações sucessivas desde 2014.

Tabela 1. Identificação, localização e data de coleta de populações de *Chrysodeixis includens* em Mato Grosso para caracterizar a suscetibilidade a benzoato de emamectina.

População	Data da Coleta	Nº de indivíduos coletados	Latitude	Longitude
Água Boa	17/01/2018	215	14°00'21"	52°09'01"
Campo Verde	18/01/2018	129	15°31'30"	55°18'02"
Canarana	16/01/2018	213	14°45'40"	52°21'36"
Cláudia	23/01/2018	227	11°38'40"	54°35'50"
Dom Aquino	18/01/2018	155	15°30'19"	54°38'36"
Lucas do Rio Verde	20/01/2018	133	13°14'95"	56°04'87"
Nova Mutum	12/01/2018	163	13°41'43"	55°57'19"
Nova Xavantina	17/01/2018	180	12°46'34"	52°01'14"
Ribeirão Cascalheira	16/01/2018	180	12°46'34"	52°01'14"
União do Sul	10/01/2018	128	11°28'47"	54°04'20"

Para criação das populações, as lagartas foram mantidas em dieta artificial até atingirem a fase de pupa (Parra 2001). Os adultos foram

mantidos em gaiolas de PVC de 20x25 cm (diâmetro x altura) revestida internamente com papel A4 para oviposição e cobertas por tecido *voil*. Solução aquosa de sacarose 10% foi fornecida para alimentação dos adultos. Os papéis contendo os ovos foram substituídos a cada dois dias, e os ovos foram mantidos em sala climatizada (temperatura de 24±2 °C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14 h) até a eclosão das lagartas para o início de um novo ciclo de criação ou a realização dos bioensaios.

Os bioensaios foram realizados utilizando o método de contaminação da superfície da dieta artificial com inseticida. Foram utilizadas placas plásticas (Costar®, Cambridge, Massachusetts, EUA, 24 células com área interna de cada célula igual a 1,91 cm²), contendo 1,5 mL de dieta artificial.

Para estabelecimento das concentrações letais para 50% (CL₅₀) e 99% (CL₉₉) dos indivíduos, realizou-se um bioensaio de curva resposta utilizando a população de laboratório como padrão e 7 concentrações (0,0061, 0,0123, 0,0245, 0,0491, 0,0982, 0,1963 e 0,3927 µg i.a. cm²) para CL₉₉. O produto utilizado foi Proclaim® 50 WG WG; Syngenta Lote YGM3D14005(D).

A fim de estimar uma concentração diagnóstica para futuros monitoramentos, foram analisadas as CL₉₉ para as 11 populações conforme proposto por Bird et al. (2019).

Para o preparo das concentrações, o inseticida foi diluído em água ultrapura com adição de espalhante adesivo Break-thru® na concentração de 0,1% (v/v) e, para o tratamento controle utilizou-se apenas água mais espalhante adesivo a 0,1% (v/v).

Com auxílio de um dispensador automático (Eppendorf Multipette® M4) foi transferido 20 µL da solução inseticida com as concentrações testadas para cada célula da placa. As placas foram mantidas em câmaras de fluxo laminar por aproximadamente uma hora até a evaporação do excesso de água. Logo após, uma lagarta em 3º instar foi transferida para cada célula com o auxílio de um pincel e as placas foram mantidas em câmara climatizada (24±2 °C, umidade relativa de 70±10% e de 14 horas de fotofase) por 24 horas. Após esse período foi avaliada a mortalidade, sendo consideradas mortas às lagartas que não apresentavam movimentos coordenados quando tocadas com um pincel fino.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com nove repetições de 24 lagartas cada, sendo testadas 216 lagartas por concentração. Os dados de mortalidade obtidos para as populações foram submetidos a análise de Probit através do programa Polo-PC (LeOra Software 1987) o qual apresentou os valores das concentrações letais para 50 e 99% (CL₅₀ e CL₉₉) e seus respectivos intervalos de confiança (I.C. 95%).

Todas as populações de *C. includens* coletadas em campo apresentaram elevada suscetibilidade ao benzoato de emamectina, inclusive com valores de CL₅₀ inferiores a população de laboratório. Para as dez populações de *C. includens* provenientes do campo as CL₅₀

variaram de 0,015 a 0,065 µg i.a. cm² e as CL₉₉ variaram de 0,285 a 2,867 µg i.a. cm². A CL₅₀ da população de laboratório foi 0,049 µg i.a. cm² e para CL₉₉ igual a 0,405 µg i.a. cm² (Tab. 2).

Para as populações de campo houve uma variação na CL₅₀ de 0,02 a 0,06 µg i.a. cm², sendo os valores estimados para Canarana, Cláudia, Nova Mutum e União do Sul de 0,02 µg i.a. cm² e os maiores para Nova Xavantina e Campo Verde de 0,06 µg i.a. cm². Para CL₉₉ a variação foi de 0,28 a 2,8 µg i.a. cm², sendo 0,28 µg i.a. cm² para o valor de CL₉₉ obtido para Canarana e 2,8 µg i.a. cm² para Lucas do Rio Verde.

As populações testadas apresentaram coeficientes angulares variando de 1,22 a 2,77, sendo o menor coeficiente angular (1,22) obtido para a população de Lucas do Rio Verde e o maior valor (2,77) para a população de Nova Xavantina. Entretanto, a razão de resistência entre as populações testadas, foram inferiores a 2 para a CL₅₀ e 7 para a CL₉₉, indicando que as populações de *C. includens* avaliadas podem ser consideradas como suscetíveis a benzoato de emamectina (Tab. 2).

Stacke et al. (2019) também observaram baixas variações na suscetibilidade de populações de campo de *C. includens* aos inseticidas espinetoram, indoxicarbe, tiodicarbe, clorantraniliprole, flubendiamida e clorfenapir. Entretanto, esses autores constataram baixa suscetibilidade aos inseticidas lambda-cialotrina, metoxifenizide, teflubenzuron e novalurum. O uso preventivo de inseticidas para o controle de pragas pode estar relacionado a essas baixas taxas de suscetibilidade, pois essa estratégia de controle intensifica a pressão de seleção de indivíduos resistentes. Além disso, variações de suscetibilidade entre as populações podem estar associadas a vários fatores como diversidade genética intraespecífica natural, ambientes geográficos distintos, variedades de plantas hospedeiras, métodos de bioensaios, geração testada, tempo de exposição, dietas artificiais, práticas de manejo e fluxo gênico (Zheng et al. 2011, Palma et al. 2015). De acordo com Carriere (2010), mesmo uma pequena variação na suscetibilidade é uma indicação do potencial de seleção da resistência à medida que os insetos se adaptam ao inseticida.

O sistema agrícola de produção em Mato Grosso gera uma exposição repetida de *C. includens* aos inseticidas (incluindo benzoato de emamectina) utilizados no manejo de lepidópteros praga nas culturas de soja, algodão, feijão e girassol que são hospedeiros preferenciais desta desfolhadora (Andrade et al. 2016). Para otimizar o uso desse inseticida no manejo de *C. includens* é necessário estabelecer práticas de rotação com inseticidas de diferentes modos de ação em populações da praga que apresentem baixas razões de resistência, bem como avaliar a adoção de práticas eficientes do manejo integrado de pragas. O uso de plantas *Bt* (Bernardi et al. 2012), inseticidas a base baculovírus ChinNPV (Muraro et al. 2019) e parasitoides de ovos (Bueno et al. 2009), juntamente ao uso de outros inseticidas químicos podem contribuir para retardar a evolução da resistência.

Considerando que o manejo da resistência é mais efetivo quando implementado de modo preventivo, ou seja, no início da evolução da

Tabela 2. Resposta de concentração-mortalidade (CL; µg i.a. cm²) de *C. includens* exposta a benzoato de emamectina.

População	n	Coef. Angular (± EPM)	g.l ^c	χ ^b	CL ₅₀ ^a (I.C. 95% µg cm ²)	CL ₉₉ ^a (I.C. 95%) ^a µg cm ²
População laboratório	1080	2,540 (±0,149)	4	4,22	0,049 (0,042 - 0,058)	0,405 (0,269 - 0,761)
Água Boa	1080	1,873 (±0,138)	5	7,41	0,028 (0,016 - 0,038)	0,484 (0,257 - 1,811)
Campo Verde	1080	2,409 (±0,144)	5	1,81	0,055 (0,050 - 0,061)	0,511 (0,400 - 0,694)
Canarana	1080	1,834 (±0,184)	5	3,86	0,015 (0,007 - 0,022)	0,285 (0,174 - 0,786)
Cláudia	1102	1,941 (±0,147)	5	0,29	0,022 (0,019 - 0,025)	0,344 (0,254 - 0,513)
Dom Aquino	1520	2,140 (±0,107)	5	2,87	0,029 (0,027 - 0,031)	0,354 (0,286 - 0,458)
Lucas do Rio Verde	1080	1,218 (±0,102)	3	4,89	0,035 (0,023 - 0,049)	2,867 (0,982 - 24,169)
Nova Mutum	1080	1,449 (±0,124)	5	11,2	0,015 (0,004 - 0,026)	0,618 (0,233 - 12,387)
Nova Xavantina	1080	2,772 (±0,204)	5	7,9	0,065 (0,048 - 0,083)	0,448 (0,262 - 1,402)
Ribeirão Cascalheira	1080	2,241 (±0,127)	5	16,02	0,047 (0,029 - 0,069)	0,395 (0,314 - 0,537)
União do Sul	1081	1,800 (±0,121)	5	2,48	0,016 (0,013 - 0,018)	0,309 (0,232 - 0,446)

^aCL₅₀: concentração de benzoato de emamectina necessária para matar 50% dos indivíduos durante o período observado de 24h. Similarmente, CL₉₉ é a concentração necessária para matar 99% dos indivíduos. ^bTeste de qui-quadrado. P < 0,05. ^c Graus de liberdade

resistência (Roush & McKenzie 1987) e o fato das populações de *C. includens* avaliadas neste trabalho apresentarem alta suscetibilidade ao benzoato de emamectina é essencial o monitoramento contínuo da suscetibilidade, para poder identificar a evolução da resistência ao longo dos anos, de preferência de forma rápida, precisa, prática e compatível para uso em grande escala como o método de concentração diagnóstica (Onstad 2014).

Baseados em nossos resultados, sugerimos que seja utilizado a concentração de 2,867 µg i.a. cm² de benzoato de emamectina para discriminar entre *C. includens* resistentes e suscetíveis.

Contribuição dos Autores

NRN: conduziu os ensaios e escreveu o manuscrito; FTRF conduziu os ensaios, definiu o método experimental e escreveu o manuscrito; LVT conduziu os ensaios e analisou os resultados; JDNC escreveu o manuscrito; RMP elaborou a hipótese do trabalho, coletou as populações, definiu o método experimental e escreveu o manuscrito.

Referências

- Andrade, K.; Bueno, A. D. F.; da Silva, D. M.; Stecca, C. D. S.; Pasini, A.; Oliveira, M. C. N. de. (2016). Bioecological characteristics of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts. *Australian Entomology*, 55(4): 449-454. doi: 10.1111/aen.12208
- Bernardi, O.; Malvestiti, G. S.; Dourado, P. M.; Oliveira, W. S.; Martinelli, S.; Berger, G. U.; Head, G. P.; Omoto, C. (2012). Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 8777701 x MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pest Management Science*, 68(7): 1083-1091. doi: 10.1002/ps.3271
- Bird, L. J.; Walker, P. W. (2019). Baseline Susceptibility of *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to indoxacarb, emamectin benzoate, and chlorantraniliprole. *Journal of Economic Entomology*, 112(2): 818-826. doi: 10.1093/jee/toy389
- Bueno, R. C. O. F.; Parra, J. R. P.; Bueno, A. F.; Haddad, M. (2009). Performance of trichogrammatids as biocontrol agents of *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical Entomology*, 38(3): 389-394. doi: 10.1590/S1519-566X2009000300015
- Carriere, Y.; Crowder, D. W.; Tabashnik, B. E. (2010). Evolutionary ecology of insect adaptation to Bt crops. *Evolutionary Applications*, 3(5-6): 561-573. doi: 10.1111/j.1752-4571.2010.00129.x
- Carvalho, L. C.; Ferreira, F. M.; Bueno, N. M. (2012). Importância econômica e generalidades para o controle da lagarta-falsa-medideira na cultura da soja. *Enciclopédia Biosfera*, 8(15): 1021-1034.
- Conab - Campanha nacional do Abastecimento. (2018). Acompanhamento da safra brasileira de grãos, Safra 2018/19 - Segundo levantamento. <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra/gaos/boletim-da-safra-de-graos>>. Access em: ix.2018.
- Guedes, J. V. C.; Perini, C. R.; Stacke, R. F.; Curioletti, L. E.; Arnemann, J. A.; Alende, V. P. (2015). Lagartas da soja: das lições do passado ao manejo do futuro. *Revista Plantio Direto*, 24(144): 10-22.
- IRAC - Arthropod Pesticide Resistance Database. (2019). <<https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=248>>. Access on: xi.2019.
- IRAC-BR, Comitê Brasileiro de Ação à Resistência de Inseticidas. (2018). Manejo da Resistência a Inseticidas e Plantas Bt. <<https://www.irc-br.org>>. Access on: viii.2019.
- Jansson, J. A.; Dybas, R. A. (1996). Avermectins, biochemical mode of action, biological activity, and agricultural importance. In: Ishaaya, I. (Ed.), *Insecticides with Novel Modes of Action: Mechanism and Application*, pp. 152-170. Springer: New York.
- LeOra Software (2002). Polo-plus Probit and logit analysis computer version 1.0. LeOra Software, Berkeley, CA.
- Muraro, D. S.; Giacomelli, T.; Stacke, R. F.; Godoy, D. N.; Marçon, P. Popham, H. J. R.; Bernardi, O. (2019). Baseline susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to *C. includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) and diagnostic concentration for resistance monitoring. *Journal of Economic Entomology*, 112(1): 349-354. doi: 10.1093/jee/toy361
- Onstand, D. W.; Gassman, A. J. (2014). Concepts and complexities of population genetics. In: Onstand, D. W. (Ed.), *Insect Resistance Management*, pp 149-177. Elsevier: Amsterdam.
- Owen, N. L.; Catchot, A. L.; Musser, F. R.; Gore, J.; Cook, D. C.; Jackson, R. (2013). Susceptibility of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to Reduced-Risk Insecticides. *Florida Entomologist*, 96(2): 554-559. doi: 10.1653/024.096.0221
- Palma, J.; Maebe, K.; Guedes, J. V. C.; Smaghe, G. (2015). Molecular variability and genetic structure of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), an important soybean defoliator in Brazil. *PLoS One*, 10: 1-13. doi: 10.1371/journal.pone.0121260
- Parra, J. R. P. (2001). *Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico*. Piracicaba: ESALQ/FEALQ.
- Roush, R. T.; McKenzie, J. A. (1987). Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annual Review of Entomology*, Stanford, 32(1): 361-380. doi: 10.1146/annurev.en.32.010187.002045
- Specht, A.; Paula-Moraes, S. V. DE; Sosa-Gómez, D. R. (2015). Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plutiniinae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 59(4): 343-345. doi: 10.1016/j.rbe.2015.09.002
- Stacke, R. F.; Giacomelli, T.; Bronzatto, E. S.; Halberstadt, S. A.; Garlet, C. G.; Muraro, D. S.; Guedes, J. V. C.; Bernardi, O. (2019). Susceptibility of Brazilian Populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to Selected Insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 112(3): 1378-1387. doi: 10.1093/jee/toz031
- Zheng, X. S.; Ren, X. B.; Su, J. Y. (2011). Insecticide Susceptibility of *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in China. *Journal of Economic Entomology*, 104(2): 653-658. doi: 10.1603/EC10419