

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

SUSCETIBILIDADE DE *Euschistus heros* (HEMIPTERA:  
PENTATOMIDAE) A INSETICIDAS UTILIZADOS NA  
CULTURA DA SOJA

Autora: Jéssica Santana Borges  
Orientadora: Dra. Agna Rita dos Santos Rodrigues  
Orientador: Dr. Althieris de Souza Saraiva

**RIO VERDE- GO**  
Fevereiro 2019

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – IF GOIANO - CAMPUS RIO VERDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA**

**SUSCETIBILIDADE DE *Euschistus heros* (HEMIPTERA:  
PENTATOMIDAE) A INSETICIDAS UTILIZADOS NA  
CULTURA DA SOJA**

Autora: Jéssica Santana Borges  
Orientadora: Dra. Agna Rita dos Santos Rodrigues  
Orientador: Dr. Althieris de Souza Saraiva

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de concentração Agroquímica

**RIO VERDE-GO**  
Fevereiro 2019

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

B732s BORGES, JÉSSICA SANTANA  
SUSCETIBILIDADE DE *Euschistus heros* (HEMIPTERA:  
PENTATOMIDAE) A INSETICIDAS UTILIZADOS NA CULTURA DA  
SOJA / JÉSSICA SANTANA BORGES; orientadora AGNA RITA  
DOS SANTOS RODRIGUES. -- Rio Verde, 2019.  
62 p.

Dissertação (Mestrado em Mestrado em Agroquímica) --  
Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2019.

1. percevejo marrom. 2. atividade enzimática . 3.  
resistência a inseticidas. I. RODRIGUES, AGNA RITA  
DOS SANTOS, orient. II. Título.

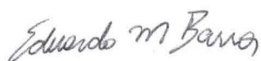
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

**SUSCETIBILIDADE DE *Euschistus heros*  
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) A INSETICIDAS  
UTILIZADOS NA CULTURA DA SOJA**

Autora: Jéssica Santana Borges  
Orientadores: Althieris de Souza Saraiva  
Aagna Rita dos Santos Rodrigues

*TITULAÇÃO*: Mestre em Agroquímica – Área de concentração  
Agroquímica.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2019.



Prof. Dr. Eduardo Moreira Barros  
*Avaliador externo*  
Instituto Goiano de Agricultura



Prof. Dr. Eugênio Miranda  
Sperandio  
*Avaliador externo*  
IF Goiano/RV



Prof. Dr. Fábio Henrique Dyszy  
*Avaliador interno*  
IF Goiano/RV



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Aagna Rita dos Santos  
Rodrigues  
*Presidente da banca*  
IF Goiano/Polo de Inovação

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Paulo Cesar Rocha Borges e Genivalda Ferreira Santana, por todo apoio, incentivo, toda educação e criação, além de todo amor. Todo sacrifício para me incentivar e não me deixar desistir para chegar até aqui. Por tudo, até mesmo o colo quando mais precisei e nunca me abandonaram.

A minha avó Eunides Rocha Borges, por todo amor e incentivo. Por cuidar tão bem de mim, por toda preocupação, por todas orações dedicadas a mim, por todo carinho e atenção.

À Josefina Rocha Borges minha tia, que nunca mediu esforços para me ajudar, por toda atenção, todo carinho e amor. Por todo incentivo nessa longa jornada de estudos.

Aos meus irmãos Dener Santana Borges, Paulo Cesar Macedo Borges e Vitória Macedo Borges, por todo amor, todas alegrias que são motivos para nunca desanimar, e de alguma forma incentiva a estudar também.

Amo vocês!

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por nunca me abandonar, mesmo com todas dificuldades me deu forças para prosseguir. Aos meus amigos e familiares que de alguma forma me incentivaram e apoiaram.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano e ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica (PPGAq), pela oportunidade da realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento do trabalho.

A minha orientadora, professora Dr.<sup>a</sup> Agna Rita dos Santos Rodrigues, por todo ensino, dedicação. Até mesmo, por ser além de orientadora, uma amiga e conselheira. Obrigada por tudo, pela paciência e todo aprendizado adquirido com você. Saiba que tenho enorme admiração por sua pessoa e orgulho por ter sido sua aluna em várias disciplinas.

Aos amigos que fiz no laboratório de Entomologia, Ana Cláudia, Bruna, Corina, Geovana, Horácio, Isabela, Larissa, Natasha, Oscar, Paula Cristina e Samylla, pelas alegrias que tornaram todo o trabalho mais fácil e divertido. Obrigada por todas ajudas, pelas conversas, risadas, brincadeiras e toda amizade, saiba que sempre serei grata a vocês.

Ao pessoal do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal: professor Dr. Alan Carlos Costa e Adinan, pelo uso dos equipamentos e algumas matérias dados para a realização de alguns experimentos.

A COMIGO, em especial a pesquisadora Simone e estagiários, pela ajuda na coleta dos insetos.

A EMATER e à Pesquisadora Simone Borges Ferreira, por toda ajuda e auxílios nas coletas.

A Embrapa Arroz e Feijão e ao Dr. Edson Hirose, pela concessão de população de percevejo marrom. Ao Higor e Gislaine do Laboratório, por ensinar técnicas de criação da espécie estudada.

Aos professores que de alguma forma contribuíram diretamente ou indiretamente, apoiando e incentivando quando pensei em cursar a Pós-graduação. De forma especial, ao professor Dr. Fábio Henrique Dyszy, que contribuiu para meu aprendizado, desde a graduação, bem como a professora Dr.<sup>a</sup> Valdneá Casagrande Dalvi, por todo auxílio, apoio e me acompanhar no estágio em docência.

Aos servidores da secretaria do Programa de Pós-graduação em Agroquímica por todo auxílio, informação dada.

## **BIOGRAFIA DA AUTORA**

Jéssica Santana Borges, filha de Genivalda Ferreira Santana e Paulo Cesar Rocha Borges, nasceu em Rio Verde no estado de Goiás, no dia 14 de março de 1993.

No ano de 2011, foi aprovada no vestibular no curso de Licenciatura de Ciências Biológicas, no Instituto Federal Goiano na unidade de Rio Verde – GO. No início do ano de 2016, iniciou no curso técnico em Alimentos nesta Instituição, tendo concluído no segundo semestre do ano de 2017. Também em 2017, no mês de fevereiro, ingressou no Programa de Pós-graduação em Agroquímica pela mesma Instituição, em nível de mestrado, submetendo-se à defesa de dissertação, requisito indispensável para a obtenção do título de mestre, em fevereiro de 2019.



## ÍNDICE GERAL

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	x
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	xii
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUÇÃO .....	5
1.1. A cultura da soja.....	7
1.2. Inseto praga: <i>Euschistus heros</i> .....	9
1.3. Inseticidas sintéticos para controle de pragas .....	11
1.4. Resistência a inseticidas .....	13
1.5. Percevejo marrom e resistência a inseticidas .....	14
1.6. Referências bibliográficas .....	16
2. OBJETIVOS .....	21
2.1. Objetivo Geral.....	21
2.2. Objetivos Específicos.....	21
3. CAPÍTULO I.....	22
SUSCETIBILIDADE DE <i>Euschistus heros</i> (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) A INSETICIDAS UTILIZADOS NA CULTURA DA SOJA.....	22

3.1. INTRODUÇÃO .....	25
3.2. MATERIAL E MÉTODOS .....	27
3.2.1. Inseticidas e reagentes utilizados .....	27
3.2.2. Coleta de insetos. ....	27
3.2.3. Criação dos insetos.....	28
3.2.4. Bioensaios com dosagem recomendada.....	29
3.2.5. Bioensaios de suscetibilidade do percevejo marrom a inseticidas formulados.	31
3.2.6. Avaliação prévia da destoxificação metabólica de inseticidas. ....	32
3.2.7. Extração das enzimas para ensaios <i>in vitro</i> .....	33
3.2.8. Ensaios <i>in vitro</i> de carboxilesterase do tipo B e Glutathione-S-Transferase.....	34
3.3. RESULTADOS .....	35
3.3.1. Bioensaios com dosagem recomendada de inseticidas formulados.....	35
3.3.2. Bioensaios de suscetibilidade do percevejo marrom a inseticidas formulados.	36
3.3.3. Avaliação prévia da destoxificação metabólica de inseticidas .....	37
3.3.4. Ensaios <i>in vitro</i> de carboxilesterase do tipo B e Glutathione-S-Transferase .....	38
3.4. DISCUSSÃO .....	38
3.5. Referências bibliográficas .....	42
4. CONCLUSÃO GERAL .....	62

## ÍNDICE DE TABELAS

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1:</b> Inseticidas registrados para o controle de <i>Euschistus heros</i> na cultura de soja no Brasil. Nota: i.a., ingrediente ativo. ....	46
<b>Tabela 2:</b> Descrição das localidades e coordenadas geográficas onde foram coletadas as populações de <i>Euschistus heros</i> nos plantios de soja. Nota: População obtida na Embrapa Arroz e Feijão. ....	47
<b>Tabela 3:</b> Resultados do SAS para os efeitos das fontes principais de variação para a mortalidade após 96h de exposição. Nota: GL, grau de liberdade. ....	48
<b>Tabela 4:</b> Médias de mortalidade ( $\pm$ EP) de <i>Euschistus heros</i> a formulações de inseticidas recomendados na cultura da soja no Brasil. ....	49
<b>Tabela 5:</b> Parâmetros das curvas de concentração-mortalidade estimados para a população Eh-1 de <i>Euschistus heros</i> após 96h de exposição aos inseticidas. Nota = n, Número de adultos; GL, graus de liberdade; EP, erro padrão; CL, concentração letal em g de i.a. /mL; e $\chi^2$ , qui-quadrado. ....	50
<b>Tabela 6:</b> Parâmetros das curvas de concentração-mortalidade para população Eh-2 de <i>Euschistus heros</i> . Nota = n, Número de adultos; GL, graus de liberdade; EP, erro padrão; CL, concentração letal em mg de i.a. /mL; e $\chi^2$ , qui-quadrado. ....	51
<b>Tabela 7:</b> Parâmetros das curvas de concentração-mortalidade estimados para a população Eh-6 de <i>Euschistus heros</i> após 96h de exposição aos inseticidas. Nota = n,	

Número de adultos; GL, graus de liberdade; EP, erro padrão; CL, concentração letal em g de i.a. /mL; e  $\chi^2$ , qui-quadrado..... 52

**Tabela 8:** Médias ( $\pm$  EP) da mortalidade de adultos da população Eh-1 de *Euschistus heros* às dosagens recomendadas das formulações contendo inseticidas piretroides quando previamente tratados ou não com S, S, S-tributiltrifosforotritioato (DEF) após 48 e 96h de exposição..... 53

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Ciclo de desenvolvimento de *Euschistus heros* e duração (em dias) das fases de ovo, ninfa e adulto, quando submetidos a 25°C (PANIZZI et al., 2012). ..... 10
- Figura 2:** Coleta manual de ovos, ninfas e adultos de *Euschistus heros* (esquerda) e detalhe do pano de batida (direita) em plantio de soja localizado no município de Rio Verde – GO..... 564
- Figura 3:** Gaiolas de criação de adultos (A), vista superior com detalhe da tampa (B), interior da gaiola (C) e placa de Petri com ovos (D) de *Euschistus heros* do Laboratório de Entomologia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.....55
- Figura 4:** Caixas de criação de ninfas (A), vista superior com detalhe da tampa (B), ninfa de primeiro instar no quiabo (C), interior da caixa com ninfas e adultos (D) de *Euschistus heros* do Laboratório de Entomologia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. .... **Erro! Indicador não definido.**6
- Figura 5:** Extração de enzimas de *Euschistus heros* para a realização dos ensaios *in vitro*. Adultos do percevejo marrom após 10 min no freezer (A), tubos de vidro contendo solução tampão e insetos (B), tubo de vidro contendo percevejos homogeneizados em tampão (C); tubo eppendorf® contendo a amostra de enzimas após a centrifugação (D) e tubo eppendorf® contendo o sobrenadante (E). ..... 577
- Figura 6:** Médias de mortalidade ( $\pm$  EP) das populações de *Euschistus heros*, independente das formulações de inseticidas recomendados na cultura da soja no Brasil.....58
- Figura 7:** Médias de mortalidade (+ EP) ocasionadas por sete formulações de inseticidas registradas para controle de *Euschistus heros* na cultura da soja. .... 59

**Figura 8:** Concentração letal ( $CL_{80}$ ) das populações de *Euschistus heros* e nove formulações de inseticidas registradas para controle desta espécie na cultura da soja. Nota: linha pontilhada corresponde a dosagem recomendada de cada formulação. .... 600

**Figura 9:** Médias (+EP) da atividade enzimática ( $\mu\text{M}/\mu\text{g}$  de proteína/min) de Carboxilesterase do tipo B (A) e Glutathione-S-transferase (B) para as populações de *Euschistus heros*. Os substratos utilizados foram  $\beta$ -naftil acetato e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB), respectivamente. Nota: Barras seguidas da mesma letra não diferem, entre populações para a mesma enzima, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).....61

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

<b>Sigla</b>	<b>Significado</b>
®	Marca registrada
™	Marca comercial
°C	Grau Celsius
AChE	Acetilcolinesterase
AGROFIT	Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários
ANOVA	Análise de variância
BSA	Albumina de Soro Bovino
CDNB	1-cloro-2,4-dinitrobenzeno
CL <sub>50</sub>	Concentração Letal 50%
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
COMIGO	Cooperativa Agroindustrial dos Produtores Rurais do Sudoeste Goiano
DEF	S, S, S-tributil-trifosforotritioato
EMATER	Empresa de Assistência Técnica Extensão Rural
EP	Erro Padrão
GL	Grau de Liberdade
g/L	Grama por litro
i.a.	Ingrediente Ativo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de Confiança
IRAC	Comitê de Ação à Resistência a Inseticidas
L/há	Litros por hectare
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mL/ha	Mililitros por hectare
N	Número de adultos
P-450	Oxidases de função mista
PR <sub>50</sub>	Potência Relativa 50%
RR <sub>50</sub>	Razão de resistência 50%
SAS	Statistical Analysis System
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

## RESUMO

BORGES, JÉSSICA SANTANA

Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde GO, abril de 2019.

### **Suscetibilidade de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) a inseticidas utilizados na cultura da soja**

Orientadora: Agna Rita dos Santos Rodrigues

Orientador: Althieris de Souza Saraiva

O controle químico tem sido o método de controle de artrópodes-praga mais utilizado na cultura da soja. Dentre as pragas que acometem esta cultura, destaca-se *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae), popularmente conhecido por percevejo marrom. Esta espécie é responsável por perdas econômicas elevadas, pelo seu hábito alimentar, atrelado à dificuldade de controle. Atualmente, para controle de *E. heros* em soja, há registros de 47 formulações compostas por 15 ingredientes ativos de três grupos químicos. Destas formulações, 40% são à base de ingrediente ativo acefato. O número reduzido de ingredientes ativos, com mesmo modo de ação, dificulta o manejo da praga executado pelos produtores de soja. De fato, os produtores tendem a aplicações mais frequentes ou aumento de dosagens, e conseqüentemente, selecionam populações resistentes aos inseticidas. Surtos populacionais frequentes de *E. heros* nas culturas de soja têm sido registrados, principalmente nas regiões centro-oeste e sudeste do Brasil. Ainda, há poucos estudos acerca da suscetibilidade de *E. heros* a inseticidas. Desta forma, objetivou-se gerar informações sobre resistência de *E. heros* aos inseticidas



recomendados para a cultura de soja no Brasil, contribuindo para o desenvolvimento do manejo de pragas da soja. Inicialmente, foram coletadas oito populações de *E. heros* em plantios de soja e cedidas pelo Laboratório de Entomologia da Embrapa Arroz e Feijão. Três populações estabelecidas no Laboratório de Entomologia do IF Goiano – Campus Rio Verde foram utilizadas nos bioensaios e ensaios *in vitro*: Eh-1, Eh-2 e Eh-3. Para avaliar a dosagem utilizada em campo de inseticidas, adultos de *E. heros* foram expostos às concentrações em ingrediente ativo de nove formulações dos inseticidas 0.56; 0,3; 0,45; 0,6; 0,38; 3,6; 3,4; 0,4; e 7,5 g i.a. / L de Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup> Duo, Galil<sup>®</sup> SC, Hero<sup>®</sup>, Klorpan 480 EC, Perito<sup>®</sup> 970 SG, Sperto, Sumithion<sup>®</sup> 500 EC, respectivamente. Além disso, os parâmetros das curvas de concentração-mortalidade foram estimados para as populações e formulações. O envolvimento do metabolismo foi inferido pela aplicação prévia do sinergista S, S, S-tributilfosforotritioato (DEF) anteriormente à exposição de adultos com a dosagem recomendada. A atividade enzimática de carboxilesterase do tipo B e glutationa-S-transferase foi avaliada para as populações de *E. heros*. Pelos resultados, houve diferença estatística entre as populações de *E. heros* e inseticidas avaliados. A formulação Sumithion<sup>®</sup> 500 EC e Klorpan 480 EC causaram 100% de mortalidade para todas as populações de *E. heros*. As formulações Hero<sup>®</sup> e Fastac<sup>®</sup> Duo provocaram mortalidade reduzida para a população Eh-1 após 96h de exposição, com médias de 28,9 e 41,1%, respectivamente. Para as populações Eh-2 e Eh-6, a formulação Galil<sup>®</sup> SC provocou mortalidade inferior à esperada (menor que 80%), quando utilizada a dosagem recomendada. A suscetibilidade das populações de *E. heros* foi variável para as formulações de inseticidas testadas. De fato, a formulação Sperto foi mais tóxica para todas as populações de *E. heros*. Também, foi observado que a aplicação prévia do sinergista DEF incrementou a mortalidade de *E. heros* provocada pelas formulações contendo misturas de inseticidas. Além disso, não houve diferença significativa entre as populações de *E. heros* quando avaliadas as atividades enzimáticas de carboxilesterase do tipo B e glutationa-S-transferase. Desta forma, falhas futuras de controle podem ser observadas quando utilizadas as formulações Connect<sup>®</sup>, Hero<sup>®</sup>, Fastac<sup>®</sup> Duo e Galil<sup>®</sup> SC, visto que as CL<sub>80s</sub> estimadas para as populações estão próximas das dosagens recomendadas destes produtos. Adicionalmente, indica-se parcimônia no uso destas formulações a fim de evitar/reduzir a evolução de resistência a estes inseticidas.

**Palavras-chave:** percevejo marrom, atividade enzimática e resistência a inseticidas

## ABSTRACT

BORGES, JÉSSICA SANTANA

Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde GO, abril de 2019.

### **Suscetibilidade de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) a inseticidas utilizados na cultura da soja**

Orientadora: Agna Rita dos Santos Rodrigues

Orientador: Althieris de Souza Saraiva

Chemical control has been the most commonly used arthropod-pest control method in soybean crops. Among the pests that affect this crop, we highlight the *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae), popularly known as brown stinkbug. This species is responsible for high economic losses, due to its food habit linked to the difficulty of control. Currently, in order to control *E. heros* in soybean crops, there are records of 47 formulations composed of 15 active ingredients from three chemical groups. From these formulations, 40% are based on the active ingredient acephate. The reduced number of active ingredients, with the same action mode, turn difficult the pest management executed by the soybean farmers. In fact, farmers frequently use more applications or increase dosages, and consequently, generate populations resistant to insecticides. Frequent population outbreaks of *E. heros* in soybean crops have been reported, mainly in the Central-West and Southeast regions of Brazil. Still, there are few studies about the *E. heros* susceptibility to insecticides. In this way, the objective was to generate knowledge about *E. heros* resistance to the insecticides recommended for soybean crop in Brazil, contributing to the development of soybean pest management. Initially, eight *E. heros* populations were collected in soybean plantations and one from the Entomology

Laboratory of Embrapa Arroz e Feijão. Three populations from the IF Goiano Entomology Laboratory - Campus Rio Verde were used *in vivo* bioassays and *in vitro* assays: Eh-1, Eh-2 and Eh-3. To evaluate the recommended insecticides dosage, *E. heros* adults were exposed to the active ingredient concentrations of nine formulations: 0.56; 0.3; 0.45; 0.6; 0.38; 3.6; 3,4; 0.4; and 7.5 g a.i. / L of the Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup> Duo, Galil<sup>®</sup> SC, Hero<sup>®</sup>, Klorpan 480 EC, Perito<sup>®</sup> 970 SG, Sperto, Sumithion<sup>®</sup> 500 EC, respectively. In addition, parameters of concentration-mortality curves were estimated for populations and formulations. The metabolism involvement was inferred by application of the S, S, S-tributylphosphorotrithioate (DEF) synergist prior to exposure the adults to the recommended dosage. The enzymatic activity of carboxylesterase type B and glutathione-S-transferase were evaluated for *E. heros* populations. Based on the results, there was a statistical difference between the *E. heros* populations, exposure time and insecticides. The Sumithion<sup>®</sup> 500 EC formulation caused 100% mortality for all *E. heros* populations. The Hero<sup>®</sup> and Fastac<sup>®</sup> Duo formulations caused reduced mortality for the Eh-1 population after 96h of exposure, with averages of 28.9 and 41.1%, respectively. For the Eh-2 and Eh-6 populations, the Galil<sup>®</sup> SC formulation caused mortality lower than expected (lower than 80%) when the recommended dosage was used. The *E. heros* populations susceptibility varied for the insecticide formulations tested. In fact, the formulation Sperto was more toxic for all *E. heros* populations. Also, it was observed that previous application of the synergist DEF increased the *E. heros* mortality caused by formulations containing mixtures of insecticides. In addition, there was no significant difference between the *E. heros* populations when evaluating the enzymatic activities of carboxylesterase type B and glutathione-S-transferase. Thus, future control failures can be observed when using Connect<sup>®</sup>, Hero<sup>®</sup>, Fastac<sup>®</sup> Duo and Galil<sup>®</sup> SC formulations, since the CL80s estimated for the populations are close to the recommended dosages of these products. In addition, parsimony in the use of these formulations is indicated in order to avoid / reduce the resistance evolution to these insecticides.

**Key words:** brown stinkbug, enzymatic activity and insecticides resistance.

## 1. INTRODUÇÃO

A soja, *Glycine max* (L.) Merrill, é a cultura primária oleaginosa mais consumida no mundo (Wilcox 2004). Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor e primeiro exportador de soja mundial. A área semeada com soja corresponde a aproximadamente 57,2% da área ocupada com plantio de grãos (Conab 2019). Para o ano agrícola 2018/2019, a produção estimada da safra brasileira de soja é 115,3 milhões de toneladas. Isto representa crescimento de 1,8% em área plantada e redução de 3,3% da produção de soja em relação à safra de 2017/2018, respectivamente (Conab 2019). Para 2020, a perspectiva é que o Brasil seja isoladamente o maior produtor mundial dessa commodity (Vencato *et al* 2010).

No Brasil, a Região Centro-Oeste tem destaque por contribuir com 44,9% da área plantada de soja (Conab 2019). O estado de Goiás está ranqueado em quarto lugar em área plantada e produção, com aproximadamente 3,5 milhões de hectares e 11 milhões de toneladas, respectivamente (Conab 2019). Ainda, o município de Rio Verde participa em 10% da produção de soja do estado e em 25% do sudoeste goiano (IBGE 2019).

A cultura da soja enfrenta diversos problemas fitossanitários (Juhász *et al* 2013), com destaque para os insetos-praga, que podem causar injúrias substanciais e, conseqüente perda de produção. Percevejos pertencentes à família Pentatomidae são considerados um dos grupos de pragas com destaque na cultura da soja (Turnipseed & Kogan, 1976, Panizzi & Slansky 1985). Isto porque esta cultura é hospedeira primária deste grupo de insetos, sendo as plantas utilizadas como fonte de alimento e abrigo.

Do complexo de pentatomídeos com ocorrência confirmada na cultura da soja no Brasil, três são economicamente importantes: *Euschistus heros* (Fabricius), *Nezara viridula* (L.) e *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Panizzi & Slansky 1985). Em conjunto, estes insetos podem provocar perdas significativas através da redução da produtividade (vagens abortadas), da qualidade (menor tamanho e peso de semente) e da germinação e vigor da semente (Hoffmann-Campo *et al* 2000).

*Euschistus heros*, popularmente conhecido como percevejo marrom, é nativo da região Neotropical e tem ocorrência em várias regiões do Brasil (Silva *et al* 2014). Esta espécie pode causar danos na soja desde a formação das vagens até o final do período de enchimento dos grãos (Hoffmann-Campo *et al* 2000). As injúrias às plantas de soja são causadas principalmente por ninfas de terceiro a quinto ínstaes e por adultos de *E. heros*. As injúrias são resultantes da introdução do aparelho bucal dos insetos nas estruturas vegetativas e reprodutivas da planta (Cobben 1978). Segundo Hoffmann-Campo *et al* (2000), os grãos de soja que são atacados pelos percevejos tendem a ser menores, enrugados, chochos e mais escuros. De modo geral, ocorre má-formação do grão e das vagens e, como consequência, retenção das folhas, que não amadurecem na época da colheita.

A dispersão de percevejos para soja, saindo da diapausa ou de hospedeiros alternativos, aumenta as populações deste inseto durante a fase reprodutiva desta cultura de forma progressiva (Corrêa-Ferreira & Panizzi 1999). A ocorrência de elevadas populações de *E. heros* em determinadas fases da cultura e a reduzida divulgação de informação sobre técnicas de manejo desta espécie geram problemas para controle populacional dos percevejos.

O controle de *E. heros* tem sido realizado principalmente por meio da aplicação de inseticidas sintéticos (Grolí *et al* 2016). Para controle de *E. heros* na cultura da soja, são registrados para 47 formulações simples ou misturas (Agrofit 2019). De fato, todos os produtos recomendados para controle do percevejo marrom são neurotóxicos: i) organofosforados (inibem a enzima acetilcolinesterase) (Fukuto 1990); ii) piretroides (moduladores de canais de sódio) (Casida 1980); e iii) neonicotinoides (agonistas dos receptores nicotínicos da acetilcolina) (Tomizawa & Casida 2005). Destes, 14 formulações são misturas de organofosforados com piretroides, e de piretroides com neonicotinoides (Agrofit 2019). Adicionalmente, 19 formulações registradas utilizam o mesmo ingrediente ativo, o organofosforado acefato. Atualmente, o lançamento de novas moléculas inseticidas é esperado, estando em fase de estudos e/ou em fase de registro.

Falhas no controle de pragas em razão do mau uso de inseticidas (por exemplo, aumento na dosagem e frequência de aplicação) podem gerar populações resistentes (Georghiou *et al* 1977) e, conseqüentemente, a perda de uma ou mais moléculas inseticidas que têm um alto custo para sua descoberta e seu desenvolvimento (Sparks 2013). Assim, a utilização de controle químico deve ser atrelada com outras práticas do manejo integrado de pragas e manejo de resistência a inseticidas.

A investigação da suscetibilidade de *E. heros* a inseticidas e do mecanismo de resistência deve ser conduzida em razão das escassas informações da tolerância diferencial das populações brasileiras desta espécie. Isto porque as características bioecológicas (dispersão e polifagia) desta espécie permitem que populações sejam selecionadas para resistência após exposições sucessivas aos inseticidas. Além disso, a sucessão de plantios agrícolas em Goiás pode favorecer a seleção de populações resistentes, visto que os mesmos produtos são utilizados para o controle de *E. heros* ou de outros percevejos-praga. Assim, a comparação entre os produtos disponíveis e populações de *E. heros* possibilita que o produtor escolha dentre as moléculas oferecidas no mercado que possibilitem controle da praga e reduza a chances de perdas de produção pela sobrevivência diferencial de percevejos a um determinado produto, que causará injúrias nas plantas e gastos com produtos que não são eficazes no controle de pragas.

### **1.1. A cultura da soja**

A soja é considerada a principal cultura oleaginosa, sendo a mais produzida e mais consumida no mundo (Wilcox 2004). A soja é oriunda do continente asiático, no Centro Sul da China (Hymowitz & Shurtleff, 2005), e foi introduzida no Brasil no ano de 1882 no estado da Bahia. Em 1914, foi registrado o primeiro cultivo comercial de soja no Brasil. Contudo, foi somente a partir do final da década de 40 que a cultura da soja demonstrou maior importância econômica no país (Dall'agnon 2016).

Na safra de 2017/2018, a área plantada e produção mundial de soja corresponderam a 124,5 milhões de hectares e 336,6 milhões de toneladas, respectivamente (Amazonas 2019). Para a safra 2018/2019, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) estimou que a produção mundial de soja alcançará cerca de 369,3 milhões de toneladas, o que representa crescimento de 9,7% quando comparado à safra anterior (Conab 2018).

Atualmente, a soja corresponde 53,9% do total de grãos produzidos no Brasil. Na safra 2017/2018, a cultura ocupou uma área plantada de 35,1 milhões de hectares, totalizando aproximadamente 119 milhões de toneladas do grão (Amazonas 2019). Conseqüentemente, o Brasil é considerado o segundo maior produtor e primeiro em exportação mundial deste grão (Conab 2018).

Para a safra 2018/2019, a estimativa brasileira é aumento em área plantada e redução de produção de soja em 1,9 e 3,3%, respectivamente (Conab 2019). No Brasil, a região Centro-Oeste destaca-se com 16 milhões de hectares semeados com esta cultura. Dentre os estados brasileiros, Goiás está classificado em quarto lugar em área plantada e produção, correspondendo a aproximadamente 3,5 milhões de hectares e 11 milhões de toneladas, respectivamente (Conab 2019). Adicionalmente, o município de Rio Verde, localizado na região sudoeste do estado de Goiás, colabora com aproximadamente 10% da produção de soja do estado (IBGE 2019).

A planta de soja e seus derivados, oriundos do processamento da indústria, podem ser utilizados para adubação verde, alimentação humana, nutrição animal, uso industrial, dentre outros (Markley 1951). A soja é uma planta herbácea, com porte ereto, que pertence à família Fabaceae. As características morfofisiológicas da soja são diversas e dependentes da cultivar utilizada. Em geral, as variedades brasileiras possuem ciclo anual variando entre 95 e 115 dias conforme as regiões, (Penariol 2000) crescimento determinado ou indeterminado; e altura de 45 a 120 centímetros (Miranda *et al* 1998).

A exemplo de outras culturas, a produtividade da soja é determinada pela planta, pelas condições ambientais e pelo manejo executado (Pereira *et al* 2011). Assim, cuidados e técnicas são necessários em todas etapas da produção. Isto porque diversos fatores podem contribuir para redução da produtividade da cultura da soja, tais como a qualidade da semente utilizada, o arranjo populacional, a concorrência de plantas daninhas, a ocorrência de patógenos (fungos e nematoides), a redução da fertilidade do solo, a infestação por artrópodes-praga, dentre outros (Ritchie *et al* 1994).

De fato, a soja é acometida por artrópodes-praga desde a germinação da semente até o armazenamento. Dentre as principais pragas das raízes e dos nódulos da soja, espécies rizófagas e com hábito subterrâneo, podemos citar o complexo dos corós da família Scarabeidae e percevejo castanho da família Cydnidae (Oliveira *et al* 2012). Coleópteros e lepidópteros atacam plântulas, hastes e pecíolos da soja, com destaque para as espécies *Sternechus subsignatus* Boheman (Curculionidae) e *Elasmopalpus lignosellus* Zeller (Pyralidae) (Hoffmann-Campo *et al* 2012). O ataque foliar é causado por lagartas

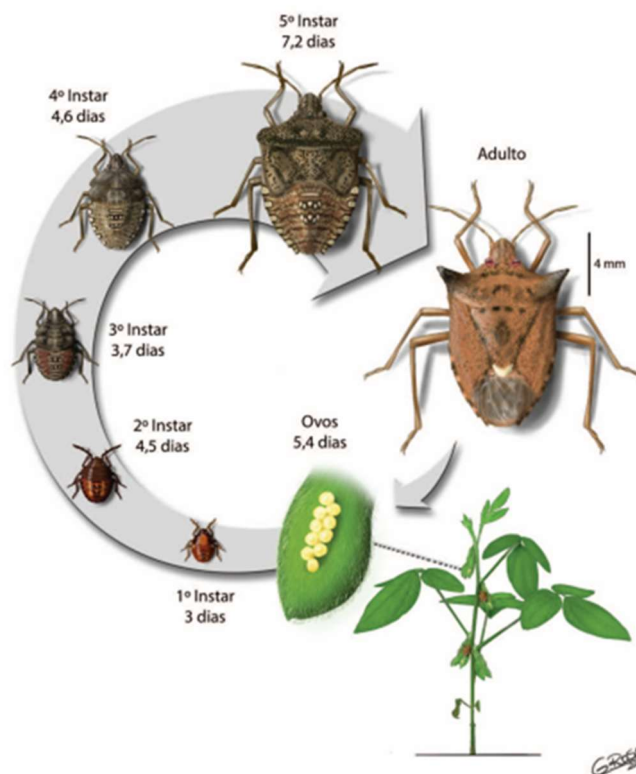
(os noctuídeos: *Chrysodeixis includens*, *Anticarsia gemnatalis* e *Spodoptera* spp.), vaquinhas, mosca-branca e ácaros, sendo responsáveis por reduzir a capacidade fotossintética através das injúrias produzidas (Moscardi *et al* 2012). Já o ataque nas vagens e grãos é provocado por percevejos pertencentes à família Pentatomidae (em especial, *E. heros*, *N. viridula* e *P. guildinii*), pelo complexo de lagartas (os noctuídeos: *Chloridea virescens*, *Helicoverpa* spp. e *Spodoptera* spp.) e pelo coleóptero *Rhyssomatus subtilis* Fiedler (Curculionidae) (Panizzi *et al* 2012). A redução da qualidade de grãos e sementes na armazenagem tem sido produzida pela ação de coleópteros e de traças, tais como *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Anobiidae), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Silvanidae) e *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Pyralidae) (Lorini 2012). Em Goiás, as pragas que se destacam são a *Helicoverpa armigera*, *Bemisia tabaci*, *Scaptocoris castânea*, *Sternechus subsignatus* e *Euschistus heros* (Grigolli 2016, Hoffmann-Campo *et al* 2000, Scopel *et al* 2016).

## 1.2. Inseto praga: *Euschistus heros*

*Euschistus heros* é uma espécie nativa da região Neotropical, pertencente à família Pentatomidae. As características principais desta família são presença de antenas com cinco segmentos, escutelo no formato triangular, com tamanho maior que 7 mm (Panizzi *et al* 2000). *Euschistus heros* é conhecido por seu nome popular, percevejo marrom. Representantes desta espécie preferem as regiões mais quentes, distribuindo-se desde o Centro-Oeste do Brasil ao Norte do estado do Paraná (Corrêa-Ferreira & Panizzi 1999). Esta espécie tem hábito gregário e é considerada polífaga, podendo utilizar como hospedeiros, além da soja, plantas de algodão, mamona, amendoim-bravo, dentre outras (Mcpherson & Mcpherson 2000b).

Durante seu desenvolvimento hemimetábolo, o percevejo marrom passa por cinco estádios ninfais (Figura 1). Os ovos são depositados principalmente nas folhas e nas vagens da soja (Hoffmann-Campo *et al* 2000), em pequenas massas de seis a quinze ovos, com coloração amarelada e quando perto de eclodir para se tornar ninfa apresenta coloração rósea (Ávila *et al* 2014). As ninfas podem variar de cores entre amarronzada e cinza (Sosa-Gómez *et al* 2014). Após os cinco estádios de ninfas, torna-se adulto, apresentando cor marrom escuro, com dois prolongamentos laterais de formato de espinhos (Sosa-Gómez *et al* 2014, Hoffmann-Campo *et al* 2000).





**Figura 1:** Ciclo de desenvolvimento de *Euschistus heros* e duração (em dias) das fases de ovo, ninfa e adulto, quando submetidos a 25°C (Panizzi *et al* 2012).

O percevejo marrom é o menor polífago dentre todos os percevejos que atacam a soja (Hoffmann-Campo *et al* 2000). Indivíduos desta espécie têm o hábito de se alimentar em grãos, afetando a qualidade e o rendimento da soja (Corrêa-Ferreira & Panizzi 1999). Após a colheita da soja, o percevejo marrom alimenta-se de algumas plantas hospedeiras até completar sua quarta geração, e em seguida, entram em diapausa. Neste período, o percevejo marrom sobrevive a partir das reservas de lipídios presentes em seu corpo (Hoffmann-Campo *et al* 2000). Esse inseto praga começa a causar injúrias na soja a partir do terceiro instar (Corrêa-Ferreira *et al* 2013).

Adultos e ninfas de quinto instar são os estágios de desenvolvimento que provocam maiores injúrias na soja (Mcpherson & Mcpherson, 2000a), apresentando preferência de alimentação durante o estágio reprodutivo (particularmente, durante a produção de vagens e enchimento de grãos) (Mcpherson & Mcpherson, 2000b). As injúrias são produzidas pela introdução do seu aparelho bucal na planta. Desta forma, danificam os tecidos vegetais e tornam as sementes enrugadas, chochas e escuras, causando perda de rendimento, (cerca de 30% do peso dos grãos) e redução da qualidade (50% do poder germinativo), além de sugar o percevejo marrom liberam toxinas,

causando deformações às plantas (Panizzi & Slansky JR 1985, Mondstock & Thomas 2005, Sosa-Gómez *et al* 2014, Corrêa-Ferreira & Sosa-Gómez 2017). Segundo Corrêa-Ferreira (2005), após a alimentação do percevejo, as sementes passam a possuir maior teor de proteínas e conseqüentemente menor teor de lipídios. Além disso, o ataque do percevejo marrom pode impedir a planta de terminar seu ciclo, pois retarda a sua maturação e causa diminuição foliar (Corso 1990).

O aumento da densidade populacional de percevejos nos plantios de soja tem gerado preocupação em profissionais e produtores. Surtos populacionais de *E. heros* têm sido registrados em diversos estados brasileiros (principalmente, no Sudeste e Centro-Oeste do País). De modo geral, a falta de informação acerca dos possíveis danos que esta espécie pode gerar leva à utilização inadequada de inseticidas sintéticos para o seu controle. De fato, a cultura da soja é um dos maiores mercados de defensivos agrícolas, tendo em vista os diversos problemas fitossanitários acometem esta cultura nos diferentes estágios fenológicos da planta.

### **1.3. Inseticidas sintéticos para controle de pragas**

Apesar dos diferentes métodos de controle disponíveis, o uso de inseticidas sintéticos para controle de percevejos na cultura da soja tem sido uma constante quando atingido o nível de controle (Oliveira *et al* 1988). O controle de percevejos na cultura da soja tem sido recomendado apenas quando amostrados dois percevejos por pano de batida. Em casos de campo de produção de semente, a recomendação é a partir de um percevejo por pano de batida (Roggia *et al* 2018).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), através do Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit), recomenda 47 formulações simples ou misturas de ingredientes ativos de inseticidas para controle de percevejos na cultura da soja (Agrofit 2019). As formulações disponíveis apresentam amplo espectro de ação e atuam no sistema nervoso do inseto, sendo considerados produtos de choque. As formulações são à base de três grupos químicos: organofosforados, piretroides e neonicotinoides. Das formulações, 14 são misturas, de piretroides com neonicotinoides e piretroides com piretroides (Agrofit 2019).

Os inseticidas organofosforados são moléculas derivadas do ácido fosfórico. Estes inseticidas são ésteres formados pela junção de uma molécula do ácido fosfórico e

uma molécula de álcool. Os organofosforados são inibidores enzimáticos irreversíveis, causando envelhecimento da enzima acetilcolinesterase na sinapse (AChE - E.C. 3.1.1.7) (Fukuto 1990). A acetilcolinesterase é uma enzima do grupo das hidrolases, pertencentes às esterases do tipo II, essencial ao funcionamento do sistema nervoso central de insetos e mamíferos. Esta enzima é responsável pela clivagem do neurotransmissor colinérgico acetilcolina, que é caracterizado pelo seu efeito excitatório (Pittman 1971). Com a inibição da enzima acetilcolinesterase por organofosforados, acúmulo do neurotransmissor é gerado na sinapse, produzindo estímulo excessivo do neurônio, com consequente morte (Ecobichon 2001).

Os organofosforados são absorvidos por inalação, ingestão e penetração pelo tegumento. Estes inseticidas são conhecidos por seu amplo espectro de atividade e reduzida seletividade a inimigos naturais e organismos benéficos. Agem por contato e podem ser utilizados como inseticidas sistêmicos. Atualmente, estão disponíveis cerca de 90 moléculas para o controle de pragas agrícolas (Sparks & Nauen 2015). No Brasil esse número é bem reduzido, com o Agrofít trazendo 16 moléculas de organofosforados. Para controle do percevejo marrom na cultura da soja, destaca-se o acefato, molécula presente em 40,4% das formulações recomendadas no Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit 2019).

Os inseticidas piretroides integram a primeira geração de compostos orgânicos sintéticos. Os piretroides são ésteres que foram obtidos por modificações estruturais das piretrinas extraídas das flores do piretro, *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. (Asteraceae) (Elliott 1976). Os piretroides são moléculas altamente lipofílicas que são utilizadas como inseticidas de contato para controle de diversos artrópodes-pragas (ácaros, lepidópteros, percevejos, etc) em diferentes culturas agrícolas no Brasil.

Os piretroides atuam como moduladores de canais de sódio (Casida 1980), que estão presentes em proteínas transmembranas nas células eletricamente excitáveis (Dong 2007). Os piretroides são classificados em dois tipos, de acordo com os sintomas apresentados pelos insetos expostos e presença/ausência de grupo ciano na molécula. Os piretroides tipo I provocam a síndrome do tremor e não apresentam cianeto na molécula, enquanto que os piretroides tipo II produzem salivação e coreatetose como sintomas, e sua molécula possui o grupo ciano que aumenta a toxicidade deste grupo.

Os inseticidas neonicotinoides são um grupo de inseticidas derivados da nicotina, que se diferem por conter uma amina básica ionizável ou uma substituinte imina (Lloyd & Williams 2000). Os neonicotinoides são pouco efetivos para controle de

lagartas, por ter baixa eficiência por contato. Os neonicotinoides apresentam reduzido coeficiente de partição, uma menor lipofilicidade fato que permite o uso como inseticida sistêmico nas plantas. Os neonicotinoides são rapidamente absorvidos pelas plantas e atuam no controle de pragas sugadoras de seiva, tais como percevejos, pulgões, cigarrinhas e mosca-branca em diferentes culturas agrícolas. Atualmente, a importância deste grupo de inseticida está associada ao controle de pragas que não são alvo de plantas geneticamente modificadas (Tomizawa & Casida 2005, Pedroso *et al* 2012) e a sua utilização como tratamento de sementes no plantio direto (Maienfisch *et al* 1999).

Os neonicotinoides atuam como agonistas dos receptores nicotínicos da acetilcolina (Tomizawa & Casida 2005). Ao se ligarem no receptor, os neonicotinoides provocam estímulo excitatório semelhante ao neurotransmissor acetilcolina no neurônio. Contudo, o inseticida não é clivado pela enzima acetilcolinesterase, permanecendo ligado ao receptor. Atualmente, tem sido questionado o efeito tóxico de neonicotinoides em polinizadores, mas os problemas podem ser minimizados ou evitados através de tratamento de sementes em detrimento de pulverizações (Tomlin 2003), alguns lugares têm se evitado o uso destes produtos durante o período de floração (Amaro & Godinho 2012).

Os inseticidas organofosforados, piretroides e neonicotinoides são os mais vendidos no mundo. Com somente oito moléculas disponíveis, os neonicotinoides de destacam como primeiro colocado em venda no mundo, seguido dos piretroides e organofosforados (Spark & Nauen 2015). Em comparação com os organofosforados, os neonicotinoides e piretroides são mais seletivos e com menor impacto ao ambiente e mamíferos (Tomizawa & Casida 2005).

#### **1.4. Resistência a inseticidas**

Com o uso intensivo de agrotóxicos sintéticos, populações de insetos vêm sendo expostos e selecionados a diferentes produtos usados, reduzindo a probabilidade de obtenção de uma população suscetível em campo (Metcalf 1980). Atualmente, cerca de 600 espécies de artrópodes (incluindo insetos e ácaros) foram registradas como resistente a pelo menos uma molécula inseticida, e mais de 300 moléculas de inseticidas para os quais uma ou mais espécies mostraram resistência (Whalon *et al* 2019).

Resistência pode ser entendida como um processo micro evolucionário, onde a alteração genética resultante da pressão de seleção pelo uso de agrotóxicos produz

populações de artrópodes com diferente e difícil modo de manejo (Whalon & Ghaghey, 1998). Fatores biológicos, genéticos e ecológicos contribuem para o surgimento de insetos resistentes (Georghiou & Taylor 1986). Conseqüentemente, provocam aumento da dose e frequência de aplicações e substituição por produtos mais tóxicos (Georghiou 1986).

A redução da penetração de inseticidas, a insensibilidade de sítio-alvo, as respostas comportamentais e a destoxificação metabólica são os quatro mecanismos de resistência de artrópodes aos inseticidas (Georghiou & Taylor, 1986). A redução da penetração de inseticidas é resultante da interação entre propriedades físico-química da molécula do inseticida (Brooks 1976) e da cutícula do artrópode (Vinson & Law 1971). Já a insensibilidade de sítio-alvo acontece quando da alteração na sua conformação molecular. As mais conhecidas modificações na sensibilidade de sítio-alvo são a acetilcolinesterase alterada (que confere resistência a organofosforados e carbamatos) e a resistência de *Knockdown* (kdr) (que confere resistência a DDT e análogos, piretrinas e piretroides).

As respostas comportamentais (repelência, irritabilidade, xenofobia ou exofilia) visam reduzir a exposição do artrópode ao produto, não produzindo efeito deletério (Georghiou 1972). Já a transformação de compostos tóxicos em substâncias mais hidrofílicas e menos tóxicas é resultante de reações enzimáticas, oriundas da destoxificação metabólica (Price 1991). As principais enzimas destoxificativas envolvidas com a resistência são: oxidases de função mista (P-450), esterases e glutathione s-transferases (Sodelund & Bloomquist 1990).

A P-450 atua principalmente na regulação, degradação de compostos como os hidrocarbonetos, alguns hormônios e feromônios. As esterases são capazes de hidrolisar ligações de ésteres. A enzima glutathione s-transferase catalisam a conjugação de uma variedade de moléculas orgânicas endógenas e exógenas com o substrato endógeno (glutathione reduzida) (Scott 1999, Sodelund & Bloomquist 1990, Oppenorth *et al* 1972).

### **1.5. Percevejo marrom e resistência a inseticidas**

A cultura da soja é um dos maiores mercados de defensivos agrícolas e a falta de informação acerca dos possíveis danos que o percevejo marrom pode gerar à utilização inadequada de inseticidas sintéticos altamente tóxicos para o seu controle (Corrêa-Ferreira *et al* 2010). Ensaios de campo têm sido conduzidos para verificar a eficácia de formulações de inseticidas recomendados para controle de *E. heros* na cultura da soja. Os

ensaios foram conduzidos para controle preventivo, através de tratamento de sementes (Ribeiro *et al* 2017) e ensaios de campo com avaliação de população antes e depois da aplicação de inseticidas (Ramiro *et al* 2005, Ribeiro *et al* 2016, Roggia *et al* 2018).

Até o presente momento, não há casos registrados de resistência a inseticida para *E. heros* (Whalon *et al* 2019). Informações sobre a tolerância diferencial das populações brasileiras de *E. heros* são escassas. Estudos recentes têm demonstrado variação na resposta para populações de *E. heros*, variando de indicação de suscetibilidade (Sosa-Gómez & Silva 2010, Pitta *et al* 2018) ou prováveis falhas de controle quando utilizados inseticidas (Tuelher *et al* 2018). Dificuldades de controle de populações do percevejo marrom em São Paulo e Paraná com aplicações de organofosforados e endosulfan já foram indicadas (Sosa-Gómez *et al* 2001, Sosa-Gómez *et al* 2009). Recentemente, foi relatado possível início de resistência à formulação imidacloprido em populações coletadas no estado de Goiás (Tuelher *et al* 2018) e indicação de seleção de população de *E. heros* para resistência com custo adaptativo associado (Castelhanos *et al* 2019).

As características biológicas e ecológicas de *E. heros* (polifagia e capacidade de dispersão) permitem que populações sejam selecionadas para resistência após exposições sucessivas aos inseticidas. Além disso, a sucessão de culturas em Goiás contribui para a seleção de populações resistentes, pois os mesmos produtos são utilizados para o seu controle ou de outros percevejos-pragas.

A partir de bioensaios de suscetibilidade, as razões de resistência entre populações e concentrações diagnósticas podem ser estimadas e validadas para detecção de resistência em *E. heros*. Após a detecção, a investigação do mecanismo conferindo resistência é crucial para mitigar os problemas decorrentes da resistência (perda de produtos, substituição por produtos com maior custo ao produtor, efeitos letais e subletais em organismos não alvo e impacto ao meio ambiente) (Whalon *et al* 2008).

Ensaio enzimáticos permitem indicar preliminarmente o envolvimento do metabolismo como fator gerador de resistência (Scott 1991). Assim, os estudos de mecanismo de resistência permitem que as moléculas inseticidas sejam escolhidas para controle de uma determinada espécie praga, neste caso *E. heros*, dentre aquelas que não produzam resistência cruzada ou múltipla (Metcalf 1955).

Por fim, a detecção de resistência permite ao produtor escolher dentre as moléculas oferecidas no mercado que possibilitem controle da praga e reduza a chances de perdas de produção pela sobrevivência diferencial de percevejos a um determinado

produto, que causará injúrias nas plantas e gastos com produtos que não são eficazes no controle de pragas.

### 1.6. Referências bibliográficas

Agrofit (2019) Sistema de agrotóxicos fitossanitários. [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Accessed 20 Jan 2019.

AMAZONAS, L. Análise mensal soja – dezembro de 2018. <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-soja>. Accessed 29 de Jan de 2019.

Ávila CJ, Grigolli JFJ (2014) Pragas da soja e seu controle. In: Lourenção ALF, Grigolli JFJ, Melotto AM, Pitol C, Gitti, DC, Roscoe R. (Eds) Tecnologia e produção: soja 2013/2014. (Eds) Fundação MS, Maracaju, MS, pp 109–168

Brooks GT (1976) Penetration and distribution of insecticides. In: Wilkinson CF.. Insecticide Biochemistry and Physiology. (Eds) Plenum, New York pp 3–58

Casida JE (1980) Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environmental and Health Perspectives* 34:189–202

Castellanos NL (2019) Imidacloprid resistance in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: selection and fitness costs. *Journal of Pest Science* 92:847–860

Cobben RH (1978) Evolutionary trends in Heteroptera Part II. Mouthpart-structures and feeding strategies. *Mededelingen Landbouwhogeschool, Wageningen*, p 407

CONAB (2019) Acompanhamento safra brasileira de grãos - Quinto levantamento, Brasília, 6:1–117

Corrêa-Ferreira BS, Castro L, Roggia S, Cesconetto NL, Costa J, Oliveira M (2013) MIP-Soja: resultados de uma tecnologia eficiente e sustentável no manejo de percevejos no atual sistema produtivo da soja. *Documentos* 341. Embrapa Soja, Londrina, p 55

Corrêa-ferreira BS, Panizzi AR (1999) Percevejos da soja e seu manejo. Embrapa-CNPSO, Londrina, p 46

Corso IC (1990) Uso de sal de cozinha na redução da dose de inseticida para controle da soja. EMBRAPA-CNPSO, Londrina, p 7

Dall' Agnol AA (2016) Embrapa Soja no contexto do desenvolvimento da soja no Brasil: histórico e contribuições. Embrapa, Brasília, p 72

Dong K (2007) Insect sodium channels and insecticide resistance. *Invertebrate Neuroscience* 7:17–30

Ecobichon DJ (2001) Toxic effects of pesticides. In: Klaassen CD (eds) Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons McGraw-Hill, New York pp 763-810

Elliott M (1976) Properties and application of pyrethroids. *Environmental and Health Perspectives* 14:3-13

Fukuto TR (1990) Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental and Health Perspectives* 87:245-254

Georghiou GP (1972) The evolution of resistance to pesticides. *Annual Review of Ecology and Systematic* 3:133-168

Georghiou GP (1986) The magnitude of the resistance problem. In: National Research Council Pesticide resistance: strategies and tactics for management. National Academy Press, Washington, pp 489

Georghiou GP, Taylor CE (1977) Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *Journal of Economic Entomology*, 70:653-658

Georghiou GP, Taylor CE (1986) Factors influencing the evolution of resistance, In: National Research Council Pesticide resistance: strategies and tactics for management. National Academy Press, Washington D.C, pp 489

Groli EL (2016) Seleção de genótipos de soja com alto potencial agronômico e resistência ao complexo de percevejos. Dissertação (MESTRADO EM AGRONOMIA). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, pp 41

Hoffmann-Campo CB, Moscardi F, Corrêa-Ferreira BS, Oliveira LJ, Sosa-Gómez DR, Panizzi AR, Corso IC, Gazzoni DL, Oliveira EB (2000) Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado. Embrapa Soja, Londrina pp 70

Hoffmann-campo CB, Oliveira LJ, Moscardi F, Corrêa-Ferreira BS, Corso IC (2012) Pragas que atacam plântulas, hastes e pecíolos da soja. In: Hoffmann-campo CB, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F (eds) Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa, Brasília, DF pp 145-212

Hymowitz T, Shurtleff WR (2005) Debunking soybean myths and legends in the historical and popular literature. *Crop Science* 45:473-476

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal – PAM. <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?=&t=resultados>. Accessed 12 de fevereiro de 2019.

Juhász ACP, Padua GP, Wruck DSM, Favoreto L, Ribeiro NR (2013) Desafios fitossanitários para a produção de soja. *Informe Agropecuário* 34:66-75

Lloyd GK, Williams M (2000) Neuronal nicotinic acetylcholine receptors as novel drug targets. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 292:461-670



Lorini I (2012) Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: Hoffmann-Campo CB, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F (eds) Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Brasília, DF: Embrapa, pp 421–444

MAIENFISCH, P, Brandl F, Kobel W, Rindlisbacher A, Senn R (1999) CGA 293'343: A novel, broad-spectrum neonicotinoid insecticide. In: Yamamoto I, Casida JE. (Eds) Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor, p 300

Markley KS (1951) Soybeans and soybean products. Interscience Publishers 2:891–947

Mcpherson JE, mcpherson RM (2000) Major crops attacked. In Mcpherson JE, mcpherson RM (eds) Stink Bugs of Economic Importance in America North of Mexico. CRC Press, Boca Raton, FL, p 253

Mcpherson JE, mcpherson RM (2000) General introduction to stink bugs. In: Mcpherson JE, mcpherson RM (eds) Stink Bugs of Economic Importance in America North of Mexico. CRC Press, FL, pp 253

Metcalf RL (1955) Physiological basis for insect resistance to insecticides. *Physiological Reviews* 35:197–232

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

Moscardi F, Bueno AF, Sosa-Gómez DR, Roggia S, Hoffmann-Campo CB, Pomari AF, Corso IC, Yano SAC (2012) Artrópodes que atacam as folhas da soja. In Hoffmann-Campo CB, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F(eds.) Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Brasília, DF: Embrapa, pp 213–334

Oliveira EB, Gazzoni DL, Corso IC, Villas Boas GL, Hoffmann-Campo CB (1988) Pesquisa com inseticidas em soja: sumário dos resultados alcançados entre 1975 e 1987. Embrapa-CNPSO, pp 260

Oliveira LJ, Roggia S, Salvadori JR, Ávila CJ, Fernandes PM, Oliveira CM (2013) Insetos que atacam raízes e nódulos da soja. In: Hoffmann-Campo CB, , Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F. (eds) Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Brasília, DF: Embrapa pp 75–144

Panizzi AR, Bueno AF, Silva FAC (2012) Insetos que atacam vagens e grãos. In: Hoffmann-Campo CB, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F (eds) Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Brasília, DF: Embrapa, pp 335–420

Panizzi, A. R.; Slansky JR., F. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. *Florida Entomologist* 68:184–203, 1985.

Panizzi AR (2000) Suboptimal nutrition and feeding behavior of hemipterans on less preferred plant food sources. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 29:1-12

Pereira RG, Albuquerque AW, Oliveira SR, Silva AD, Santos JPA, Silva BE, Medeiros PVQ (2011) Sistemas de manejo do solo: soja [*Glycine max* (L.)] consorciada com *Brachiaria decumbens* (STAPF). *Pesquisa Agropecuária Tropical* 41:44–51

Pitta RM, Rodrigues SMM, Vivan LM, Bianchin KA (2018) Suscetibilidade de *Euschistus heros* (Fabr. 1794) (Heteroptera: Pentatomidae) a inseticidas em Mato Grosso. *Scientific Electronic Archives* 11:1–5

Price NR (1991) Insect resistance to insecticides: mechanisms and diagnosis. *Comparative Biochemistry and Physiology* 100:319–326

Ramiro ZA, Batista Filho A, Cintra ERR (2005) Eficiência do inseticida actara mix 110 + 220 CE (thiamethoxam + cipermetrina) no controle de percevejos praga da soja. *Arquivos do Instituto Biológico* 72:235–243

Ribeiro FC, Rocha FS, Erasmo EAL, Matos EP, Costa SJ (2016) Manejo com inseticidas visando o controle de percevejo marrom na soja intacta. *Revista de Agricultura Neotropical* 3:48–53

Ribeiro FC, Rocha FS, Erasmo EAL, Garcia JPM, Farias DIOA, Rocha FS, Cerqueira FB (2017) Eficiência de inseticidas no controle preventivo do percevejo-marrom na cultura da soja. *Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária* 11:25–30

Ritchie SW, Hanway JJ, Thompson HE, Benson GO (1994) How a soybean plant develops? Ames: Iowa State University of Science and Thechnology, Cooperative Extension Service 53: 20

Roggia S, Utiamada C, Hirose E, Stoetzer A, Avila C, Kischel E, Marzarotto FO, Tomquelski GV, Guedes JVC, Arnemann JA, Grigolli JFJ, Farias JR, Vivan LM, Sato LN, Peixoto MF, Goussain Junior MM, Tamai MA, Oliveira MCN, Martins MC, Bellettini S, Boratto VNM, Nascimento VL, Venancio WS (2018) Eficiência de inseticidas no controle do percevejo marrom (*Euschistus heros*) em soja, na safra 2013/14: resultados sumarizados de ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja 137:1–22

Scott JG (1991) Insecticide resistance in insects. In: Pimentel D (eds) *Handbook of Pest Management in Agriculture*, Boca Raton: CRC Press 29:757–777

Silva VP, Pereira MJB, Vivan LM, Blassioli-Moraes MC, Laumann RA, Borges M (2014) Monitoramento do percevejo marrom *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) por feromônio sexual em lavoura de soja. *Revista Agropecuária Brasileira* 49:844–852

Sosa-Gómez DR, Silva JJ, Lopes ION, Corso IC, Almeida AM, Moraes GCP, Baur ME (2009) Insecticide Susceptibility of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) in Brazil. *Journal of Economic Entomology* 102:1209–1216

Sosa-Gómes DR, Corso IC, Morales L (2001) Insecticide Resistance to Endosulfan, Monocrotophos and Metamidophos in the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros* (F.). *Neotropical Entomology* 30:317–320

Sosa-Gómez DR, Corrêa-Ferreira BS, Hoffmann-Campo CB, Corso IC, Oliveira LJ, Moscardi F, Panizzi AR, BUENO AF, Hirose E, Roggia S (2014) Manual de Identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja. Londrina: Embrapa Soja 100p

Sparks TC (2013) Insecticide discovery: An evaluation and analysis. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107:8–17

Sparks TC, Nauen R (2015) IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121:122–128

Tuelher ES, Silva ÉH, Rodrigues HS, Hirose E, Guedes RNC, Oliveira EE (2018) Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. *Journal of Pest Science* 91:849–859

Tomizawa M, Casida JE (2005) Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 45:247–68

Tomlin CDS (2003) *The Pesticide Manual*. Alton, Hampshire, UK: Br. Crop Protection Council, 1344p

Turnipseed SG, Kogan M (1976) Soybean entomology. *Annual Review of Entomology*, 21:247–282

VENCATO AZ (2010) Anuário brasileiro da soja 2010. Editora Gazeta 144p

Vinson SB, Law PK (1971) Cuticular composition and DDT resistance in the tobacco budworm. *Journal of Economic Entomology* 64:1387–1390

Whalon ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM (2008) Arthropod pesticide resistance database. <https://www.pesticideresistance.org/> Accessed 22 de janeiro de 2019

Whalon, M. E., Mota-Sanchez, D.; Hollingworth, R. M (2008) Analysis of global pesticide resistance in arthropods, In: Whalon ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM (eds) *Global pesticide resistance in arthropods*. Cambridge, CAB International 5:5–31.

Whalon ME, Mcgaughey WH (1998) *Bacillus thuringiensis*: use and resistance management. In I. Ishaaya & D. Deheele (eds) *Insecticides with novel modes of action, mechanism and application*. New York, Springer-Verlag, pp 106–137

Wilcox JR (2014) World distribution and trade of soybean. In: *Soybeans: improvement, production, and uses*, pp 1-14

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

- Gerar informações sobre resistência de *E. heros* aos inseticidas recomendados para a cultura de soja no Brasil, contribuindo para o desenvolvimento do manejo de pragas da soja.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a resposta de adultos de *E. heros* à dosagem recomendada de inseticidas registrados na soja;
- Estimar os parâmetros das curvas de concentração-mortalidade para as populações *E. heros*;
- Comparar a suscetibilidade de populações de *E. heros* aos inseticidas;
- Investigar preliminarmente o envolvimento de metabolismo na sobrevivência diferencial de *E. heros* às formulações contendo piretroides através de inibidores metabólicos;
- Quantificar a atividade enzimática em populações de *E. heros* e correlacioná-la com a suscetibilidade aos inseticidas.

**3. CAPÍTULO I**  
**SUSCETIBILIDADE DE *Euschistus heros* (HEMIPTERA:**  
**PENTATOMIDAE) A INSETICIDAS UTILIZADOS NA CULTURA**  
**DA SOJA**

**(Normas de acordo com a revista *Neotropical Entomology*)**

**Resumo:** *Euschistus heros* (Fabricius), conhecido como percevejo marrom, é considerado a praga chave da cultura da soja [*Glycine max* L. (Merrill)]. Inseticidas sintéticos são utilizados para seu controle, entretanto o uso incorreto tem selecionado populações resistentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a suscetibilidade de diferentes populações de *E. heros* aos inseticidas, ainda o envolvimento do metabolismo na sobrevivência diferencial entre populações. Para os bioensaios e ensaios *in vitro*, foram utilizados adultos das populações de *E. heros*: Eh-1, Eh-2 e Eh-6. Nos bioensaios de dosagem recomendada e curva utilizou-se produtos indicados e registrado no MAPA para o controle desta praga, sendo eles: Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup> Duo, Galil<sup>®</sup> SC, Hero<sup>®</sup>, Klorpan 480 EC, Perito<sup>®</sup> 970 SG, Sperto e Sumithion<sup>®</sup> 500 EC. Nos bioensaios com sinergista S, S, S-tributilfosforotritioato (DEF), avaliaram-se os

produtos que continham em sua mistura piretroides: Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup> Duo, Galil<sup>®</sup> SC, Hero<sup>®</sup> e Sperto. Foram determinadas a atividade das enzimas carboxilesterase do tipo B e a glutathione-S-transferase das populações. Pelos resultados, variação de resposta às formulações entre as populações foi observada. As formulações Hero<sup>®</sup> e Fastac<sup>®</sup> Duo provocaram mortalidade reduzida para as populações Eh-1 e Galil<sup>®</sup> SC para as Eh-2 e Eh-6 na dosagem recomendada, as CL<sub>80</sub>s foram similares. Com o DEF a porcentagem de mortalidade foi incrementada para Connect<sup>®</sup>, Fastac<sup>®</sup> Duo e Hero<sup>®</sup>. As atividades enzimáticas não foram influenciadas pelas populações. Desta forma, falhas futuras podem ocorrer a estes produtos. Observou-se tolerância diferencial entre as populações aos inseticidas, entretanto não foi possível indicar como resistência.

**Palavras-chave:** percevejo marrom, metabolismo, resistência.

**Abstract:** *Euschistus heros* (Fabricius), known as a brown stinkbug, is considered the key pest of soybean crop [*Glycine max* L. (Merrill)]. Synthetic insecticides are used for pest control, however the misuse has selected resistant populations. The objective of this work was to evaluate the susceptibility of different *E. heros* populations to insecticides, as well as the metabolism involvement in different survival among populations. For bioassays and *in vitro* assays, adults of *E. heros* populations were used named as Eh-1, Eh-2, and Eh-6. In the recommended dosage and curve bioassays, the indicated and registered products in MAPA were used to control this pest: Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup> Duo, Galil<sup>®</sup> SC, Hero<sup>®</sup>, Klorpan 480 EC, Perito<sup>®</sup> 970 SG, Sperto, and Sumithion<sup>®</sup> 500 EC. In the synergist bioassay, the products that have pyrethroid in the formulation were evaluated with S, S, S-tributylphosphorotriothioate (DEF): Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup> Duo, Galil<sup>®</sup> SC, Hero<sup>®</sup> and Sperto. In addition, the carboxylase type B enzymes and glutathione-S-transferase activities from populations were determined. From the results, variation of response to

formulations among populations was observed. The Hero<sup>®</sup> and Fastac<sup>®</sup> Duo formulations caused reduced mortality for the Eh-1. The same was observed to Eh-2 and Eh-6 when Galil<sup>®</sup> SC was applied. With DEF, the mortality rate was increased for Connect<sup>®</sup>, Fastac<sup>®</sup> Duo and Hero<sup>®</sup>. The enzymatic activities were not influenced by populations. In this way, future failures may occur to these products. Differential tolerance between populations was observed for insecticides, but it was not possible to indicate resistance.

**Key-words:** brown stinkbug, metabolism, and insecticide resistance.

### 3.1. INTRODUÇÃO

A soja, *Glycine max* L. (Merill), é uma oleaginosa, pertencente à Família Fabaceae. Atualmente, a soja é um dos principais produtos agrícola e de maior relevância no Brasil (Ramiro *et al* 2005), sendo utilizada para consumo humano, alimentação animal e em atividades industriais. Segundo Amazonas (2019), o Brasil é o segundo maior produtor e primeiro exportador de soja no mundo, com produção estimada em 120,1 milhões de toneladas no ano agrícola 2018/2019.

Diversos problemas fitossanitários podem acometer a cultura da soja reduzindo sua produção, principalmente os provocados por artrópodes-pragas: em especial, complexo de lagartas, vaquinha, mosca-branca e percevejos fitófagos (Moreira & Aragão 2009). Dentre os percevejos fitófagos que causam injúrias na soja, o pentatomídeo *Euschistus heros* (Fabricius), conhecido vulgarmente por percevejo marrom, tem recebido destaque pela dificuldade de controle e perdas provocadas aos agricultores (Ramiro *et al* 2005, Roggia *et al* 2018). Injúrias significativas na planta da soja são produzidas por adultos e ninfas a partir do terceiro instar (Panizzi *et al* 2012). Para se alimentar, *E. heros* introduz o seu aparelho bucal nas vagens até atingir o grão, reduzindo sua qualidade por danificar os tecidos vegetais e tornar os grãos chochos e enrugados (Panizzi & Slansky Jr 1985, Panizzi 2000).

O controle populacional de *E. heros* na cultura da soja tem destoadado do controle de lagartas pela reduzida diversidade de táticas eficazes no manejo integrado de pragas. Para controle de lagartas, é possível empregar plantas geneticamente modificadas (plantas Bt), controle comportamental (em especial, feromônios para monitoramento) e controle biológico aplicado (através de microrganismos entomopatogênicos) (Roggia *et al* 2018). De fato, o controle de *E. heros* tem sido prioritariamente realizado através de aplicação de inseticidas sintéticos. Os produtos formulados registrados para controle de *E. heros* são misturas ou formulação simples. O controle de *E. heros* conta com 47 formulações, contendo 15



ingredientes ativos, distribuídos entre organofosforados, piretroides e neonicotinoides (Brasil 2019). Estes inseticidas são neurotóxicos, atuando na transmissão sináptica e axônica (Sparks & Nauen 2015).

Fatores operacionais, tais como o aumento de dosagem e frequência de aplicação, podem selecionar populações resistentes (Georghiou *et al* 1977), e conseqüentemente, perda de uma ou mais moléculas inseticidas que têm alto custo para descoberta e desenvolvimento (Sparks 2013). Atualmente, existe a expectativa de lançamento de novas moléculas inseticidas, porém este é um processo que depende de registro no MAPA. Para controle de *E. heros* na cultura da soja, 19 produtos registrados tem o mesmo ingrediente ativo na sua formulação, o organofosforado acefato, correspondendo 40,4% das formulações recomendadas (Brasil 2019). Além disso, o esquema de sucessão de culturas no Brasil aliado às características bioecológicas de *E. heros*, tais como a polifagia e alta capacidade de dispersão, permitem a seleção de populações para resistência, visto que os mesmos produtos são utilizados para o seu controle ou de outros percevejos-praga.

Até o presente momento, não há registros de resistência a inseticida para *E. heros* (Whalon *et al* 2019). Informações sobre a tolerância diferencial das populações brasileiras de *E. heros* são escassas (Sosa-Gómez *et al* 2001, Sosa-Gómez *et al* 2009, Pitta *et al* 2018, Castellanos *et al* 2019). A avaliação da resposta de *E. heros* a inseticidas têm sido frequentemente associados a ensaios de campo, conduzidos para verificar a eficácia de formulações (Ramiro *et al* 2005, Ribeiro *et al* 2016, Roggia *et al* 2018). Fato que fomenta a avaliação da suscetibilidade e do papel do metabolismo detoxificativo como fator para resposta diferencial entre populações de *E. heros*. O envolvimento do metabolismo pode ser indicado pelo uso de sinergistas (Scott 1991). Dentre eles, o S, S, S-tributiltrifosforotritioato (DEF) é reconhecido inibidor de carboxilesterase do tipo B, que detoxificam piretroides, presente na maioria das misturas de inseticidas. Assim, o presente estudo objetivou avaliar a suscetibilidade

de populações de *E. heros* aos inseticidas recomendados e indicar preliminarmente o envolvimento do metabolismo como fator para a sobrevivência diferencial de percevejo após a exposição aos produtos.

## **3.2. MATERIAL E MÉTODOS**

Os bioensaios de dosagem recomendada e de suscetibilidade, a avaliação prévia da destoxificação metabólica de inseticidas, bem como os ensaios *in vitro* de atividade enzimática foram conduzidos no Laboratório de Entomologia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Rio Verde – GO. Já a quantificação de proteínas totais foi conduzida no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Rio Verde – GO.

**3.2.1. Inseticidas e reagentes utilizados.** Para os bioensaios de dosagem recomendada e de suscetibilidade, foram utilizadas nove formulações comerciais de inseticidas adquiridas em mercado especializado, sendo seis misturas e três formulações simples (Tabela 1). Os ingredientes ativos foram escolhidos de acordo com a indicação dos produtores e profissionais das áreas de coleta de populações do percevejo marrom. Os produtos utilizados estão registrados no Ministério da Agricultura para o controle de *E. heros* na cultura da soja no Brasil (Brasil 2019). A exceção é a formulação Klorpan 480 EC, que apresenta ingrediente ativo Clorpirifós, que é usado para controle de *E. heros*. Os reagentes e solventes utilizados nos ensaios enzimáticos foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, EUA), e o kit de análise de proteínas será o da Pierce Chemical Co.

**3.2.2. Coleta de insetos.** Oito populações de percevejos *E. heros* foram coletadas em plantios de soja convencionais ou transgênicos na safra 2017/18, nos meses de janeiro e fevereiro de 2018. Os plantios de soja pertenciam a associados da Cooperativa Agroindustrial dos Produtores Rurais do Sudoeste Goiano (COMIGO) e a produtores independentes (Tabela 2). As coletas foram realizadas manualmente e/ou com a utilização de pano de batida entre as

entrelinhas de soja (Figura 2). Na ocasião, foram coletados ovos, ninfas e adultos do percevejo marrom. Os insetos coletados foram acondicionados em potes de plásticos, vedados com tecido do tipo organza com auxílio de uma liga de elástico (Figura 2).

Após a coleta, os insetos foram levados para o Laboratório de Entomologia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. Os adultos coletados tiveram o sexo determinado para compor as gaiolas de criação, enquanto os ovos e as ninfas foram mantidos em caixas plásticas de criação. A população Eh-1 foi obtida através de doação do Laboratório de Entomologia da Embrapa Arroz e Feijão, localizada no município de Santo Antônio de Goiás – GO. Durante todo o período, as populações coletadas permaneceram separadas de acordo com os locais de coletas (Tabela 2).

**3.2.3. Criação dos insetos.** As gaiolas de criação de adultos do percevejo marrom foram feitas com potes plásticos de 7 L de capacidade, com tampa contendo um orifício central de 15 cm de diâmetro. Para fechar a gaiola e permitir a ventilação no seu interior, foi utilizado tecido do tipo organza (Figura 3A e 3B). Com auxílio de pedaços de arame, foram pendurados pedaços de tecido organza, para aumentar a superfície de caminhamento e postura de ovos, e uma cesta feita com tecido tule para acondicionar sementes [girassol (*Helianthus annuus* L.), soja (*G. max*) e amendoim (*Arachis hypogaea* L.)]. Além de sementes, foram utilizados quiabos [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] para alimentação do percevejo marrom. O fornecimento de água foi realizado com a utilização de tampas de garrafa pet de 20 mL, contendo um chumaço de algodão hidrofílico umidificado com água destilada (Figura 3C). As posturas foram coletadas duas vezes por semana, sendo mantidas em placas de Petri de plástico, forrada com um papel toalha (Figura 3D).

Para criação das ninfas, foram utilizadas caixas plásticas retangulares de 6,5 L de capacidade, com tampa contendo um orifício que foi fechado com tecido organza (Figura 4A e 4B). Anteriormente a eclosão, as placas contendo os ovos foram dispostas nas caixas plásticas

com fundo recoberto com papel toalha, contendo quiabos (Figura 4C). Até atingir o terceiro instar ninfal, a manutenção da criação foi feita através da troca e reposição de quiabos. A partir deste instar, foram adicionados pequeno chumaço de algodão hidrofílico em tampa de garrafa pet contendo água destilada e uma placa de Petri de 6,0 cm de diâmetro contendo as sementes as mesmas utilizadas nos adultos ( $\approx 40$  g de cada tipo) (Figura 4D).

Para higienização, a troca das caixas, gaiolas e sementes foi feita uma vez por semana. Para evitar a fuga de ninfas e adultos, foi utilizada solução de teflon disperso em água na bordadura de caixas e gaiolas de criação (politetrafluoretileno a 60%, Sigma-Aldrich). A quantidade de quiabos fornecida foi dependente da densidade populacional nas caixas e idade dos insetos. Todas as populações foram mantidas numa sala de criação com temperatura, umidade relativa e luminosidade controlada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $60 \pm 10\%$  e 14 horas de fotofase, respectivamente).

**3.2.4. Bioensaios com dosagem recomendada de inseticidas formulados.** Os bioensaios foram realizados com adultos com 10 a 15 dias de idade, de três das nove populações coletadas de *E. heros* (Eh-1, Eh-2 e Eh-6), visto que as demais populações não se estabeleceram adequadamente em condições de laboratório. Para cada população avaliada, foram utilizadas nove formulações comerciais de inseticidas: Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup> Duo, Galil<sup>®</sup> SC, Hero<sup>®</sup>, Klorpan 480 EC, Perito<sup>®</sup> 970 SG, Sperto, Sumithion<sup>®</sup> 500 EC, cujas dosagens recomendadas para a cultura da soja no Brasil constam na tabela 1. Os bioensaios foram conduzidos conforme o método 028 do Comitê de Ação à Resistência a Inseticidas (IRAC) (<https://www.irc-online.org/methods/euschistus-heros-adults/>). As concentrações de cada inseticida foram baseadas em quantidade de ingrediente ativo, considerando o volume de calda de aplicação de 100 a 500 L, conforme inseticida avaliado (Tabela 1).

Inicialmente, vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) foram mantidas por 15 min em água contendo 1% de hipoclorito de sódio, e posteriormente, foram lavadas em água corrente.

Para obter a calda dos inseticidas, foi utilizada solução de água destilada + Tween 80 a 0,01%. Para submergir as vagens, foi utilizado 800 mL de volume de calda num béquer de 2 L de capacidade. As concentrações utilizadas corresponderam a 0,56; 0,3; 0,45; 0,6; 0,38; 3,6; 3,4; 0,4; e 7,5g de i.a./L dos inseticidas Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup> Duo, Galil<sup>®</sup> SC, Hero, Klorpan 480 EC, Perito<sup>®</sup> 970 SG, Sperto, Sumithion<sup>®</sup> 500 EC, respectivamente.

Após o preparo da calda, as vagens foram transferidas para o béquer e submersas por 10 segundos, sendo colocadas para secar o excesso de umidade num isopor forrado com papel filtro por aproximadamente 20 minutos. Após secas, cada vagem tratada foi cortada em dois pedaços, sendo estes acondicionados em placa de Petri de 10 x 1,5 cm, forrada por um papel filtro e contendo 10 percevejos em cada. Para o grupo controle, os insetos foram expostos a vagens tratadas somente com uma solução de água destilada + Tween 80 (0,01%). Para o grupo controle, inseticida e população, foram conduzidas 10 repetições, que foram compostas por 10 placas de Petri contendo 10 insetos em cada, totalizando 100 insetos avaliados. As placas de Petri contendo os adultos de *E. heros* foram mantidas em sala climatizada com temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotofase de 14h. As avaliações de mortalidade foram feitas após 96h de exposição. Desta forma, foram considerados mortos os percevejos que aos serem tocados com um pincel de cerdas não retornavam para sua posição normal, com o ventre voltado para baixo.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com arranjo fatorial duplo (três populações e sete Inseticidas). Conforme as formulações Sumithion<sup>®</sup> 500 EC e Klorpan 480 EC resultou 100% de mortalidade de adultos de *E. heros*, estes tratamentos não foram incluídos na análise. Contudo, os resultados foram apresentados como valores absolutos nos resultados e discussões. Os dados de mortalidade foram corrigidos em razão da mortalidade no grupo controle (Abbott 1925). Após serem submetidos ao teste de homocedasticidade (Bartlett) e normalidade (Kolmogorov-Smirnov) utilizando o proc Univariate do SAS, os dados foram transformados em arco seno da raiz quadrada da proporção e submetidos a análise de variância

(PROC GLM). As médias de mortalidade foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS<sup>®</sup> University Edition – SAS Studio (Sas Institute 2015).

**3.2.5. Bioensaios de suscetibilidade do percevejo marrom a inseticidas formulados.** Foram conduzidos bioensaios de curva de concentração-mortalidade para as três populações (Eh-1, Eh-2 e Eh-6) de *E. heros* e os nove inseticidas utilizados nos bioensaios de dosagem recomendada. Para tanto, foram conduzidos testes preliminares a partir das dosagens recomendadas, em diluições seriais com fator de 10, a fim de determinar as concentrações que resultavam entre 0 a 100% de mortalidade. Foram utilizadas pelo menos cinco concentrações de cada inseticida, espaçadas em fator de 2.

As caldas dos inseticidas (concentrações) foram preparadas numa solução de água destilada + Tween 80 a 0,01%. Os bioensaios foram realizados em duplicata com adultos com 10 a 15 dias de idade, utilizando no mínimo 120 adultos expostos aos inseticidas. Os bioensaios foram repetidos pelo menos duas vezes quando possível. O modo de preparo das caldas de inseticida, do tratamento das vagens e exposição aos insetos, do grupo controle e as condições de sala foram similares ao descrito no item anterior. Já a avaliação de mortalidade dos insetos foi realizada após 96h de exposição.

Para determinar a concentração letal ( $CL_{50}$ ), o número de indivíduos mortos e total foi registrado para cada população e inseticida estudado. Os dados foram analisados através da análise de Probit (Finney 1971), utilizando o programa Polo PC (Leora Software 1987). Para o cálculo das razões de resistência ( $RR_{50}$ ) em cada inseticida, foi considerada população padrão de suscetibilidade àquela que apresentou menor  $CL_{50}$ . Já a potência relativa ( $PR_{50}$ ) entre os inseticidas foi estimada tendo como padrão o inseticida Sperto. As  $RR_{50}$  e  $PR_{50}$  com seus respectivos intervalos de confiança ( $IC_{95\%}$ ) foram calculadas (Robertson & Priesler 1992),

sendo as estimativas significativas, se o intervalo de confiança não incluir o valor 1,0 (Robertson *et al* 2007).

**3.2.6. Avaliação prévia da destoxificação metabólica de inseticidas.** A destoxificação de inseticidas foi avaliada preliminarmente através da aplicação prévia de sinergista (inibidor metabólico) e exposição posterior vagens tratadas com inseticidas. O sinergista organofosforado S, S, S-tributil-trifosforotritioato (DEF) em grau técnico, reconhecido inibidor de carboxilesterase do tipo B, foi escolhido e diluído em acetona.

Inicialmente, foi conduzido teste preliminar com duas doses (10 e 50 g/L) com intuito de determinar a dose do sinergista que não provocasse mortalidade de adultos. Assim, a dose correspondente a 10 g/L de DEF foi indicada para os bioensaios. Para condução do bioensaios, a aplicação do sinergista foi realizada utilizando uma seringa de Hamilton de 25 $\mu$ L, ao depositar 0,5 $\mu$ L da dose corresponde a 10 g/L, na parte ventral do abdome dos adultos de *E. heros*. Após o tratamento, os insetos foram mantidos em placas de Petri (10 x 1,5cm), forradas com papel de filtro.

Por reconhecer o papel de carboxilesterase do tipo B na destoxificação de piretroides e inibição deste grupo por organofosforado, somente as formulações contendo misturas de inseticidas piretroides foram avaliadas: Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup> Duo, Galil<sup>®</sup> SC, Hero<sup>®</sup> e Sperto. Além disso, somente a população Eh-1 foi avaliada neste bioensaio, pelo fato de ter produzido menor porcentagem de mortalidade com os produtos que tinham em sua mistura piretroídes.

As concentrações dos inseticidas, o preparo das caldas dos inseticidas, o tratamento das vagens e exposição aos insetos, a avaliação de mortalidade dos insetos e as condições de sala foram correspondentes aos descritos nos bioensaios de dosagem recomendada. Neste bioensaio, foram utilizados dois grupos controle: i) insetos expostos somente a vagens tratadas

com uma solução de água destilada + Tween 80 a 0,01%; e ii) insetos expostos ao sinergista diluído em acetona e vagens tratadas com uma solução de água destilada + Tween 80 a 0,01%.

Os dados de mortalidade após 48 e 96h de exposição aos inseticidas foram corrigidos em razão da mortalidade no grupo controle (Abbott 1925). As repetições variaram de 6 a 7, nos tratamentos em que os insetos foram expostos ao sinergista previamente e 10 repetições nos tratamentos sem exposição. As médias de mortalidade de cada inseticida, dentro do período de avaliação, foram comparadas pelo teste T (Proc ttest) ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS<sup>®</sup> University Edition – SAS Studio (SAS Institute 2015).

**3.2.7. Extração das enzimas para ensaios *in vitro*.** Para cada sistema enzimático avaliado, foram obtidas cinco amostras (repetições), contendo cinco adultos de *E. heros* com 7 dias de idade. Os insetos foram colocados em placas de Petri e levados para o freezer por aproximadamente por 10 minutos. Posteriormente, as pernas, antenas e asas foram descartadas com auxílio de uma tesoura tipo Iris, sendo a cabeça, tórax e abdômen de cada inseto transferidos para um tubo de vidro do tipo Potter-Elvehjem para serem homogeneizados com o auxílio de um pistão de teflon (Figura 5).

Para a enzima carboxilesterases do tipo B, os percevejos foram homogeneizados utilizando 1,0 mL de tampão fosfato de sódio (0,02M, pH 7,0) em gelo. Após a homogeneização, as amostras foram transferidas para tubos eppendorf<sup>®</sup> de 1,5 mL, centrifugadas a 10.000 g por 15 minutos a 4°C. Para a enzima glutathione-S-transferase, foi utilizado 1,0 mL de tampão de fosfato de sódio (0,1M, pH 7,5). Os demais procedimentos foram similares ao descrito para carboxilesterases do tipo B, exceto na centrifugação que foi conduzida a 15.000g por 15 min a 4°C. Para ambas enzimas, os sobrenadantes foram alicotados e preservados a -20°C em até a determinação da atividade enzimática. A determinação das



proteínas totais foi conduzida usando albumina de soro bovino (BSA), pelo método do ácido bicinconínico (Smith 1985).

**3.2.8. Ensaio *in vitro* de carboxilesterase do tipo B e Glutathione-S-Transferase.** A quantificação da atividade da enzima carboxilesterase do tipo B foi conduzida conforme metodologia modificada de Van Asperen (1962). Inicialmente, uma solução do substrato  $\beta$ -naftil-acetato (250 mM) foi preparada em acetona. Neste experimento, foram utilizados 10  $\mu$ L de cada amostra na diluição 1:100, 2  $\mu$ L de 25 mM de  $\beta$ -naftil-acetato e 188  $\mu$ L de tampão fosfato de sódio (0,02M, pH 7,0) por poço da placa de microtitulação. No branco da amostra, foi pipetado 10  $\mu$ L de tampão em substituição à amostra da enzima. A atividade da enzima contida nas amostras foi analisada em triplicata. Posteriormente, as amostras foram incubadas por 15 minutos a 30°C. Para paralisar a reação, foi utilizado 33,2  $\mu$ L de FAST Blue B a 0,3% em 3,5% de SDS. A absorbância foi lida a 605 nm em leitora de microplaca (Polaris, Celer Biotecnologia S/A). A atividade enzimática por amostra foi calculada a partir da absorbância lida e dos coeficientes da equação da regressão linear estimada para o padrão  $\beta$ -naftol.

Para determinar a atividade de conjugação da glutathione reduzida, a reação de formação de 2,4-dinitrofenil S-glutathione foi avaliada a partir do substrato CDNB (1-cloro-2,4-dinitrobenzeno) (Habig *et al* 1974). Assim, foram preparadas soluções de CDNB (150 mM) em álcool etílico e de glutathione reduzida (10 mM) em tampão fosfato de sódio (0,1M; pH 7,5). As reações foram conduzidas utilizando 1.440  $\mu$ L tampão fosfato de sódio (0,1M, pH 7,5), com glutathione reduzida diluída (concentração final de 5 mM), 50  $\mu$ L da amostra e 10  $\mu$ L de CDNB (concentração final de 1 mM). A formação de 2,4-dinitrofenil S-glutathione foi analisada em espectrofotometria a 340 nm. A reação foi lida por 5 min, durante o intervalo a cada 30s. Os dados de absorbância foram analisados em função do tempo de reação após adição de CDNB. A inclinação da reta (absorbância/min) foi transformada em unidade de concentração utilizando o coeficiente de extinção do CDNB (9,6 mM<sup>-1</sup> .cm<sup>-1</sup>).

Os dados de atividade das enzimas das populações de *E. heros* foram submetidos à análise de variância, usando o PROC GLM do SAS, após ter sido testado para normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade da variância (Bartlett), utilizando o proc Univariate do SAS. Para atender aos princípios da ANOVA, as médias da atividade de carboxilesterase do tipo B foram transformadas em raiz quadrada ( $x + 1$ ). As médias foram comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS<sup>®</sup> University Edition – SAS Studio (SAS Institute 2015).

### 3.3. RESULTADOS

**3.3.1. Bioensaios com dosagem recomendada de inseticidas formulados.** As formulações Sumithion<sup>®</sup> 500 EC e Klorpan 480 EC provocaram 100% de mortalidade de adultos de *E. heros* após 96h de exposição. Desta forma, considerando os demais inseticidas, houve diferença entre as populações de *E. heros*, inseticidas avaliados, bem como na interação entre população x inseticidas (Tabela 3).

Independente das formulações dos inseticidas, a mortalidade observada para as populações de *E. heros* variaram de 72,1 a 89,7% (Figura 6), com destaque para a população Eh-2 que apresentou maior média de porcentagem de mortalidade dentre as populações estudadas.

Para os inseticidas independente da população de *E. heros*, as mortalidades variaram de 66,0 a 98,5%. As formulações Engeo Pleno<sup>™</sup> S e Perito<sup>®</sup> 970 SG não diferiram entre si e causaram maior mortalidade dentre os inseticidas avaliados. As formulações Galil<sup>®</sup> SC e Hero<sup>®</sup> apresentaram mortalidade semelhantes, correspondendo a aproximadamente 60% (Figura 7).

Para as três populações, houve diferença entre as formulações de inseticidas testadas [Eh-1 ( $F_{6,63} = 46,25$ ;  $P < 0,0001$ ); Eh-2 ( $F_{6,63} = 17,84$ ;  $P < 0,0001$ ); Eh-6 ( $F_{6,63} = 20,77$ ;  $P < 0,0001$ ). Para a população Eh-1, as mortalidades variaram de 28,9 a 100%, sendo a formulação

Hero<sup>®</sup> menos tóxica em comparação às demais formulações. Para a população Eh-2, a variação de mortalidade foi de 64,4 a 100%, em que a formulação Galil<sup>®</sup> SC foi a menos tóxica aos adultos de *E. heros*. Já as mortalidades registradas para a população Eh-6 variaram de 52,7 a 100%. Para esta população, destacam-se as formulações Galil<sup>®</sup> SC e Sperto com menores médias de mortalidade (Tabela 4). Quando comparadas as populações para cada formulação de inseticida, foi observado que a formulação Perito<sup>®</sup> 970 SG não diferiu entre as populações de *E. heros*. Para as formulações Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Fastac<sup>®</sup>Duo e Hero<sup>®</sup>, a mortalidade foi inferior para a população Eh-1. Já para Galil<sup>®</sup> SC, a mortalidade foi menor para as populações Eh-2 e Eh-6 que não diferenciam entre si. Para a formulação Sperto, a população Eh-6 apresentou menor mortalidade dentre as demais populações (Tabela 4).

**3.3.2. Bioensaios de suscetibilidade do percevejo marrom a inseticidas formulados.** Os dados de mortalidade de todas as populações e inseticidas avaliados assumiram o modelo de Probit ( $P \geq 0,05$ ). Além disso, dentre as formulações estudadas, Sperto provocou maior toxicidade para todas as populações avaliadas, sendo referência para cálculo da PR<sub>50</sub>. Para a população Eh-1, as CL<sub>50</sub> variaram de 0,003 a 1,024 g de i.a./L. Desta forma, foi verificado que a formulação Sperto produziu maior toxicidade dentre os inseticidas avaliados, com exceção para a formulação Galil<sup>®</sup> SC que não diferiu quanto à PR<sub>50</sub> (Tabela 5). Vale ressaltar que a formulação Perito 970 SG foi 300,7 vezes menos tóxico quando comparada com a formulação Sperto (Tabela 5).

Para população Eh-2, as CL<sub>50</sub> variaram de 0,012 a 1,192 g de i.a./L. Quando comparadas com as PR<sub>50</sub>s, somente a formulação Perito 970 SG diferiu estatisticamente da formulação Sperto (Tabela 6). Neste caso, a formulação Perito 970 SG foi 99,3 vezes menos tóxico quando comparada com a formulação Sperto (Tabela 6). Para a população Eh-6, as CL<sub>50</sub> variaram de 0,011 a 0,548 g de i.a./L. Quando comparadas com a formulação Sperto, a formulação Perito 970 SG foi 47,1-vezes menos tóxica, respectivamente (Tabela 7).

Variações de resposta foram verificadas ao comparar o intervalo de confiança (IC<sub>95%</sub>) das CL<sub>50</sub>s entre populações de *E. heros*. A população Eh-1 foi aproximadamente 4-vezes mais suscetível à formulação Sperto quando comparada com as populações Eh-2 e Eh-6. Já as populações Eh-6 e Eh-2 foram mais suscetíveis para as formulações Connect<sup>®</sup>, Engeo Pleno<sup>™</sup> S e Hero<sup>®</sup>, diferindo estatisticamente da população Eh-1. A formulação Galil<sup>®</sup> SC resultou em toxicidade similar para as populações Eh-1 e Eh-6, com maior CL<sub>50</sub> estimada para a população Eh-2. A suscetibilidade das populações foi similar quando expostas à formulação Klorpan 480 EC e Fastac<sup>®</sup> Duo. A formulação Perito<sup>®</sup> 970 SG foi mais tóxica para população Eh-6, diferindo estatisticamente das populações Eh-1 e Eh-2. Já a formulação Sumithion 500 EC foi mais tóxica para população Eh-2, diferindo estatisticamente das populações Eh-1 e Eh-6.

Quando analisadas as CL<sub>80</sub>s, observou-se uma variação de resposta entre as formulações de inseticidas e as três populações de *E. heros*. Para a população Eh-1, as CL<sub>80</sub> estimadas para as formulações Connect<sup>®</sup>, Hero<sup>®</sup> e Fastac<sup>®</sup> Duo foram similares ou acima das doses recomendadas. Para as populações Eh-2 e Eh-6, as formulações Connect<sup>®</sup> e Hero<sup>®</sup> e somente Connect<sup>®</sup> tiveram estimativas de CL<sub>80</sub> próximas às doses recomendadas, respectivamente (Figura 8).

**3.3.3. Avaliação prévia da destoxificação metabólica de inseticidas.** O tratamento prévio com o DEF não influenciou a resposta tóxica das formulações Engeo Pleno<sup>™</sup> S, Galil<sup>®</sup> SC e Sperto aos adultos de *E. heros* após 48 e 96h de exposição aos produtos (Tabela 8). Entretanto, as formulações Connect<sup>®</sup>, Fastac<sup>®</sup> Duo e Hero<sup>®</sup> tiveram incremento na mortalidade produzida pela aplicação prévia de DEF nos adultos de *E. heros* (Tabela 8). Para as formulações citadas, após 48 e 96h de exposição, os incrementos na mortalidade corresponderam a 39,7; 813,2 e 237,8% e de 56,9; 143,3 e 246,0%, quando comparados com sem exposição ao DEF, respectivamente. Após 96h de exposição, os incrementos na mortalidade corresponderam a

65,3; 143,3 e 246,0%, quando comparados com sem exposição ao DEF, respectivamente (Tabela 8).

**3.3.4. Ensaio *in vitro* de carboxilesterase do tipo B e Glutathione-S-Transferase.** As atividades de carboxilesterase do tipo B ( $F_{2,12} = 2,24$ ;  $P = 0,1490$ ) e de Glutathione-S-transferase ( $F_{2,11} = 2,65$ ;  $P = 0,1150$ ) não foram influenciadas pelas populações de *E. heros*. Para carboxilesterase do tipo B, as médias variaram de 29,7 a 56,4  $\mu\text{M}/\mu\text{g}$  de proteína/min (Figura 9A). Já as médias de atividade de Glutathione-S-transferase variaram de 403,8 a 511,9  $\mu\text{M}/\mu\text{g}$  de proteína/min (Figura 9B).

### 3.4. DISCUSSÃO

Apesar de coletar nove populações de *E. heros*, somente três estabeleceram efetivamente no laboratório de Entomologia, permitindo a realização dos bioensaios e obtenção de estimativas da suscetibilidade às principais formulações de inseticidas utilizadas para controle desta espécie na cultura da soja no Brasil. De fato, Sosa-Gómez *et al* (2009) indicaram dificuldade em manter criações de *E. heros* em laboratório, fato que pode limitar os estudos de suscetibilidade a inseticidas. Além disso, as populações apresentaram diferenças quanto à tolerância aos inseticidas avaliados. Isto pode estar relacionado ao histórico de utilização de inseticidas em cada local para controle desta espécie. Por exemplo, a população Eh-2 que foi oriunda de área com uso contínuo da formulação Galil<sup>®</sup> SC (Ênio Fernandes - comunicação pessoal), justifica a redução da mortalidade observada desta população quando avaliada a dosagem recomendada deste formulado.

Todos os inseticidas organofosforados utilizados tiveram eficácia para controle de *E. heros*. As formulações com menores mortalidades foram aquelas que continham misturas de neonicotinoides e piretroides, ou piretroides e piretroides. Independente das populações de *E. heros*, apenas duas formulações não produziram mortalidade acima de 80%. Para Knipling

(1979), a dosagem recomendada de campo de inseticidas deve produzir mortalidade acima de 90%, independente da densidade populacional. Por outro lado, Tomquelski & Martins (2007) indicaram que um inseticida é considerado eficaz no controle de determinada praga, se este produto controla no mínimo 80% da população após a aplicação.

O uso de inibidores metabólicos (sinergistas) em laboratórios tem se destacado, para auxiliar na descoberta de insetos resistentes. Insetos utilizam enzimas para se destoxificar dos inseticidas, modificando compostos tóxicos, tornando-os em produtos com maior hidrofiliabilidade e menor toxicidade (Price 1991, Li *et al* 2007). Segundo Scott (1991), a associação de sinergistas aos inseticidas é considerado um primeiro indicativo para a atuação do metabolismo como fator de resistência. Os processos são reconhecidos são aqueles associados à clivagem de ésteres através de hidrólise, reações de óxido-redução efetuadas por oxidases de função mista (P-450) e de conjugação com metabólitos biológicos pela glutathione-S-transferase (Metcalf 1989). Dentre os sinergistas mais utilizados para investigar resistência a inseticidas em artrópodes-pragas, destacam-se o trifênil fosfato (TPP), o butóxido de piperonila (PBO), o dietil maleato de dietila (DEM) e o DEF (Price 1991; Joa & Casida 1974).

A população Eh-1 foi a única usada para o teste com o sinergista DEF, por ter apresentado maior proporção de enzima carboxilesterase do tipo B, em relação as demais populações estudadas. Além disso, quando adultos de *E. heros* foram expostos previamente ao DEF, notou-se que a mortalidade foi incrementada para misturas de inseticidas. O DEF é um organofosforado com papel comprovado na inibição de carboxilesterases do tipo B. Estas enzimas são hidrolases que clivam ligações ésteres (Joa & Casida 1974). De fato, os inseticidas piretroides são ésteres formados por um ácido carboxílico e um álcool (Casida 1980). Segundo Yamamoto (1970), a hidrólise da ligação éster é o principal meio de destoxificação de piretroides, que corrobora para piretroides serem alvo deste sinergista. Para as formulações Hero<sup>®</sup> e Fastac<sup>®</sup> Duo, a exposição prévia ao DEF permitiu aumento de 65,3; 143,3 e 246,0%

quando avaliada em 96h. De fato, quando um sinergista é associado, a ação dos piretroides pode ser aumentada de 10 em até 300 vezes (Burns *et al* 2013, Domingues 2005).

A suscetibilidade entre as populações de *E. heros* foi estatisticamente diferente, com cerca de 5-vezes. Apesar de ser significativo estatisticamente, biologicamente este resultado ainda pode ser incipiente. A comparação da CL<sub>80</sub> e a dosagem recomendada para a população Eh-1 permitiu verificar que as formulações Connect<sup>®</sup>, Fastac<sup>®</sup> Duo e Hero<sup>®</sup> tiveram estimativas de concentração acima da recomendação. Resultado semelhante foi observado para a população Eh-2 quando expostos ao Hero<sup>®</sup> e Connect<sup>®</sup>, bem como após exposição ao Hero<sup>®</sup> para a população Eh-6. A utilização destes produtos deve ser evitada nestes locais, onde as suas CL<sub>80</sub> já se encontram próximas ou acima da dose recomendada, visto que pode acarretar em populações resistentes dificultando o controle desse inseto praga.

A atividade enzimática não indicou diferenças entre as populações de *E. heros*. Entretanto, há clara tendência de aumento de atividade de carboxilesterase do tipo B para a população Eh-1. Para obtenção das amostras, foram utilizados tecidos oriundos da cabeça, tórax e abdômen de diferentes indivíduos, sendo um *pool* de insetos que podem ter tolerância variável. Além disso, enzimas não relacionadas ao metabolismo de inseticidas podem ter reagido com o modelo substrato utilizado, visto que as amostras de enzimas não foram purificadas (Young *et al* 2006). Estudos para avaliação de atividade das enzimas correlacionadas a resistência têm sido conduzidos. A atividade de esterase relacionada com a resistência com o grupo químico organofosforado foram feitos, e os resultados foram considerados significativos (Soza-Gómes, 2009). Apesar de não considerar a tolerância das populações como resistência, os resultados obtidos acendem um alerta para o início de evolução para resistência nestas populações. Por exemplo, quando analisada a estimativa da CL<sub>80</sub> da população da Eh-1 e a formulação Hero<sup>®</sup>, foi estimado que se faz necessário 3-vezes mais

ingrediente ativo para atingir a taxa de mortalidade preconizada por Tomquelski & Martins (2007).

O percevejo marrom é considerado uma das pragas mais importantes, na cultura da soja. Desta forma, ensaios de campo têm sido conduzidos a fim de avaliar as formulações de inseticidas com recomendação para controle de *E. heros* na cultura da soja. Em geral, são avaliadas as dosagens recomendadas de inseticidas para controle de *E. heros* via aplicação foliar (Ramiro *et al* 2005, Sosa-Gómez & Silva 2010, Ribeiro *et al* 2016, Goelzer *et al* 2017, Roggia *et al* 2018) ou tratamento de sementes (Ribeiro *et al* 2017). Ao avaliar a dosagem recomendada via resíduo seco (Castellanos *et al* 2019), observaram que populações de diferentes locais, com tendência a resistência a imidacloprido, em apenas seis gerações atingiu o nível de resistência significativa. Nos bioensaios foram utilizados os produtos Connect® Galil® SC, os quais têm em sua formulação imidacloprido.

Cerca de 600 espécies de artrópodes são resistentes a um ou diferentes moléculas inseticidas (Whalon *et al* 2019). Atualmente, não há casos registrados de resistência a inseticidas em *E. heros*. Variações na mortalidade de populações de *E. heros* tem sido demonstrado em estudos recentes, desde indicação de suscetibilidade (Sosa-Gómez; Silva, 2010, Pitta *et al.* 2018) ou prováveis falhas de controle quando utilizados inseticidas (Tuelher *et al* 2018). Dificuldades de controle de populações do percevejo marrom em São Paulo e Paraná com aplicações de organofosforados e endosulfan já foram indicadas (SOSA-Gómez *et al.*, 2001; Sosa-Gómez *et al* 2009). Recentemente, foi relatado possível início de resistência à formulação imidacloprido em populações coletadas no estado de Goiás (Tuelher *et al* 2018) e indicação de seleção de população de *E. heros* para resistência em laboratório com custo adaptativo associado (Castelhanos *et al* 2019). Além disso, os autores indicam que oxidases de função mista podem estar envolvidas e gerando a resistência da população de *E. heros* selecionada.



A utilização de inseticidas é uma tática chave no manejo integrado de pragas (Jeyanthi & Kombairaiu 2005). O uso contínuo de misturas de neonicotinoides e piretroides, que são as mais utilizadas por falta de alternativas, tende a aumentar o risco de selecionar indivíduos resistentes (Soza-Gómez & Silva 2010). Assim, indica-se parcimônia no uso destas formulações a fim de evitar/reduzir a evolução de resistência a estes inseticidas.

### 3.5. Referências bibliográficas

Abbott WS (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology* 2:265–267

Amaro P, Godinho J (2012) Pesticidas e abelhas. *Revista de Ciências Agrárias* 35:1–10

Amazonas L (2019) Análise mensal soja – dezembro de 2018. <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-soja>. Accessed 29 Jan 2019

Agrofit (2019) Sistema de agrotóxicos fitossanitários. [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Accessed 20 Jan 2019.

Burns CJ, McIntosh LJ, Mink PJ, Jurek AM, Li AA (2013) Pesticide exposure and neurodevelopmental outcomes: review of the epidemiologic and animal studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B* 16:127–283

Casida JE (1980) Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environmental Health Perspectives* 34:189–202

Castellanos NL, Haddi K, Carvalho GA, Paulo PD, Hirose E, Guedes RNC, Smagghe G, Oliveira (2019) Imidacloprid resistance in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: selection and fitness costs. *Journal of Pest Science* 92:847–860

Corrêa-Ferreira BS, Sosa-Gómez DR (2017) Percevejos e o sistema de produção soja-milho. Embrapa Soja, Londrina, p 98

Domingues VMF (2005) Utilização de um produto natural (cortiça) como adsorvente de pesticidas piretroides em águas. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Portugal

Jiang CM (2006) The population system and integrated quarantine management of melon fly. PhD thesis. The Univ of Fujian Agri and Forest, China

Finney DJ (1971) Probit analysis. Cambridge University Press, London, p 333

- Georghiou GP, Taylor CE (1977) Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *Journal of Economic Entomology* 70:653–658
- Goelzer G, Nunes J, Moscardini VF, Gontijo PC (2017) Eficiência de inseticidas no controle de *Euschistus heros* na cultura da soja no estado do Paraná. *Revista Cultivando o Saber, Edição especial*, 117–124
- Grigolli JFJ (2016) Pragas da soja e seu controle. *Manejo de Pragas* 7:1–27
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione S-transferases: the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry* 249:7130–7139
- Jao LT, Casida JE (1974) Esterase inhibitors as synergists for (+)-trans-chrysanthemate insecticide chemicals. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 4:456–464.
- Jeyanthi H, Kombairaju S (2005) Pesticide use in vegetable crops: frequency, intensity and determinant factors. *Journal of Agricultural Economics Research* 18:209–221.
- Knipling EF (1979) The basic principles of insect population suppression and management. In USDA (ed) *Agriculture Handbook* n. 512. University Press of the Pacific, Washington, D.C., pp 577-623
- Leora Software (1987) A user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software, Berkeley, p 22
- Li X, Schuler MA, Berenbaum, MR (2007). Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology* 52:231–253
- Metcalf RL (1989) Insect resistance to insecticides. *Journal of Pesticide Science* 26:333–358
- Mondstock CM, Thomas AL (2005) Soja: fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos. *Evangraf, Porto Alegre*, p 31
- Moreira HJC, Aragão, FD (2009) *Manual de Pragas da Soja*. Agrolink, Campinas, p 94
- Oppenoorth FJ, Rupes V, El-Bashir S, Houx NWH, Voerman S (1972) Glutathione dependent degradation of parathion and its significance for resistance in housefly. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2:262–269
- Panizzi AR, Bueno AF, Silva FAC (2012) Insetos que atacam vagens e grãos. In: Hoffmann-Campo CB, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F (eds) *Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga*. Embrapa Soja, Londrina, pp 335–420
- Panizzi AR, Slansky JR (1985) Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. *Florida Entomologist* 68:184–203.
- Panizzi AR (2000) Suboptimal nutrition and feeding behavior of hemipterans on less preferred plant food sources. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 29:1–12
- Penariol A (2000) Soja: cultivares no lugar certo. *Cultivar* 16:31–32

Pedroso EC, Carvalho GA, Leite MIS, Rezende DT, Moura AP (2012) Seletividade de inseticidas utilizados na cultura algodoeira a ovos e larvas de terceiro instar de *Cycloneda sanguinea*. Arquivo do Instituto Biológico 79:61–68

Price NR (1991) Insect resistance to insecticides: mechanisms and diagnosis. Comparative Biochemistry and Physiology 100:319–326

Ramiro ZA, Batista Filho A, Cintra ERR (2005) Eficiência do inseticida actara mix 110 + 220 CE (thiamethoxam + cipermetrina) no controle de percevejos praga da soja. Arquivos do Instituto Biológico 72:235–243

Robertson JL, Jones MM, Olguin E, Alberts B (2017) Bioassays with arthropods. CRC Press, Boca Raton, p 212

Robertson JL, Preisler HK (1992) Pesticide Bioassays with Arthropods. CRC Press, Boca Raton, p 127

Roggia S, Utiamada CM, Hirose E, Stoetzer A, Avila CJ, Kischel E, Marzarotto FO, Tomquelski GV, Guedes JVC, Arnemann JA, Grigolli JFJ, Farias JR, Vivan LM, Sato LN, Peixoto MF, Goussain Junior MM, Tamai MA, Oliveira MCN, Martins MC, Bellettini S, Boratto VNM, Nascimento VL, Venancio WS (2018). Eficiência de inseticidas no controle do percevejo-marrom (*Euschistus heros*) em soja, na safra 2013/14: resultados sumarizados de ensaios cooperativos. Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E), 22p

SAS Institute Inc (2015) SAS<sup>®</sup> University Edition: Installation Guide for Windows. SAS Institute Inc, Cary

Scopel W, Salvadori JR, Panizzi AR, Pereira PDS (2016) Danos de *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) em soja infestada no estágio de grão cheio. Agropecuária Catarinense 29:81–84

Scott JG (1991) Insecticide resistance in insects. In: Pimentel D (ed), Handbook of pest management in agriculture. CRC Press, Boca Raton, pp 663–677

Scott JG (1999) Cytochrome P450 and insecticide resistance. Insect Biochemistry and Molecular Biology 29:757–777

Smith, PK., Krohn, RI., Hermanson, GT., Mallia, AK., Gartner, FH., Provenzano, MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC (1985) Measurement of protein using bicinchoninic acid. Analytical Biochemistry 150:76–85

Soderlund DM, Bloomquist JR (1990) Molecular mechanisms of insecticide resistance. In: Roush RT, Tabashnik BE (eds) Pesticide resistance in arthropods. Chapman & Hall, New York, pp 58–96

Sosa-Gómez DR, Silva JJ (2010) Resistência de populações do percevejo marrom (*Euschistus heros*) ao metamidofós no Paraná. Pesquisa Agropecuária Brasileira 45:767–769

Sosa-Gómez DR, Silva JJ, Lopes ION, Corso IC, Almeida AMR, Moraes GC, Baur ME (2009) Insecticide Susceptibility of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) in Brazil. *Journal of Economic Entomology* 102:1209–1216

Sosa-Gómez DR, Corso IC, Morales L (2001) Insecticide Resistance to Endosulfan, Monocrotophos and Metamidophos in the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros* (F.). *Neotropical Entomology* 30:317–320

Sparks TC (2013) Insecticide discovery: An evaluation and analysis. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107:8–17

Sparks TC, Nauen R (2015) IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121:122–128

Tomizawa M, Casida JE (2005) Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 45:247–68

Tuelher ES, Silva ÉH, Rodrigues HS, Hirose E, Guedes RNC, Oliveira EE (2018) Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. *Journal of Pest Science* 91:849–859

Usmani KA, Knowles CO (2001) DEF Sensitive Esterases in Homogenates of Larval and Adult *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda*, and *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomological Society of America* 94:884–891

Van Asperen K (1962) A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *Journal of Insect Physiology* 8:401–416

Whalon, ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM, Duynslager L (2011) Arthropod pesticide resistance database. <https://www.pesticideresistance.org/>. Accessed 22 Jan 2019

Yamamoto I (1970) Mode of action of pyrethroids, nicotinoids, and rotenoids. *Annual Review of Entomology* 15:257–272

Young SJ, Gunning RV, Moores GD (2006) Effect of pretreatment with piperonyl butoxide on pyrethroid efficacy against insecticide-resistant *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Bemisia tabaci* (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 62:114–119

**Tabela 1:** Inseticidas registrados para o controle de *Euschistus heros* na cultura de soja no Brasil. Nota: i.a., ingrediente ativo.

Formulações	Ingrediente Ativo	Concentração (g de i.a./L)	Doses (L/ha)	Volume de calda (L/ha)
Connect <sup>®</sup>	Imadacloprido <sup>a</sup> + Beta-ciflutrina <sup>b</sup>	100 + 12,5	0,5 a 1	100 a 300
Engeo Pleno <sup>™</sup> S	Tiametoxan <sup>a</sup> + Lambda-cialotrina <sup>b</sup>	141 + 106	0,2	200
Fastac <sup>®</sup> Duo	Acetamiprido <sup>a</sup> + Alfa-cipermetrina <sup>b</sup>	100 + 200	0,3	150
Galil <sup>®</sup> SC	Bifentrina <sup>b</sup> + Imidacloprido <sup>a</sup>	50 + 250	0,3 a 0,4	300 a 400
Hero <sup>®</sup>	Zeta-cipermetrina <sup>b</sup> + Bifentrina <sup>b</sup>	200 + 180	0,2	200 a 400
Klorpan 480 EC	Clorpirifós <sup>c</sup>	480	1,5 <sup>d</sup>	200 <sup>d</sup>
Perito <sup>®</sup> 970 SG	Acefato <sup>c</sup>	970	0,7 a 1	200 a 300
Sperto	Acetamiprido <sup>a</sup> + bifentrina <sup>b</sup>	250 + 250	0,1 a 0,12	100 a 300
Sumithion <sup>®</sup> 500 EC	Fenitrotiona <sup>c</sup>	500	1 a 1,5	100 a 200

Fonte: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Brasil 2019)

<sup>a</sup>Agonistas dos receptores nicotínicos da acetilcolina; <sup>b</sup>Moduladores dos canais de sódio; <sup>c</sup>Inibidores da enzima Acetilcolinesterase (AChE); <sup>d</sup>Recomendação da formulação Pynex<sup>®</sup> 480 EC.

**Tabela 2:** Descrição das localidades e coordenadas geográficas onde foram coletadas as populações de *Euschistus heros* nos plantios de soja. Nota: População obtida na Embrapa Arroz e Feijão.

<b>Siglas da população</b>	<b>Municípios</b>	<b>Coordenadas geográficas</b>
Eh-1	Santo Antônio de Goiás – GO	- <sup>a</sup>
Eh-2	Rio Verde – GO	17° 42' 38 "S 50° 48' 41" O
Eh-3	Acreúna – GO	17° 25' 5 "S 50° 21' 19" O
Eh-4	Jataí – GO	17° 49' 29 "S 51° 41' 47" O
Eh-5	Santa Helena de Goiás – GO	17° 48' 38 "S 50° 41' 8" O
Eh-6	Rio Verde – GO	17° 55' 46 "S 51° 8' 24" O
Eh-7	Montividiu – GO	17° 19' 52 "S 51° 9' 54" O
Eh-8	Montes Claros de Goiás – GO	15° 57' 17 "S 51° 23' 38" O
Eh-9	Rio Verde – GO	17° 45' 46 "S 51° 2' 7" O

**Tabela 3:** Resultados do SAS para os efeitos das fontes principais de variação para a mortalidade de *Euschistus heros* após 96h de exposição. Nota: GL, grau de liberdade.

Fonte de Variação	GL	F	P
População	2	31,03	<0,0001
Inseticidas	6	36,23	<0,0001
População x Inseticidas	12	24,38	<0,0001
Erro	189		

**Tabela 4:** Médias de mortalidade ( $\pm$  EP) de *Euschistus heros* a formulações de inseticidas recomendados na cultura da soja no Brasil.

Inseticidas	Eh-1	Eh-2	Eh-6	F <sub>(GL= 2, 27)</sub> <sup>P</sup>
Connect <sup>®</sup>	61,1 $\pm$ 3,79 cB	83,8 $\pm$ 6,05 bA	90,6 $\pm$ 5,47 aA	9,68 <sup>0,0007</sup>
Engeo Pleno <sup>™</sup> S	91,1 $\pm$ 2,77 abB	100 $\pm$ 0,00 aA	100 $\pm$ 0,00 aA	12,46 <sup>&lt;0,0001</sup>
Fastac <sup>®</sup> Duo	41,1 $\pm$ 7,77 cdB	100 $\pm$ 0,00 aA	98,8 $\pm$ 1,17 aA	67,96 <sup>&lt;0,0001</sup>
Galil <sup>®</sup> SC	82,8 $\pm$ 3,65 bA	64,4 $\pm$ 5,86 cB	52,7 $\pm$ 5,55 bB	9,10 <sup>0,0010</sup>
Hero <sup>®</sup>	28,9 $\pm$ 5,02 dB	84,4 $\pm$ 3,39 bA	84,8 $\pm$ 7,50 aA	22,93 <sup>&lt;0,0001</sup>
Perito <sup>®</sup> 970 SG	100 $\pm$ 0,00 aA	97,8 $\pm$ 1,46 aA	97,7 $\pm$ 2,24 aA	0,82 <sup>0,4505</sup>
Sperto	100 $\pm$ 0,00 aA	97,7 $\pm$ 1,54 aA	62,4 $\pm$ 5,55 bB	67,35 <sup>&lt;0,0001</sup>

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



**Tabela 5:** Parâmetros das curvas de concentração-mortalidade estimados para a população Eh-1 de *Euschistus heros* após 96h de exposição aos inseticidas. Nota = n, Número de adultos; GL, graus de liberdade; EP, erro padrão; CL, concentração letal em g de i.a. /mL; e  $\chi^2$ , qui-quadrado.

Inseticida	N	GL	Inclinação EP	$\pm$	CL <sub>50</sub> (IC <sub>95%</sub> )	PR <sub>50</sub> (IC <sub>95%</sub> ) <sup>a</sup>	$\chi^2$
Sperto	320	5	1,44	$\pm 0,17$	0,003 (0,002-0,004)	-	4,17
Connect <sup>®</sup>	537	5	1,78	$\pm 0,19$	0,191 (0,152-0,235)	56,2 (5,6-558,9) *	1,43
Engeo Pleno <sup>™</sup> S	400	5	2,98	$\pm 0,34$	0,129 (0,107-0,153)	38,0 (3,6-405,8) *	0,83
Fastac <sup>®</sup> Duo	431	5	1,51	$\pm 0,20$	0,164 (0,065-0,269)	48,2 (4,8-485,9) *	8,40
Galil <sup>®</sup> SC	280	4	1,65	$\pm 0,25$	0,028 (0,017-0,046)	8,28 (0,4-157,9)	4,36
Hero <sup>®</sup>	300	5	1,82	$\pm 0,21$	0,331 (0,259-0,423)	97,3 (10,0-944,0) *	1,04
Klorpan 480 EC	240	3	3,41	$\pm 0,48$	0,158 (0,130-0,189)	46,6 (4,1-525,4) *	2,60
Perito 970 SG	240	3	2,82	$\pm 0,35$	1,024 (0,840-1,237)	300,7 (34,2-2642,0) *	0,57
Sumithion <sup>®</sup> 500 EC	360	6	2,11	$\pm 0,18$	0,066 (0,046-0,094)	19,3 (1,8-207-2) *	11,1

\*PR, potência relativa e intervalo de confiança a 95%, calculados pelo método de Robertson & Preisler (1992), utilizando como referência a formulação Sperto. Estimativas significativas se o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0 (ROBERTSON et al., 2007).

**Tabela 6:** Parâmetros das curvas de concentração-mortalidade para população Eh-2 de *Euschistus heros*. Nota = n, Número de adultos; GL, graus de liberdade; EP, erro padrão; CL, concentração letal em mg de i.a. /mL; e  $\chi^2$ , qui-quadrado.

Inseticida	N	GL	Inclinação EP	$\pm$	CL <sub>50</sub> (IC <sub>95%</sub> )	PR <sub>50</sub> (IC <sub>95%</sub> ) <sup>a</sup>	$\chi^2$
Sperto	120	4	3,13	$\pm 0,64$	0,012 (0,008-0,016)	-	1,16
Connect <sup>®</sup>	158	5	1,26	$\pm 0,21$	0,139 (0,088-0,215)	11,5 (0,36-361,4)	2,50
Engeo Pleno <sup>™</sup> S	180	6	1,74	$\pm 0,28$	0,035 (0,022-0,050)	2,9 (0,8-113,1)	5,73
Fastac <sup>®</sup> Duo	139	4	2,97	$\pm 0,81$	0,103 (0,056-0,142)	8,6 (0,2-419,2)	3,00
Galil <sup>®</sup> SC	140	4	2,57	$\pm 0,51$	0,136 (0,092-0,188)	11,3 (0,3-379,2)	0,75
Hero <sup>®</sup>	160	5	2,59	$\pm 0,52$	0,224 (0,148-0,304)	18,7 (0,6-542,2)	4,33
Klorpan 480 EC	160	5	3,14	$\pm 0,47$	0,181 (0,123-0,269)	15,0 (0,5-422,5)	6,46
Perito 970 SG	219	3	1,87	$\pm 0,40$	1,192 (1,039-1,356)	99,3 (4,5-2213,6) *	2,99
Sumithion <sup>®</sup> 500 EC	138	4	4,70	$\pm 1,11$	0,032 (0,023-0,039)	2,63 (0,4-190,9)	1,44

\*PR, potência relativa e intervalo de confiança a 95%, calculados pelo método de Robertson & Preisler (1992), utilizando como referência a formulação Sperto. Estimativas significativas se o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0 (ROBERTSON et al., 2007).

**Tabela 7:** Parâmetros das curvas de concentração-mortalidade estimados para a população Eh-6 de *Euschistus heros* após 96h de exposição aos inseticidas. Nota = n, Número de adultos; GL, graus de liberdade; EP, erro padrão; CL, concentração letal em g de i.a. /mL; e  $\chi^2$ , qui-quadrado.

Inseticida	N	GL	Inclinação $\pm$ EP	CL <sub>50</sub> (IC <sub>95%</sub> )	PR <sub>50</sub> (IC <sub>95%</sub> ) <sup>a</sup>	$\chi^2$
Sperto	318	5	4,54 $\pm$ 0,83	0,011 (0,008-0,015)	-	5,55
Connect <sup>®</sup>	278	5	1,92 $\pm$ 0,29	0,078 (0,041-0,122)	6,8 (0,2-181,6)	5,3
Engeo Pleno <sup>™</sup> S	360	6	1,84 $\pm$ 0,25	0,029 (0,020-0,039)	2,6 (0,1-69,7)	4,14
Fastac <sup>®</sup> Duo	360	6	1,48 $\pm$ 0,19	0,068 (0,044-0,094)	5,9 (0,3-131,8)	5,67
Galil <sup>®</sup> SC	258	4	2,59 $\pm$ 0,55	0,048 (0,024-0,079)	4,2 (0,1-178,2)	5,34
Hero <sup>®</sup>	321	5	1,71 $\pm$ 0,23	0,128 (0,053-0,215)	10,9 (0,5-239,7)	10,3
Klorpan 480 EC	321	5	3,27 $\pm$ 0,41	0,141 (0,117-0,167)	14,1 (0,6-261,0)	0,85
Perito 970 SG	220	3	2,18 $\pm$ 0,43	0,548 (0,329-0,753)	47,1 (2,5-880,4) *	2,01
Sumithion <sup>®</sup> 500 EC	361	6	5,10 $\pm$ 0,82	0,077 (0,060-0,096)	6,7 (0,2-181,6)	6,62

\*PR, potência relativa e intervalo de confiança a 95%, calculados pelo método de Robertson & Preisler (1992), utilizando como referência a formulação Sperto. Estimativas significativas se o intervalo de confiança não incluiu o valor 1,0 (ROBERTSON et al., 2007).

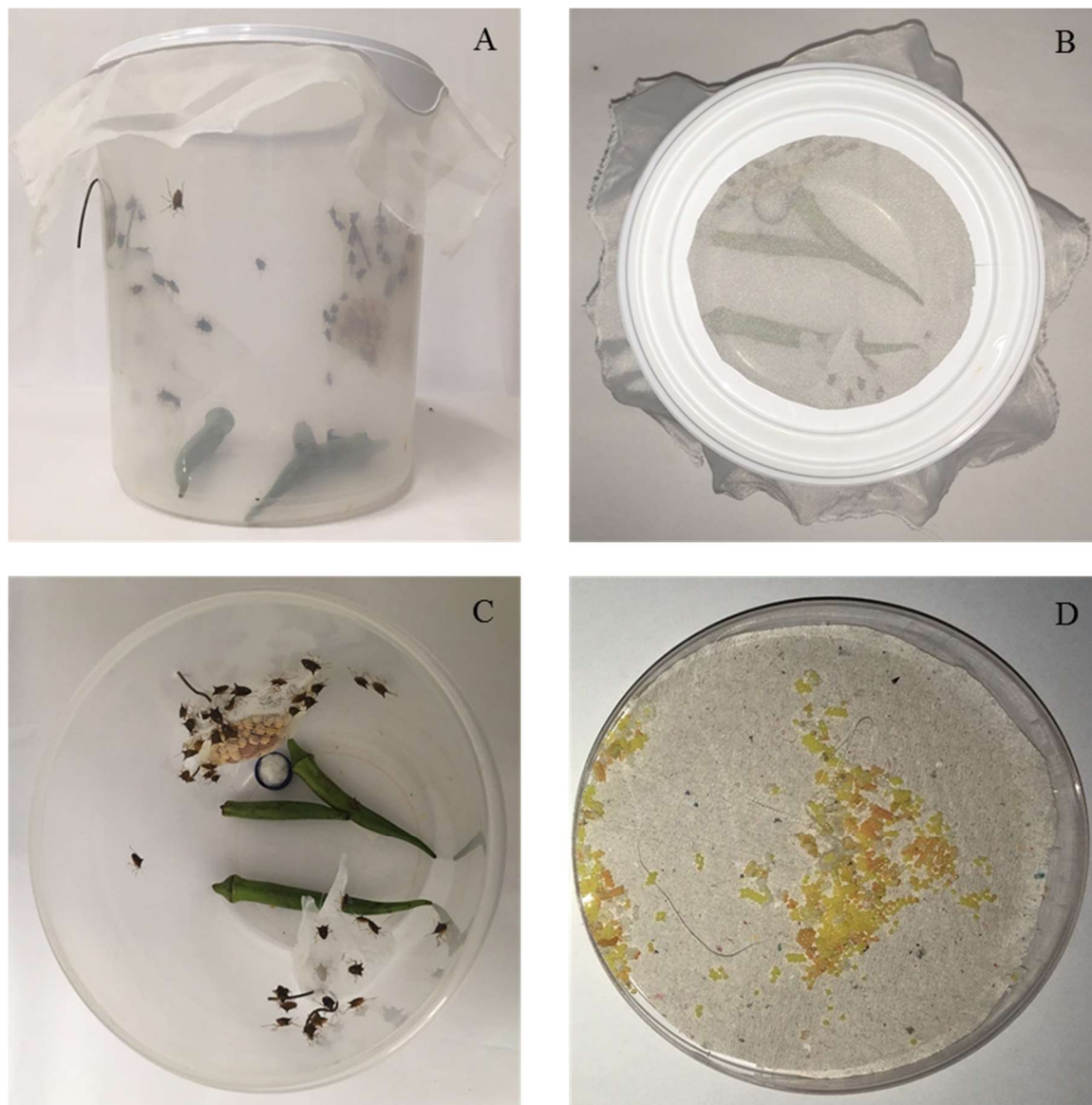
**Tabela 8:** Médias ( $\pm$  EP) da mortalidade de adultos da população Eh-1 de *Euschistus heros* às dosagens recomendadas das formulações contendo inseticidas piretroides quando previamente tratados ou não com S, S, S-tributiltrifosforotritioato (DEF) após 48 e 96h de exposição.

Inseticidas	48h		96h	
	Sem DEF	Com DEF	Sem DEF	Com DEF
Connect <sup>®</sup>	67,7 $\pm$ 3,94 b	94,6 $\pm$ 2,44 a	61,1 $\pm$ 3,79 B	95,9 $\pm$ 4,11 <sup>a</sup>
Engeo Pleno <sup>™</sup> S	93,7 $\pm$ 3,18 a	98,4 $\pm$ 1,61 a	91,1 $\pm$ 2,77 A	98,2 $\pm$ 1,76 A
Fastac <sup>®</sup> Duo	10,6 $\pm$ 2,96 b	96,8 $\pm$ 2,07 a	41,1 $\pm$ 7,78 B	100,0 $\pm$ 0,00 A
Galil <sup>®</sup> SC	79,6 $\pm$ 4,56 a	63,1 $\pm$ 7,24 a	82,8 $\pm$ 3,65 A	75,3 $\pm$ 9,33 A
Hero <sup>®</sup>	29,6 $\pm$ 5,93 b	100,0 $\pm$ 0,00 a	28,9 $\pm$ 5,02 B	100,0 $\pm$ 0,00 A
Sperto	100,0 $\pm$ 0,00 a	96,3 $\pm$ 3,74 a	100 $\pm$ 0,00 A	95,9 $\pm$ 4,12 A

Médias seguidas da mesma letra minúscula (48h) e maiúscula (96h) na linha não diferem entre si pelo teste t ( $P > 0,05$ ).



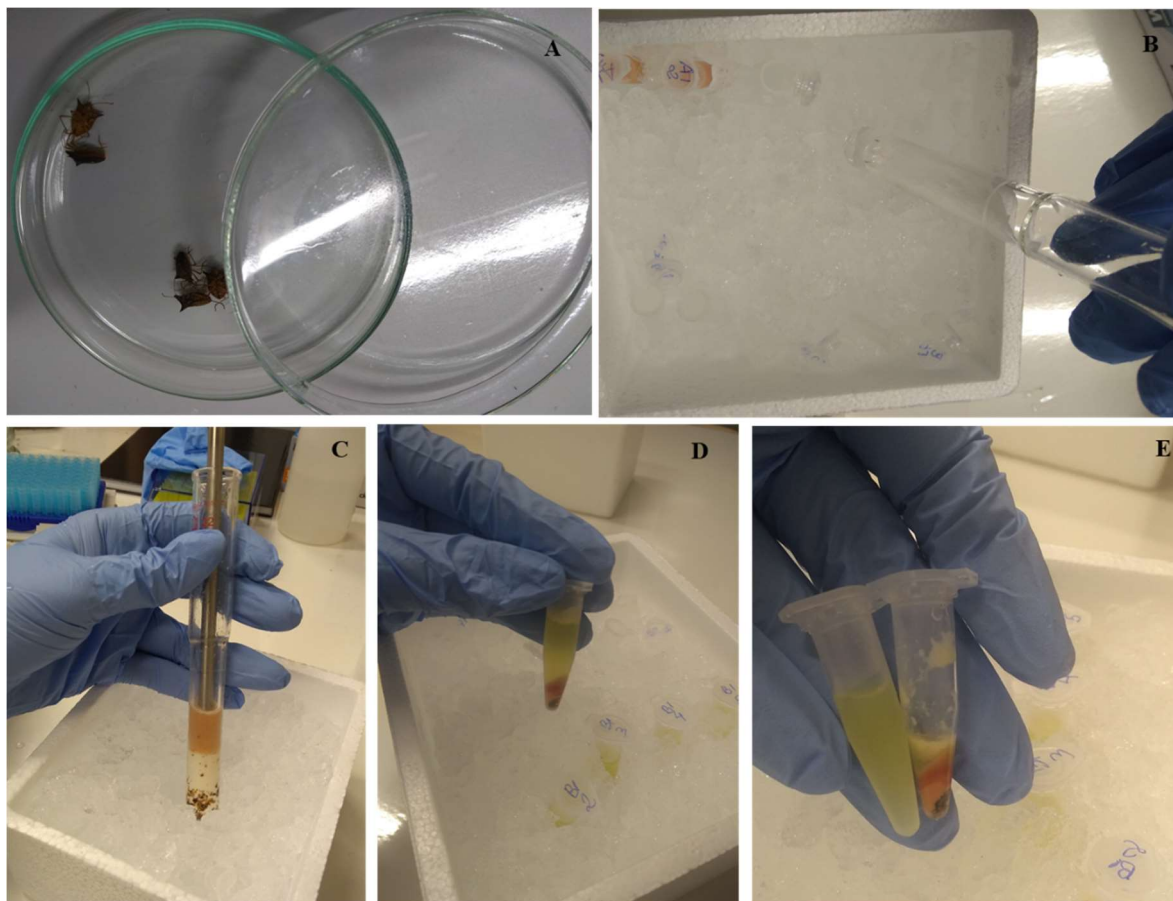
**Figura 2:** Coleta manual de ovos, ninfas e adultos de *Euschistus heros* (esquerda) e detalhe do pano de batida (direita) em plantio de soja localizado no município de Rio Verde – GO.



**Figura 3:** Gaiolas de criação de adultos (A), vista superior com detalhe da tampa (B), interior da gaiola (C) e placa de Petri com ovos (D) de *Euschistus heros* do Laboratório de Entomologia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

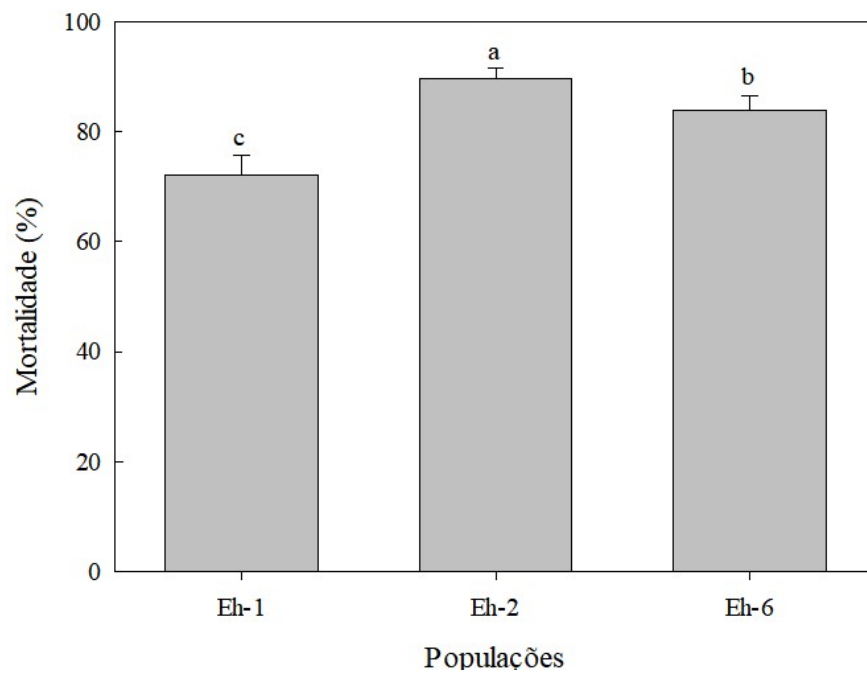


**Figura 4:** Caixas de criação de ninfas (A), vista superior com detalhe da tampa (B), ninfa de primeiro instar no quiabo (C), interior da caixa com ninfas e adultos (D) de *Euschistus heros* do Laboratório de Entomologia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

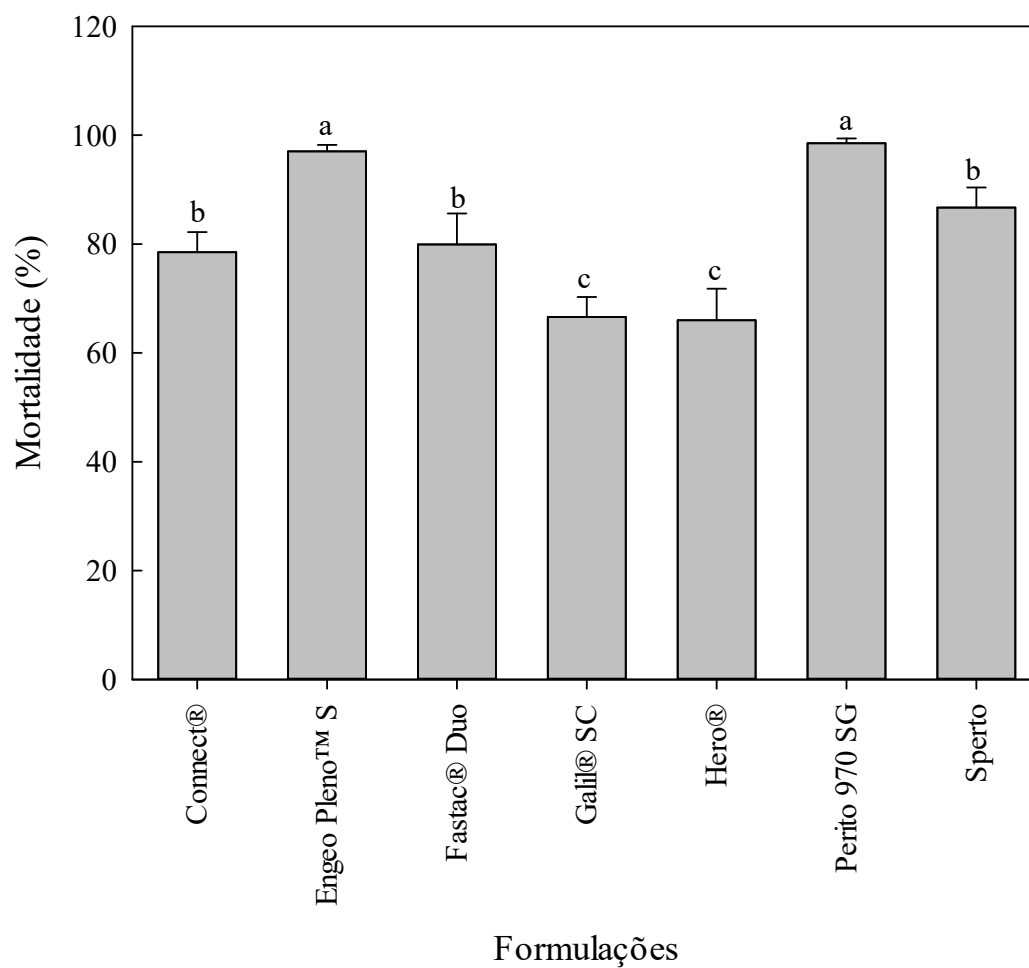


**Figura 5:** Extração de enzimas de *Euschistus heros* para a realização dos ensaios *in vitro*. Adultos do percevejo marrom após 10 min no freezer (A), tubos de vidro contendo solução tampão e insetos (B), tubo de vidro contendo percevejos homogeneizados em tampão (C); tubo eppendorf<sup>®</sup> contendo a amostra de enzimas após a centrifugação (D) e tubo eppendorf<sup>®</sup> contendo o sobrenadante (E).

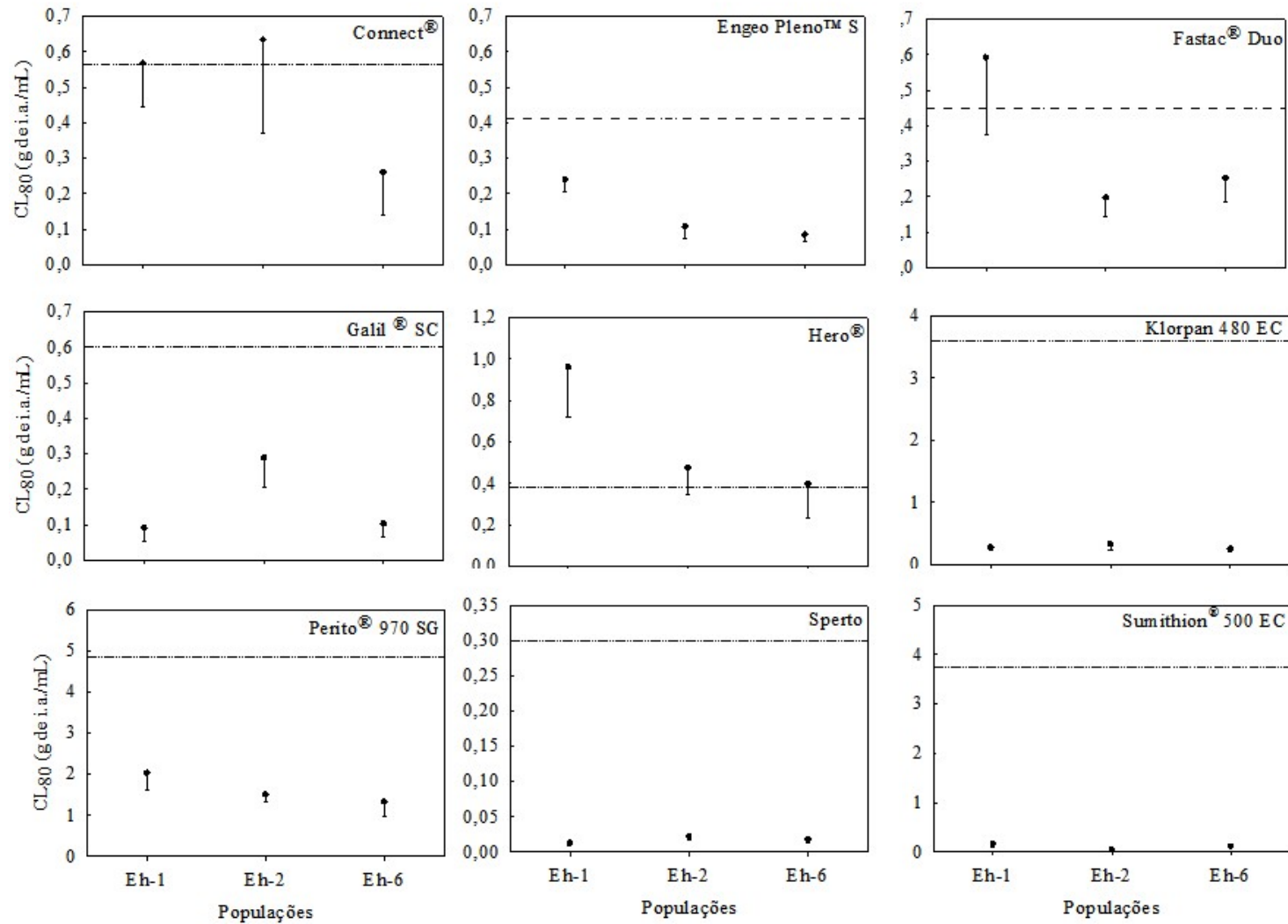




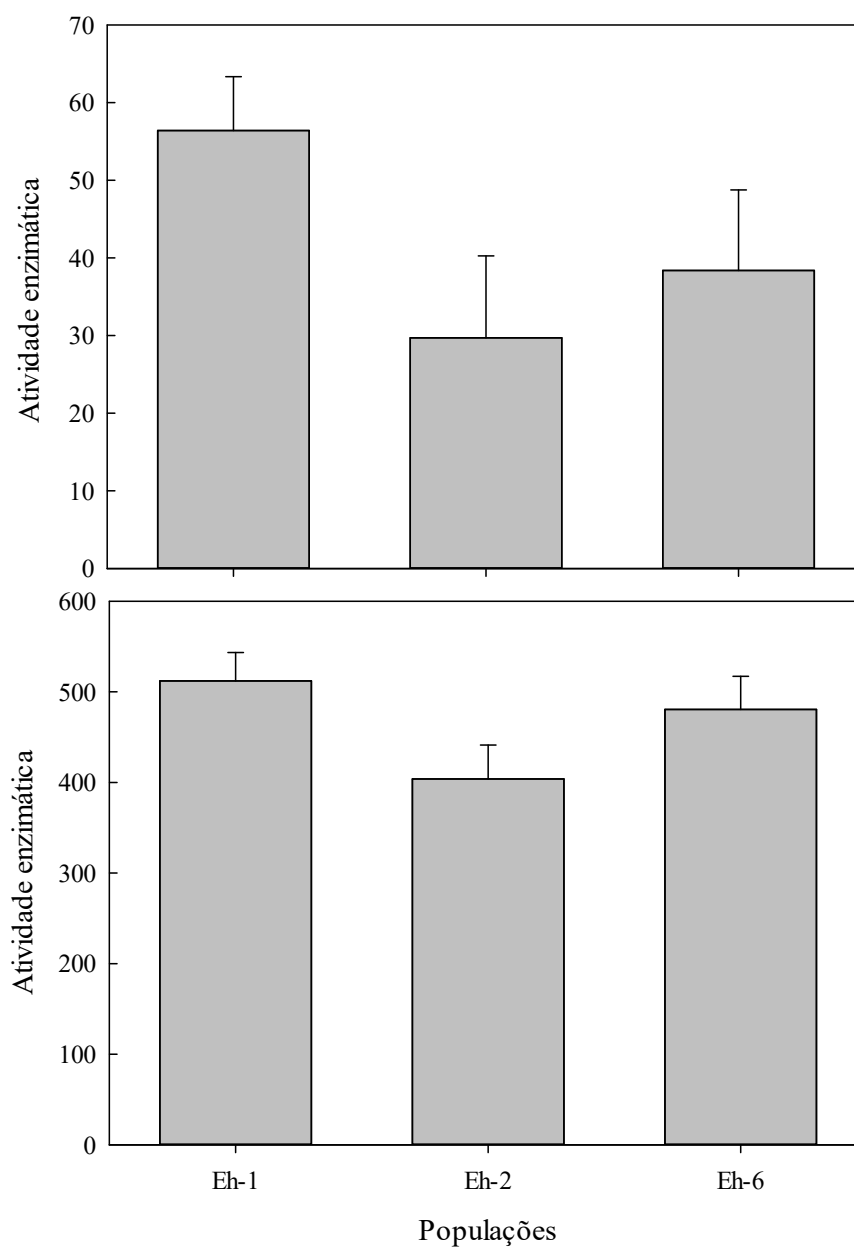
**Figura 6:** Médias de mortalidade ( $\pm$  EP) das populações de *Euschistus heros*, independente das formulações de inseticidas recomendados na cultura da soja no Brasil.



**Figura 7:** Médias de mortalidade (+ EP) ocasionadas por sete formulações de inseticidas registradas para controle de *Euschistus heros* na cultura da soja.



**Figura 8:** Concentração letal (CL<sub>80</sub>) das populações de *Euschistus heros* e nove formulações de inseticidas registradas para controle desta espécie na cultura da soja. Nota: linha pontilhada corresponde a dosagem recomendada de cada formulação.



**Figura 9:** Médias (+EP) da atividade enzimática ( $\mu\text{M}/\mu\text{g}$  de proteína/min) de Carboxilesterase do tipo B (A) e Glutathione-S-transferase (B) para as populações de *Euschistus heros*. Os substratos utilizados foram  $\beta$ -naftil acetato e 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB), respectivamente. Nota: Barras seguidas da mesma letra não diferem, entre populações para a mesma enzima, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

#### 4. CONCLUSÃO GERAL

- Populações de *E. heros* apresentam tolerância diferencial a inseticidas;
- A formulação Sperto apresenta potencial para controle de populações de *E. heros*;
- Falhas futuras de controle poderão ser observadas quando utilizadas as formulações Connect<sup>®</sup>, Hero<sup>®</sup>, Fastac<sup>®</sup> Duo e Galil<sup>®</sup> SC;
- Indica-se parcimônia no uso das formulações Connect<sup>®</sup>, Hero<sup>®</sup>, Fastac<sup>®</sup> Duo e Galil<sup>®</sup> SC a fim de evitar/reduzir a evolução de resistência a estes inseticidas.