

CÉLIA DE JESUS PEREIRA FREITAS

**RESISTÊNCIA DE POPULAÇÕES DO CARUNCHO DO MILHO A
INSETICIDAS FOSFORADOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Entomologia, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL

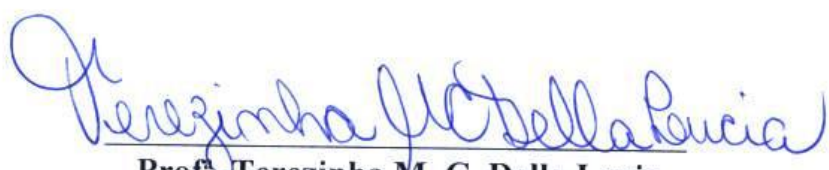
2007

CÉLIA DE JESUS PEREIRA FREITAS

**RESISTÊNCIA DE POPULAÇÕES DO CARUNCHO DO MILHO A
INSETICIDAS FOSFORADOS**

Dissertação apresentada a
Universidades Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Entomologia, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de julho de 2007.



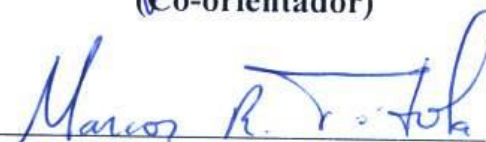
Prof. Terezinha M. C. Della Lucia
(Co-orientador)



Dr. Eliseu José G. Pereira
(Co-orientador)



Prof. Simon Luke Elliot



Prof. Marcos Rogério Tótola



Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes
(Orientador)

Ao Deus que me concedeu a vida;
ofereço.

A meus pais, Jesus e Terezinha, meus exemplos;
A meus irmãos-amigos, Adalgisa, Arivelton, Deyziane e Franklin;
Ao Rogério, meu grande e eterno amor;
Aos meus amigos, meu incentivo;
Dedico.

AGRADECIMENTOS

O início e o desfecho do presente trabalho não seria realidade em minha vida não fosse o apoio, a ajuda e até o sacrifício de pessoas que sempre torceram por mim. Desse modo, quero e preciso agradecer, em primeiro lugar a Deus, que me concedeu a vida, a força e a luz necessária para conseguir trilhar meu caminho.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos e através deste, agradeço a todo povo brasileiro, que custearam essas e tantas outras bolsas, contribuindo assim para o progresso da pesquisa em nosso país. À Dow Agrosience e à Sumitomo, pela gentil concessão dos produtos utilizados para a realização desse trabalho.

Agradeço à Universidade Federal de Viçosa, centro de excelência em ensino, pesquisa e extensão, por meio da qual posso agora concluir esse curso. Ao Programa de Pós-graduação em Entomologia, especialmente na pessoa do Coordenador do curso Prof. Angelo Pallini, que com muito zelo, faz com que esse curso seja referência para muitos outros centros de ensino e pesquisa. Gostaria de agradecer, ainda, aos mestres do referido programa, que estiveram sempre à disposição e pela contribuição em minha formação profissional e pessoal. Aos funcionários da entomologia, Dona Paula, que é

como uma mãe para todos os estudantes de pós-graduação da Entomologia; à Miriam, Samir, sempre tão solícitos e amáveis em todos os momentos.

Agradecimentos especiais não podem deixar de serem feitos ao Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes, muito mais que um orientador, sempre um amigo, com quem se pode contar. Agradeço pela orientação, pela acolhida em seu laboratório e pela disponibilidade e atenção na orientação durante esse curso, pela contribuição na minha formação profissional, pelos ensinamentos valiosos e pela paciência.

Aos meus co-orientadores, Prof.^a Terezinha Maria Castro Della Lucia e Dr. Eliseu José Guedes Pereira, pela amizade, paciência, disponibilidade e atenção, valiosos conselhos e ensinamentos enriquecedores, os quais serão levados, com certeza, por toda a minha vida. Agradeço pela contribuição na formação do meu caráter profissional e pessoal; pela visão que me mostraram de mim mesma, provando sempre que se pode ir um pouco mais além do que às vezes pensamos poder. Além disso, agradeço pelas contribuições valiosas para a concretização deste trabalho.

Aos colegas, que se tornaram grandes amigos, do laboratório de Ecofisiologia e Ecotoxicologia de Insetos: Fábio, Luciana, Nelsa, Rúbia, e muito especialmente ao Erick, Geraldo, Alberto e Júlia. Agradeço pelo companheirismo, brincadeiras, discussões e contribuições feitas a esse trabalho, enriquecendo-o ainda mais. Agradeço, ainda, aos colegas de curso, cuja convivência foi muito importante e agradável durante todo o mestrado, em especial, aos queridos amigos: Hamilton, Claudinei, Denise, pessoas com as quais pude contar não importava a hora e nem lugar e que sempre guardarei em lugar de muito carinhoso afeto. Agradeço ao Dr. Hamilton e ao Dr. Anderson por me mostrarem o mundo maravilhoso da entomologia, quando ainda era recém ingressa nessa mesma instituição. Às minhas amigas do coração, Adalgisa, Deyziane, Paula, Denise, Gláucia, Terezinha, Conceição, das quais sempre me

lembrarei com ternura e carinho. Agradeço a tantos outros não citados, mas nem por isso menos importante, cabendo a cada um deles lugar especial na minha vida.

Agradeço àqueles que mesmo antes que eu existisse já me amavam e não mediram esforços para que eu tivesse sempre o melhor; agradeço pela compreensão, pelo carinho, pelo apoio, pelo cuidado, pela formação do meu caráter e principalmente pelo amor dispensado: meus pais queridos, Jesus e Terezinha. Aos meus irmãos amados, Arivelton, Adalgisa, Franklin e Deyziane, por serem meus companheiros, meus amigos; obrigada por encherem minha vida de alegria, desde muito cedo. O meu muito obrigado a esta família maravilhosa!

Finalmente, agradeço a uma pessoa que me mostrou que era possível realizar esse e tantos outros sonhos; que me apoiou quando eu enfraqueci; àquele que me dispensou amor e respeito; àquele que sempre confiou em mim e que sempre fez questão de tornar a minha vida muito mais alegre, meu grande e eterno amor: Rogério.

A todos que de alguma forma contribuíram para minha formação e para a realização desse trabalho.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Célia de Jesus Pereira Freitas, filha de Jesus Geraldo Pereira e Terezinha Maria de Jesus Pereira, nascida aos 29 de julho de 1980, em Minas Gerais, Brasil.

Em abril de 2001 ingressou na Universidade Federal de Viçosa, iniciando o curso de Engenharia Florestal. Foi bolsista de iniciação científica do CNPq, durante o período de maio de 2003 a fevereiro de 2004, na EPAMIG – CTZM e da Fapemig, no período de março de 2004 a junho de 2004, sob a orientação da Dra. Madelaine Venzon e Professor Angelo Pallini, respectivamente; graduando-se Engenheiro Florestal aos 29 de julho de 2005.

Em agosto de 2005 iniciou o curso de mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, sob a orientação do Professor Raul Narciso Carvalho Guedes, submetendo-se à defesa aos 16 de julho de 2007.

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------------|------|
| RESUMO..... | viii |
| ABSTRACT..... | x |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 01 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 05 |
| 3. RESULTADOS..... | 15 |
| 4. DISCUSSÃO..... | 31 |
| 5. CONCLUSÕES..... | 36 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 37 |

RESUMO

Freitas, Célia de Jesus Pereira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2007.
Resistência de populações do caruncho do milho a inseticidas fosforados.
Orientador: Raul Narciso Carvalho Guedes. Co-orientadores: Eliseu José Guedes Pereira, Terezinha Maria Castro Della Lucia e Ricardo Marius Della Lucia.

Sitophilus zeamais Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) é reconhecidamente importante pelos danos causados a grãos de milho armazenados. Essa espécie tem sido bastante estudada por responder à pressão de seleção para resistência a inseticidas, dificultando seu controle. Neste trabalho foi realizado um levantamento da resistência fisiológica e comportamental a dois inseticidas organofosforados em 15 populações de *S. zeamais* coletadas em vários estados do Brasil e no Paraguai e investigado se características corporais, metabólicas e demográficas estão associadas à resistência. Os insetos foram mantidos em laboratório e testados mediante bioensaios de concentração-mortalidade para determinação de doses letais com 48 horas de exposição. Insetos de cada população foram também submetidos a ensaios de caminhamento em superfície tratada e não-tratada com inseticida para detecção de resistência comportamental, onde foi avaliada a distância caminhada, a velocidade de caminhamento, o tempo em repouso e a proporção de tempo em que os insetos permaneceram sobre a superfície tratada.

Foram também determinados a taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), e o consumo alimentar de milho por 90 dias, além da massa corporal dos indivíduos de cada população estudada. Determinou-se ainda a produção de CO_2 como indicativo da taxa metabólica dos insetos. Os resultados dos bioensaios de concentração-mortalidade indicaram variação de suscetibilidade a clorpirifós-metílico ($\leq 6,06x$) e fenitrotiom ($\leq 7,71x$) em relação à população padrão de suscetibilidade (Sete Lagoas). Entretanto, este baixo nível de resistência não deve ser alarmante a ponto de levar a falhas de controle no campo e nem parece haver um padrão de distribuição espacial da mesma. As características comportamentais de caminhamento na área tratada variaram entre as populações, embora não pareça haver repelência pelos inseticidas. Não se detectou diferença significativa na taxa instantânea de crescimento populacional e nem na taxa respiratória dos insetos, apesar de haver diferenças de consumo alimentar e massa corporal dos insetos das diferentes populações. É importante salientar que nenhuma dessas quatro características esteve associada com a resistência a inseticidas apresentada pelas populações, indicando que a incipiente resistência aos fosforados das populações estudadas parece não estar associada a custos adaptativos. Pode-se concluir que os níveis de resistência a clorpirifós-metílico e fenitrotiom detectados neste estudo são baixos e a presença de resistência fisiológica nas populações é independente da resistência comportamental. Além disto, e até em função dos baixos níveis de resistência observados, não há indícios de custos adaptativos associados à resistência.

ABSTRACT

Freitas, Célia de Jesus Pereira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2007.
Organophosphate resistance in maize weevil populations. Adviser: Raul Narciso Carvalho Guedes. Co-advisers: Eliseu José Guedes Pereira, Terezinha Maria Castro Della Lucia and Ricardo Marius Della Lucia.

Sitophilus zeamais Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) is an important pest of stored maize because of the losses caused. This insect has been studied for responding to selection pressure for insecticide resistance, which impairs its control. In the present study, we carried out a survey of physiological and behavioral resistance to two organophosphate insecticides in 15 populations of *S. zeamais* collected in Brazil and Paraguay and investigated if differences in population growth, body size and metabolic rate were associated with the resistance. The insects were maintained in the laboratory, and concentration-mortality bioassays were conducted to determine lethal concentrations with 48 hours of exposure. Behavioral resistance was studied by recording the walking behavior on insecticide-treated and untreated surfaces and determining the distance walked, speed, resting time, and proportion of time spent on the treated surface. The instantaneous rate of population growth (r_i) was determined, and so was the maize consumption for 90 days, body mass, and production of CO₂ as

indicative of the metabolic rate of the insects. Results of the concentration-mortality bioassays indicated variations in susceptibility to methyl clorpiriphos ($\leq 6,06x$) and fenitrothion ($\leq 7,71x$) relative to the standard susceptible population (Sete Lagoas), but these resistance levels are low and should not cause control failures in the field. The walking behavior on treated surfaces also varied among the populations, but no clear evidence of repellency was detected and no significant correlation was observed between physiological and behavioral resistance. The instantaneous rate of population increase and the respiratory rate were similar among the populations although there were differences in food consumption and body mass of the insects. Importantly, none of these four traits correlated with organophosphate resistance in the populations studied, suggesting absence of detectable fitness costs. We can conclude that the levels of resistance to methyl clorpiriphos and fenitrothion are low, and the physiological resistance in these populations is independent of the behavioral resistance. Furthermore, and even due to the low levels of organophosphate resistance detected, no fitness costs associated with insecticide resistance seems to occur.

1. INTRODUÇÃO

Produtos armazenados sofrem ataque de uma ampla gama de organismos, tais como fungos e insetos, sendo que as perdas causadas chegam a 15% do peso total (Santos *et al.*, 1986). As duas ordens de insetos com maior número de representantes causadores de danos em grãos armazenados são Lepidoptera e Coleoptera. As espécies mais comumente encontradas são os lepidópteros *Sitotroga cerealella* (Gelechiidae) e *Plodia interpunctella* (Pyralidae) e os coleópteros *Rhyzopertha dominica* (Bostrichidae); *Tribolium castaneum* e *T. confusum* (Tenebrionidae); *Cryptolestes pusillus* e *C. ferrugineum* (Cucujidae); *Oryzaephilus surinamensis* (Silvanidae); *Sitophilus granarium*, *S. oryzae* e *S. zeamais* (Curculionidae), entre outros (Guedes, 1991; Lorini *et al.*, 1999).

Destes, *S. zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae), o caruncho do milho, é reconhecidamente uma praga cosmopolita, de ampla ocorrência em grandes silos e é reportado causando danos em grãos armazenados e até na viticultura da região sul do Brasil (Rossetto, 1969; Throne, 1994; Danho *et al.*, 2002; Botton *et al.*, 2005). Por causar grandes perdas econômicas, o controle destas pragas de grãos armazenados

torna-se imprescindível. O método químico de controle é o mais utilizado devido à sua maior eficiência e menor custo, o qual é feito predominantemente mediante a utilização de inseticidas, tais como piretróides e organofosforados (Guedes, 1990, 1991). A utilização massiva e intensa destes produtos pode levar à seleção de populações resistentes e conseqüentemente, à diminuição da eficiência de controle (Brattsten *et al.*, 1986; Feyereisen, 1995; Guedes & Fragoso, 2000).

Resistência pode ser definida como uma alteração genética apresentada por alguns organismos possibilitando a sua sobrevivência frente à doses letais para a maioria dos indivíduos de uma população normal (OMS, 1957). Pode-se dizer que a resistência leva a uma diminuição da resposta de uma população de espécie de plantas, microrganismos e/ou animais a um pesticida ou agente de controle como resultado da sua aplicação (Rosenhein, 1987). A resistência é o maior obstáculo no controle de pragas e resulta no aumento na freqüência de aplicação e na dose de pesticidas (Mullin & Scott, 1992). Um determinado organismo pode apresentar resistência cruzada ou resistência múltipla. Resistência cruzada ocorre quando um indivíduo é resistente a dois ou mais inseticidas simultaneamente, sendo atribuída a um mesmo mecanismo. Já a resistência múltipla ocorre quando um organismo apresenta resistência a diferentes inseticidas em decorrência da co-existência de diferentes mecanismos, tais como bioquímicos, fisiológicos e comportamentais (Brattsten *et al.*, 1986; Rosenhein, 1987).

Mecanismos bioquímicos estão relacionados ao aumento da destoxificação metabólica resultante da ação de enzimas destoxificativas. As principais enzimas destoxificativas envolvidas na resistência a inseticida são monooxigenases dependentes de citocromo P450, esterases (carboxilesterases e fosfotriesterases) e glutathione-S-transferases (Sonderlund & Bloomquist, 1990; Scott, 1990; McKenzie, 1996). Outro

tipo de mecanismo bioquímico de resistência é a redução da sensibilidade do sítio de ação do inseticida (alteração da molécula alvo) (Liu & Pridgeon, 2002).

Mecanismos fisiológicos são aqueles que envolvem redução da penetração do inseticida na cutícula do inseto, seqüestro de substâncias tóxicas e aumento na taxa de excreção. O gene *pen* confere resistência ao metoxicloro, diminuindo a taxa de penetração deste produto pelo exoesqueleto, conferindo alta resistência à mosca doméstica; outro gene que confere resistência baseada em mecanismo fisiológico é o da *esterase EA*, que seqüestra substâncias tóxicas no pulgão verde, *Myzus persicae* (Sonderlund & Bloomquist, 1990; Scott, 1990; McKenzie, 1996).

Mecanismos comportamentais estão relacionados à capacidade do inseto de evitar exposições letais ao composto (Bloomquist & Miller, 1985; French-Constant, 1994; Lorini & Galley, 1998). Mecanismos comportamentais pode ser estímulo-independentes, em que pode ocorrer xenofobia, ou pode ser estímulo-dependentes, quando ocorre irritabilidade, como no caso de moscas do chifre que apresentam irritação quando na presença de deltametrina e cipermetrina, sendo altamente resistentes a piretróides (McKenzie, 1996).

A presença de um ou mais mecanismos que conferem resistência acarreta geralmente custo para a população que o possua, em virtude da necessidade de adaptação dos indivíduos a um novo ambiente (grãos tratados com inseticidas, no caso de carunchos) (Coustau *et al.*, 2000, Raymond *et al.*, 2001). Essa adaptação é conferida por genes usualmente associados a este custo adaptativo, principalmente porque podem estar em desvantagem em relação ao ambiente cuja pressão de seleção seja diferente (Coustau *et al.* 2000, Berticat *et al.* 2002). Esta idéia se baseia no princípio de realocação de recursos, ou seja, processos metabólicos ou de desenvolvimento são afetados, diminuindo o potencial reprodutivo do organismo (Berticat *et al.*, 2002).

Entretanto, observam-se na literatura casos em que uma população apresenta resistência, mas não custo adaptativo associado a ela por serem capazes de mitigar danos causados por inseticidas, como relatado para o besouro vermelho das farinhas *Tribolium castaneum* e o mosquito *Culex pipiens* (Beeman & Nanis, 1986; Haubruge & Arnaud, 2001; Raymond *et al.*, 2001).

Estudos sobre resistência são importantes para seu manejo e a existência de custo adaptativo pode ser útil na mitigação de surtos de resistência (Roush & McKenzie, 1987; McKenzie & Batterham, 1994; Haubruge & Arnaud, 2001). Levantamentos de resistência a determinado grupo de inseticidas podem auxiliar na escolha de produtos eficientes no controle de populações de insetos-praga. Alguns levantamentos, como os realizados por Perez-Mendoza (1999) e Ribeiro *et al.* (2003) para o caruncho do milho, mostraram variação na resistência a piretróides. São ainda escassos os levantamentos de ocorrência de resistência a inseticidas em populações brasileiras de insetos de produtos armazenados (Ribeiro *et al.*, 2003). Portanto objetivou-se no presente trabalho realizar um levantamento da resistência a inseticidas organofosforados em populações de *S. zeamais*, uma vez que este constitui um grupo eficaz e importante de inseticidas que não foi alvo de estudos nos últimos anos. Além deste levantamento, buscou-se a verificação de ocorrência de resistência comportamental, bem como sua correlação com o grau de resistência das populações. Investigou-se ainda o desempenho metabólico e demográfico dos insetos de todas as populações relacionando-os ao nível de resistência, na tentativa de detectar possíveis custos adaptativos associados ao fenômeno.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Insetos

Foram utilizadas 15 populações de *S. zeamais* coletadas nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, São Paulo, Santa Catarina, além de uma proveniente de Pedro Juan Caballero, Paraguai (Figura 1). As populações foram multiplicadas a partir dos insetos coletados em armazéns nestas regiões, sendo as criações mantidas em recipientes de vidro de 1,5 L dentro de câmaras climáticas tipo B.O.D., sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade relativa ($70 \pm 10\%$). A população utilizada como padrão de suscetibilidade vem sendo criada em laboratório por cerca de quinze anos na ausência de inseticidas. Esta população foi coletada na Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa em Milho e Sorgo (CNPMS), localizada em Sete Lagoas, Minas Gerais. As populações de Jacarezinho e Juiz de Fora apresentam altos níveis de resistência a inseticidas piretróides ($> 100x$) (Fragoso *et al.*, 2007; Guedes *et al.*, 1995).

Na alimentação das populações, foram utilizados grãos de milho mantidos sob refrigeração para evitar infestação. Os grãos de milho eram retirados previamente do

freezer para se proceder à alimentação das populações com grãos que estivessem à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C).

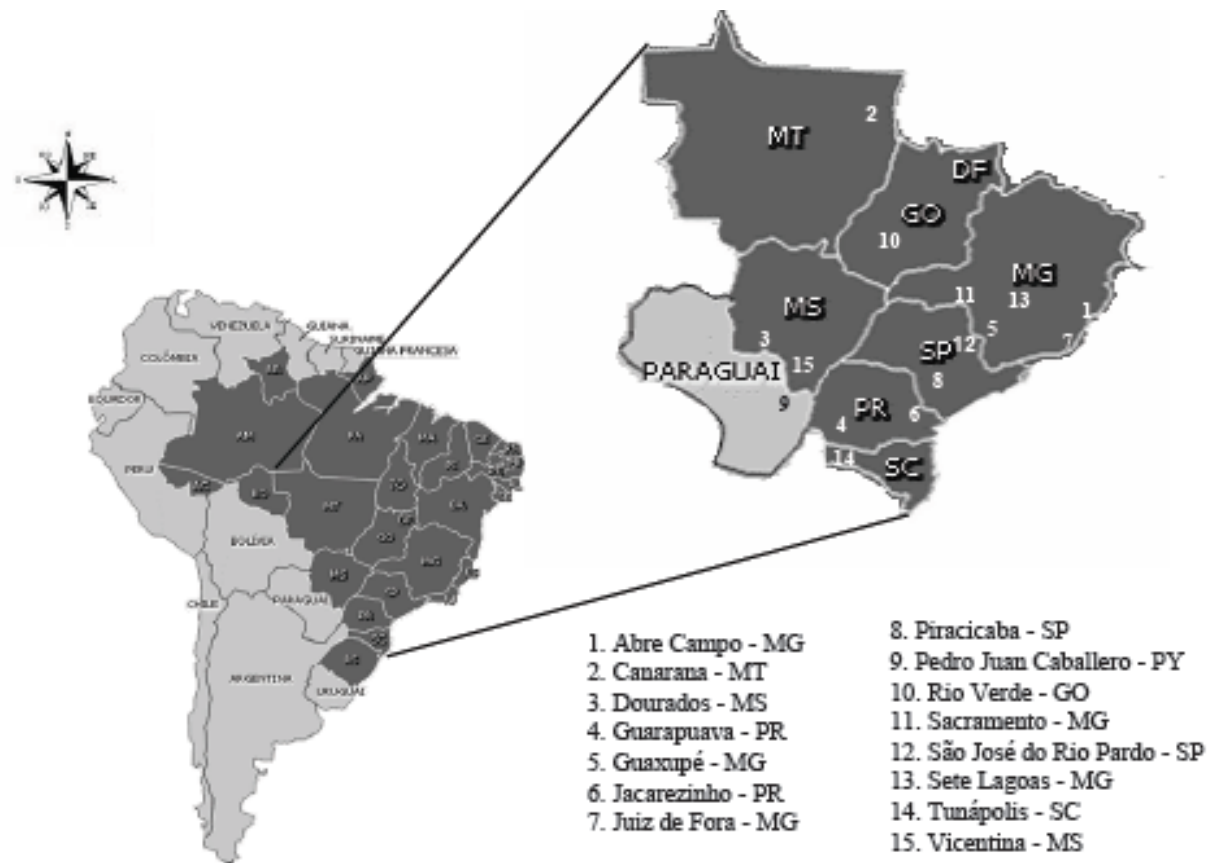


Figura 1- Locais de coleta de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) nos estados brasileiros e Paraguai.

3.2. Bioensaios de detecção de resistência

Os ensaios foram conduzidos em laboratório sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa $70 \pm 10\%$. O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco repetições contendo 20 insetos cada, além da testemunha que foi exposta apenas ao solvente acetona.

Os inseticidas, clorpirifós-metílico (96%, Dow Agrosiences, São Paulo, SP, Brasil) e fenitrotiom (96,8%, Sumitomo, São Paulo, SP, Brasil), foram utilizados em grau técnico. Para se preparar uma solução estoque com concentração a 100 mg/mL do ingrediente ativo, pesou-se, em balança de precisão, a massa do produto em proveta de 10 mL e o volume final foi completado com acetona (solvente) para 10 mL. A partir desta solução foram preparadas diluições seriadas, obtendo-se assim, diferentes concentrações.

Testes preliminares foram realizados para se determinar a faixa de resposta, ou seja, o intervalo de concentrações do inseticida que causa mortalidades superiores a zero, mas inferiores a 100%. Nestes testes, frascos de vidro cilíndricos e transparentes de 20 mL, com área interna equivalente a $35,4 \text{ cm}^2$, foram tratados com 0,4 mL da solução de cada inseticida diluída em acetona, quantidade necessária para cobrir igualmente toda a parede do frasco para cada concentração, em três repetições. Os frascos foram colocados em rotor (Roto-Torque, Cole Parmer Instruments Company, modelo 7637, Connecticut, EUA) para que o princípio ativo fosse distribuído uniformemente por toda a superfície interna do frasco, além de proceder à completa evaporação do solvente. Vinte insetos adultos não-sexados foram então expostos ao resíduo seco do inseticida por um período de 48 horas. Após este período avaliou-se a mortalidade proporcionada pelas concentrações dos respectivos inseticidas utilizados, além da testemunha (onde apenas o solvente foi utilizado). O período de 48 horas foi

adotado para evitar problemas de espalhamento do inseticida na parede do frasco de vidro quando se utiliza concentrações mais altas, podendo-se assim, aumentar o tempo de exposição e diminuir proporcionalmente as concentrações utilizadas.

Após a realização dos testes preliminares, procedeu-se à realização do bioensaio para a detecção da resistência, que consistiu de cinco repetições por tratamento (concentração). Foram aplicadas de cinco a dez concentrações de inseticida com base na faixa de resposta das populações obtida nos testes preliminares, seguindo o mesmo método acima descrito e mantendo-se os frascos em câmaras climáticas tipo B.O.D., com temperatura de 25 ($\pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa de 70 ($\pm 10\%$).

3.3. Bioensaio para detecção da resistência comportamental

Foram utilizadas placas de Petri (9 cm de diâmetro), cujas paredes foram cobertas com teflon para evitar escape de insetos. Discos de papel-filtro (9 cm de diâmetro) foram embebidos com 1 mL de solução inseticida em acetona na concentração correspondente à CL_{95} dos inseticidas para a população padrão de suscetibilidade. Os discos foram deixados por cinco minutos sob uma capela de exaustão até a completa secagem. O controle foi feito com a adição de 1 mL de acetona por disco de papel-filtro. O disco usado para controle foi colado com cola branca (base de resina sintética e água) (Göller, China) no fundo da placa de Petri e metade do disco tratada com a solução da CL_{95} foi colada por cima do disco controle e mantida na metade da placa (Figura 2). Este sistema foi levado ao Videomex-One (versão 2.43, Columbus Instruments, Ohio, EUA), aparelho que consiste de uma câmera e um sistema fechado de vídeo, um computador com o software Videomex-One para gravar as informações a serem obtidas. A placa de Petri foi deixada sob a câmera de vídeo, onde o centro da placa, dividida entre metade tratada e metade não tratada, foi alinhado de acordo com o mapa do software utilizado, convencionando-se o lado tratado de “T” e o

lado não tratado de “NT”. Transferiu-se, então, um inseto adulto, não-sexado, à placa e a distância caminhada, o tempo de caminhada e o tempo de repouso (em cada lado da arena (tratada – “T” e não tratada – “NT”) foram gravados por trinta minutos, em três sessões de dez minutos. Antes de se iniciar a gravação, após a colocação do inseto na placa, esperou-se 1 minuto até que o inseto fizesse um reconhecimento da arena de caminhada. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com 20 repetições para cada população e para cada inseticida, onde cada repetição constituiu-se de um único inseto e a cada repetição a placa de Petri e os papéis-filtro foram trocados. O lado em que o inseto foi adicionado a cada repetição foi definido aleatoriamente.

A concentração discriminatória de cada inseticida, CL_{95} , utilizada para todas as populações, foi obtida no bioensaio anterior para detecção da resistência por meio das curvas de concentração-mortalidade para a população padrão de suscetibilidade proveniente de Sete Lagoas. Esta concentração de inseticida utilizada nos testes comportamentais não é letal aos insetos para o período de exposição utilizado, como determinado em avaliações preliminares.

Os testes para detecção da resistência comportamental de *S. zeamais* foram realizados em sala cuja temperatura média foi de 28,8°C, entre 7 e 22 horas.

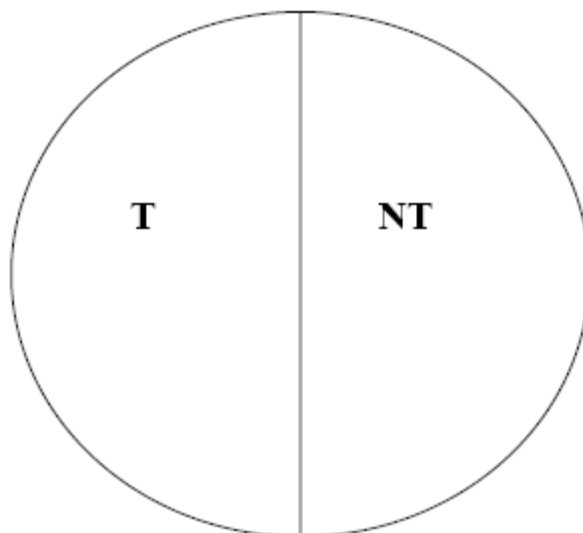


Figura 2 - Arena de caminamento de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) com lado tratado (T) e lado não tratado (NT), no teste com o Videomex-One.

3.4. Taxa Instantânea de Crescimento Populacional (r_i)

O ensaio de taxa de crescimento populacional (r_i) foi conduzido utilizando-se potes de vidro com capacidade de 1,5 L contendo insetos de cada população de *S. zeamais* e grãos de milho de umidade conhecida. Para se obter insetos de mesma faixa de idade, o milho no qual era mantido cada população foi peneirado para retirada de todos os adultos presentes. Após quinze dias, as progênes obtidas foram utilizadas para montagem do experimento. Cinquenta insetos adultos não-sexados foram retirados e colocados em novos potes de vidro que continham 250 g de milho com 14,4% de umidade (base úmida) e livres de infestação. Esses potes foram vedados com a própria tampa contendo um orifício no centro, o qual era fechado com tecido tipo organza de modo a permitir as trocas gasosas. O experimento foi conduzido em blocos casualizados com três repetições para cada uma das 15 populações. A avaliação foi feita aos 90 dias após a adição dos insetos aos frascos. O número de insetos vivos e mortos, a massa corporal desses últimos e o peso final da massa de grãos foram registrados. O teor de umidade dos grãos ao final do experimento estava em torno de 13,6% na base úmida. A

determinação da umidade da massa de milho ao início e ao final do experimento fez-se necessário para se obter a perda de massa de água e assim obter apenas a perda devido ao consumo dos insetos.

A taxa instantânea de crescimento de crescimento populacional (r_i) foi calculada utilizando-se a equação a seguir, proposta por Whalhall e Stark (1997).

$$r_i = \frac{\left[\ln \left(\frac{N_f}{N_i} \right) \right]}{\Delta T}$$

Onde:

r_i = Taxa instantânea de crescimento populacional;

N_f = Número final de insetos;

N_i = Número inicial de insetos;

ΔT = Variação de tempo (número de dias em que o ensaio foi realizado).

3.5. Ensaio Respirométricos

A metodologia empregada para este ensaio foi adaptada de Guedes *et al.* (2006), em que se utilizou um respirômetro tipo CO₂ Analiser TR 2 (Sable System International, Las Vegas, EUA).

Foram utilizadas três repetições de 20 insetos adultos e não-sexados de cada população, devidamente acondicionados em câmaras com capacidade volumétrica de 25 mL conectadas a um sistema completamente vedado. As câmaras foram mantidas conectadas ao sistema por um período de 2 horas e 54 minutos antes da mensuração da quantidade de CO₂ produzido pelos insetos. Para realizar a varredura de todo o CO₂ produzido no interior de cada câmara, foi realizada a passagem de ar isento de CO₂, a um fluxo de 400 mLmin⁻¹ por um período de dois minutos. Esta corrente de ar fez com que todas as moléculas de CO₂ produzidas passassem por um leitor de infravermelho acoplado ao sistema, que prontamente fez a mensuração (em $\mu\text{mol h}^{-1}$) do CO₂

produzido pelos insetos e contido no interior de cada câmara. Juntamente com a leitura do CO₂ contido em cada câmara, fez-se a leitura do CO₂ contido em uma câmara sem insetos, valor descontado do CO₂ quantificado nas câmaras onde estavam alojados os insetos. Desta maneira, pôde-se medir a quantidade de CO₂ que realmente era proveniente do metabolismo respiratório dos insetos.

3.6. Análises Estatísticas

Os resultados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit (Finney, 1971), por intermédio do procedimento PROC PROBIT do programa System of Statistical Analyses (SAS) (SAS Institute, 1997), gerando-se assim as curvas de concentração-mortalidade. Os dados de mortalidade obtidos foram corrigidos pela mortalidade que ocorreu na testemunha. Para se mensurar a magnitude da resistência das populações aos inseticidas, foi calculada a razão de resistência (RR) com base nos valores das CL₅₀ e CL₉₅ do inseticida para as populações. A razão de resistência indica quantas vezes uma população é mais resistente que a população considerada padrão de suscetibilidade.

Determinações das características comportamentais de caminamento na arena tratada foram submetidas à análise variância multivariada (PROC GLM com a especificação MANOVA; SAS Institute, 2002) e subseqüentemente submetidos à análise de variância univariada e teste de média (Teste de Tukey) (PROC GLM; SAS Institute, 2002). As pressuposições de normalidade e homogeneidade de variâncias foram obedecidas (PROC UNIVARIATE; PROC GPLOT; SAS Institute, 2002), não sendo necessária transformação dos dados.

Determinações da taxa de instantânea de crescimento populacional (r_t), da massa corporal, da perda de massa dos grãos de milho e da produção de CO₂ foram submetidas à análise de resíduo e testes de pressuposição da análise de variância (PROC

UNIVARIATE; PROC GPLOT; SAS Institute, 2002) e subsequentemente submetidos à análise de variância e teste de média (diferença mínima significativa de Fisher - LSD) (PROC GLM; SAS Institute, 2002). Realizou-se ainda análise de correlação de Pearson destas variáveis com a razão de resistência (PROC CORR; SAS Institute, 2002) para verificar a existência de associação entre elas.

4. RESULTADOS

4.1. Bioensaios de concentração-mortalidade

Os resultados dos bioensaios para clorpirifós-metílico são mostrados na Tabela 1. Dentre as populações de *S. zeamais* utilizadas nos bioensaios, a população de Sete Lagoas foi a que apresentou CL_{50} mais baixa, sendo considerada como padrão de suscetibilidade. A população que apresentou maior CL_{50} foi Juiz de Fora. A magnitude ou razão de resistência (RR) com base na CL_{50} variou de 1,60 a 6,06 vezes, sendo as populações de Pedro Juan Caballero e Canarana as mais suscetíveis e a população de Juiz de Fora a mais resistente a clorpirifós-metílico. Pelo critério de não-superposição dos limites de confiança da CL_{50} a 95 %, apenas as populações do Paraguai e de Canarana mostraram suscetibilidade semelhante à população padrão de suscetibilidade, embora os níveis de resistência de todas as populações tenham sido baixos ($< 10x$).

Tabela 1 – Suscetibilidade de 15 populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) a clorpirifós-metílico.

| População | N ¹ | Inclinação ± EPM ² | CL ₅₀ (IC 95%) ηg/cm ² | RR _{CL₅₀} | CL ₉₅ (IC 95%) ηg/cm ² | RR _{CL₉₅} | χ ² | P |
|--------------------------|----------------|----------------------------------|---|-------------------------------|---|-------------------------------|----------------|------|
| Sete Lagoas ³ | 560 | 2,00 ± 0,19 | 3,72 (3,02 - 4,7) | - | 24,66 (16,56 - 43,18) | - | 6,67 | 0,15 |
| Pedro Juan Caballero | 700 | 3,03 ± 0,28 | 5,95 (4,77 - 7,2) | 1,60 | 20,72 (16,96 - 26,64) | 0,84 | 1,21 | 0,94 |
| Canarana | 480 | 2,23 ± 0,19 | 5,95 (4,67 - 7,4) | 1,60 | 28,51 (22,27 - 38,65) | 1,16 | 4,19 | 0,24 |
| Rio Verde | 840 | 2,39 ± 0,16 | 6,42 (5,6 - 73,2) | 1,73 | 31,39 (25,44 - 40,74) | 1,27 | 8,38 | 0,29 |
| Abre Campo | 300 | 3,08 ± 0,59 | 9,07 (7,2 - 11,6) | 2,44 | 31,07 (20,89 - 70,22) | 1,26 | 0,32 | 0,98 |
| Piracicaba | 600 | 2,93 ± 0,21 | 9,42 (8,4 - 10,6) | 2,53 | 34,32 (28,32 - 43,83) | 1,39 | 3,59 | 0,46 |
| Tunápolis | 540 | 3,34 ± 0,65 | 9,51 (5,9 - 12,3) | 2,56 | 29,53 (23,61 - 43,34) | 1,20 | 3,80 | 0,43 |
| Guaxupé | 740 | 2,92 ± 0,38 | 9,95 (8,6 - 12,0) | 2,67 | 36,37 (25,86 - 63,43) | 1,47 | 3,43 | 0,75 |
| Sacramento | 460 | 3,38 ± 0,35 | 11,43 (10,1 - 12,9) | 3,07 | 35,03 (28,42 - 47,26) | 1,42 | 6,36 | 0,17 |
| Dourados | 900 | 2,36 ± 0,18 | 12,01 (10,3 - 13,9) | 3,23 | 59,98 (47,78 - 80,17) | 2,43 | 10,94 | 0,14 |
| Vicentina | 700 | 2,08 ± 0,17 | 14,83 (12,3 - 17,5) | 3,99 | 91,72 (71,46 - 126,9) | 3,72 | 9,21 | 0,10 |
| Guarapuava | 540 | 3,71 ± 0,35 | 17,31 (15,1 - 19,8) | 4,65 | 47,97 (39,38 - 62,56) | 1,95 | 8,22 | 0,31 |
| Jacarezinho | 540 | 3,75 ± 0,30 | 19,53 (17,0 - 22,2) | 5,25 | 53,60 (45,33 - 66,15) | 2,17 | 7,55 | 0,11 |
| São José do Rio Pardo | 520 | 2,33 ± 0,25 | 19,78 (15,2 - 25,2) | 5,32 | 100,85 (69,6 - 180,5) | 4,09 | 11,62 | 0,07 |
| Juiz de Fora | 840 | 4,73 ± 0,54 | 22,55 (19,8 - 25,2) | 6,06 | 50,19 (43,21 - 62,30) | 2,04 | 8,75 | 0,27 |

¹N = Número total de insetos por bioensaio; ²EPM = Erro padrão da média; ³População padrão de suscetibilidade. CL = Concentração letal; IC 95% = Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; RR = Razão de Resistência: CL₅₀ da população resistente/CL₅₀ da população susceptível (IC = 95%); χ² = Qui-quadrado; P = Probabilidade.

As inclinações das curvas concentração-mortalidade variaram entre as populações, variação esta que esteve entre $2,00 \pm 0,19$ (Sete Lagoas) e $4,73 \pm 0,54$ (Juiz de Fora). Por causa desta variação, a ordem de suscetibilidade das populações baseada na CL_{50} foi diferente daquela baseada na CL_{95} .

Nos bioensaios para fenitrotiom, novamente a população de Sete Lagoas apresentou menor CL_{50} , sendo, portanto, considerada como a população padrão de suscetibilidade (Tabela 2). A população de Vicentina apresentou maior CL_{50} , sendo 7,71x mais resistente que a população padrão de suscetibilidade. Baseando-se no critério de não-superposição dos limites de confiança da CL_{50} a 95 %, apenas a população de Rio Verde mostrou suscetibilidade semelhante à população padrão de suscetibilidade, tendo todas as outras populações apresentado níveis de resistência significativos. À semelhança do ocorrido para clorpirifós-metílico, houve variação nas inclinações das curvas concentração-mortalidade para fenitrotiom, inclinação essa que se mostrou menor e maior, respectivamente, para as populações de Abre Campo e Guarapuava. Como esperado, em razão das diferentes inclinações, a ordem de suscetibilidade das populações ao fenitrotiom baseada na CL_{50} foi diferente daquela baseada na CL_{95} (Tabela 2).

Tabela 2 – Suscetibilidade de 15 populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) a fenitrotiom.

| População | N ¹ | Inclinação ± EPM ² | CL ₅₀ (IC 95%) ng/cm ² | RR _{CL₅₀} | CL ₉₅ (IC 95%) ng/cm ² | RR _{CL₉₅} | χ ² | P |
|--------------------------|----------------|----------------------------------|---|-------------------------------|---|-------------------------------|----------------|------|
| Sete Lagoas ³ | 580 | 2,80 ± 1,67 | 0,82 (0,69 - 0,96) | - | 3,17 (2,61 - 4,01) | - | 6,67 | 0,15 |
| Rio Verde | 580 | 3,07 ± 1,75 | 1,23 (0,98 - 1,47) | 1,50 | 4,22 (3,34 - 5,90) | 1,33 | 3,15 | 0,68 |
| Sacramento | 760 | 5,63 ± 2,37 | 1,50 (1,29 - 1,69) | 1,83 | 2,94 (2,57 - 3,53) | 0,93 | 5,16 | 0,64 |
| Guarapuava | 700 | 11,23 ± 1,04 | 1,79 (1,73 - 1,85) | 2,19 | 2,51 (2,37 - 2,72) | 0,79 | 8,55 | 0,20 |
| Piracicaba | 560 | 5,07 ± 2,25 | 1,98 (1,79 - 2,16) | 2,42 | 4,18 (3,72 - 4,85) | 1,32 | 4,46 | 0,35 |
| Guaxupé | 840 | 5,94 ± 0,59 | 2,03 (1,81 - 2,24) | 2,48 | 3,85 (3,42 - 4,46) | 1,21 | 11,69 | 0,11 |
| São José do Rio Pardo | 560 | 5,44 ± 2,33 | 2,09 (1,71 - 2,49) | 2,55 | 4,18 (3,37 - 6,02) | 1,32 | 8,29 | 0,08 |
| Dourados | 580 | 2,74 ± 1,66 | 2,25 (1,96 - 2,57) | 2,75 | 8,95 (7,49 - 11,1) | 2,82 | 5,07 | 0,41 |
| Jacarezinho | 700 | 4,94 ± 1,62 | 2,45 (2,27 - 2,64) | 2,99 | 5,27 (4,70 - 6,09) | 1,66 | 9,10 | 0,11 |
| Juiz de Fora | 580 | 2,98 ± 1,73 | 2,86 (2,43 - 3,30) | 3,49 | 10,2 (8,42 - 13,0) | 3,21 | 7,88 | 0,16 |
| Tunápolis | 560 | 5,78 ± 0,26 | 3,07 (2,79 - 3,34) | 3,75 | 5,9 (5,14 - 7,31) | 1,86 | 7,11 | 0,13 |
| Abre Campo | 560 | 2,03 ± 1,42 | 3,38 (2,89 - 3,95) | 4,13 | 21,8 (16,30 - 32,3) | 6,89 | 6,81 | 0,23 |
| Canarana | 740 | 4,61 ± 2,15 | 3,56 (3,19 - 3,94) | 4,35 | 8,10 (7,15 - 9,49) | 2,56 | 6,09 | 0,41 |
| Pedro Juan Caballero | 600 | 2,99 ± 1,73 | 5,77 (5,22 - 6,41) | 7,05 | 20,43 (16,41 - 27,6) | 6,44 | 7,44 | 0,11 |
| Vicentina | 460 | 3,62 ± 0,91 | 6,31 (4,30 - 8,95) | 7,71 | 17,98 (11,23 - 212,3) | 5,67 | 8,16 | 0,09 |

¹N = Número total de insetos por bioensaio; ²EPM = Erro padrão da média; ³População padrão de suscetibilidade. CL = Concentração letal; IC 95% = Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; RR = Razão de Resistência: CL₅₀ da população resistente/CL₅₀ da população susceptível; χ² = Qui-quadrado; P = Probabilidade.

4.2. Resistência comportamental

A análise multivariada dos dados em superfície tratada indicou diferença significativa entre as populações tanto para clorpirifós-metílico (Wilks' Lambda = 0,591; $F_{56, 1095} = 2,83$; $p < 0,0001$) e para fenitrotiom (Wilks' Lambda = 0,591; $F_{56, 1095} = 2,55$; $p < 0,0001$).

Os resultados obtidos com a análise de variância mostraram que há diferença estatística significativa entre as populações quanto à distância caminhada ($F_{14, 284} = 4,30$; $p < 0,0001$), velocidade de caminhada ($F_{14, 284} = 6,06$; $p < 0,0001$) e tempo sem caminhar ($F_{14, 284} = 3,28$; $p < 0,0001$) em superfície tratada com clorpirifós-metílico, mas a proporção de tempo sobre superfície tratada foi não significativa entre as populações ($F_{14, 284} = 1,74$; $p = 0,05$). Diferenças significativas também foram obtidas em superfície tratada com fenitrotiom quanto à distância caminhada ($F_{14, 284} = 2,05$; $p = 0,0146$), velocidade de caminhada ($F_{14, 284} = 4,64$; $p < 0,0001$), tempo sem caminhar ($F_{14, 284} = 3,32$; $p < 0,0001$) e proporção de tempo gasto sobre área tratada ($F_{14, 284} = 2,09$; $p = 0,0127$).

As médias (\pm EPM) das características comportamentais de caminhada dos insetos de cada população em superfície tratada com clorpirifós-metílico são apresentadas na Tabela 3. Os carunchos de Guaxupé, Abre Campo, Pedro Juan Caballero e Jacarezinho apresentaram as maiores médias de deslocamento em relação às demais populações como indicado pelo teste de Tukey. Os insetos de Sete Lagoas foram os que menos se deslocaram sobre a superfície tratada (Tabela 3, Figura 3) e aqueles das demais populações se deslocaram distâncias intermediárias. Insetos provenientes de Jacarezinho se deslocaram com maior velocidade média sobre superfície tratada, enquanto que os de Piracicaba, Dourados e Vicentina se deslocaram mais lentamente. O tempo de repouso sobre a superfície tratada foi maior para os insetos de Sete Lagoas e

menor para aqueles provenientes de Guarapuava (Figura 4) (Tabela 3). As populações não apresentaram diferença significativa quanto à proporção de tempo gasto sobre a superfície tratada com clorpirifós-metílico (Tabela 3).

Tabela 3 – Médias \pm EPM das características comportamentais de caminhamento de 15 populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) em superfície tratada com clorpirifós-metílico.

| População | Distância caminhada (cm) | Velocidade de caminhamento (mm/s) | Tempo de Repouso (s) | Proporção de tempo na área tratada (%) |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------------------|----------------------|--|
| Guaxupé | 513,5 \pm 45,3 a | 9,6 \pm 0,5 abc | 159,5 \pm 28,8 b | 52,6 \pm 2,1 |
| Abre Campo | 513,3 \pm 33,1 a | 10,1 \pm 0,4 ab | 193,1 \pm 17,8 b | 55,3 \pm 2,1 |
| Pedro Juan Caballero | 500,6 \pm 45,6 a | 9,3 \pm 0,5 abcd | 151,8 \pm 20,6 b | 49,6 \pm 2,3 |
| Jacarezinho | 498,6 \pm 33,6 a | 10,3 \pm 0,3 a | 175,9 \pm 28,4 b | 53,0 \pm 2,1 |
| Rio Verde | 475,0 \pm 40,6 ab | 9,2 \pm 0,3 abcde | 214,1 \pm 38,0 ab | 56,4 \pm 2,7 |
| Guarapuava | 455,1 \pm 42,1 abc | 8,4 \pm 0,5 bcde | 150,6 \pm 24,8 b | 51,5 \pm 2,1 |
| Juiz de Fora | 427,6 \pm 46,4 abc | 9,1 \pm 0,4 abcde | 273,1 \pm 58,8 ab | 59,4 \pm 2,8 |
| Tunápolis | 424,2 \pm 32,2 abc | 8,7 \pm 0,3 abcde | 245,0 \pm 35,0 ab | 58,4 \pm 1,6 |
| Vicentina | 393,7 \pm 34,7 abc | 7,4 \pm 0,4 e | 217,8 \pm 20,0 ab | 59,1 \pm 1,6 |
| Canarana | 380,6 \pm 38,8 abc | 8,1 \pm 0,4 cde | 267,7 \pm 50,8 ab | 57,3 \pm 2,7 |
| São José do Rio Pardo | 362,9 \pm 35,1 abc | 7,7 \pm 0,4 de | 345,3 \pm 60,6 b | 53,0 \pm 3,3 |
| Sacramento | 361,0 \pm 29,5 abc | 8,4 \pm 0,3 de | 212,2 \pm 46,9 ab | 59,9 \pm 3,6 |
| Piracicaba | 338,6 \pm 22,2 abc | 7,6 \pm 0,3 de | 152,0 \pm 19,6 b | 51,8 \pm 1,8 |
| Dourados | 301,9 \pm 22,2 bc | 7,5 \pm 0,3 e | 249,6 \pm 27,9 ab | 55,9 \pm 2,2 |
| Sete Lagoas | 288,5 \pm 39,5 c | 8,3 \pm 0,5cde | 416,3 \pm 85,5 a | 60,6 \pm 4,8 |

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância. A proporção de tempo de permanência na área tratada não diferiu entre as populações pelo teste *F* da análise de variância a 5% de significância e portanto não foi realizado teste de média.

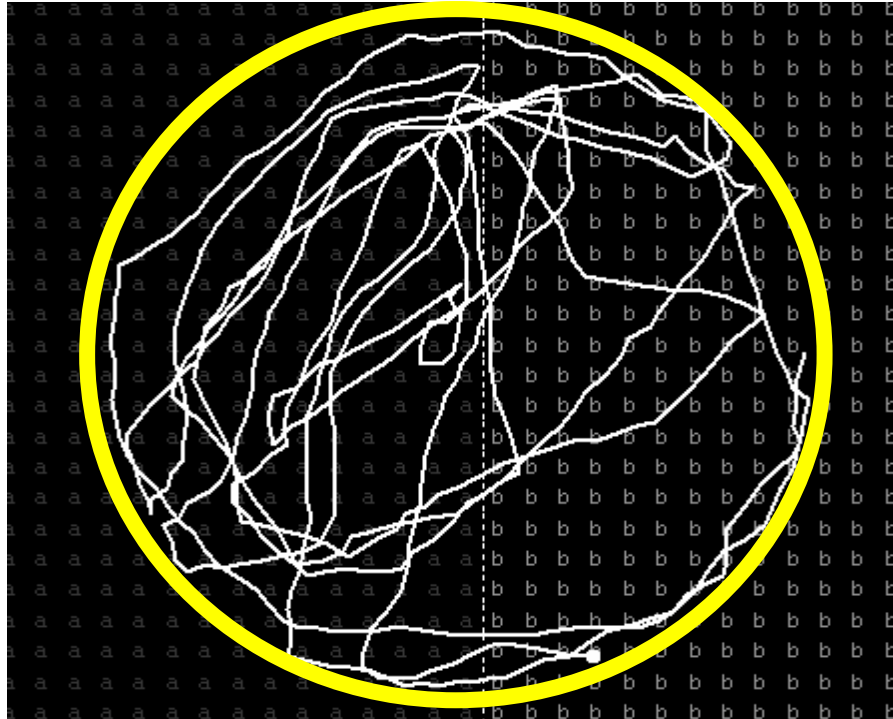


Figura 3 – Mapa de caminhamento da população de Sete Lagoas, que apresentou diferença estatística significativa quanto à distância caminhada na área tratada com clorpirifós-metílico (a) e na área não tratada (b).

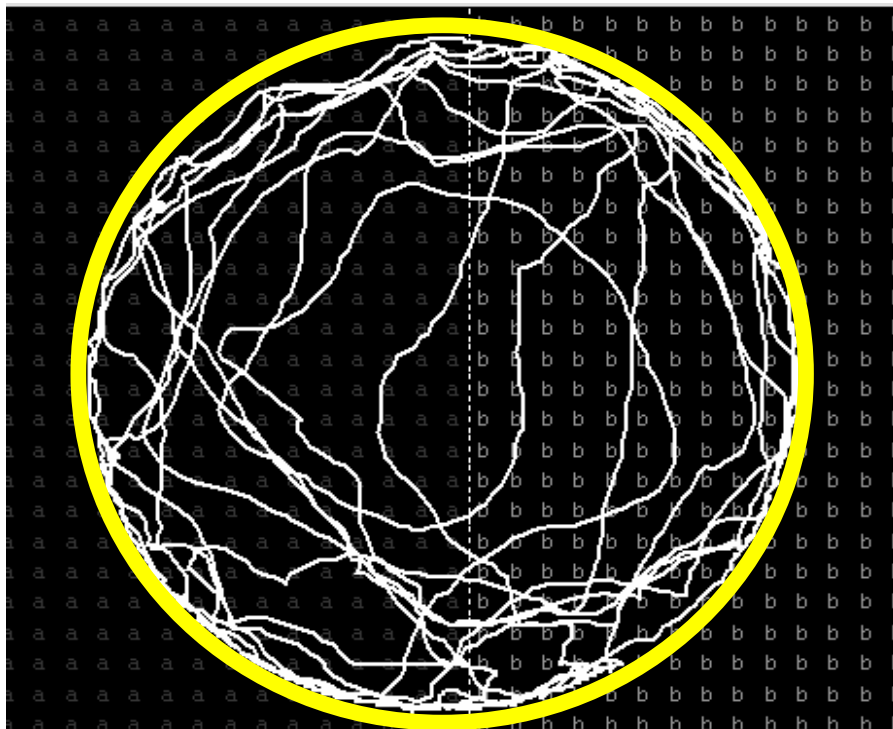


Figura 4 – Mapa de caminhamento da população de Guarapuava, que não apresentou diferença estatística significativa quanto à distância caminhada na área tratada com clorpirifós-metílico (a) e na área não tratada (b).

Na Tabela 4 estão sumarizados os resultados (médias \pm EPM) das características comportamentais de caminhamento em superfície tratada com fenitrotiom.

Comparando-se as populações quanto à distância caminhada, verifica-se que Guaxupé apresentou a maior média para essa característica comportamental, diferindo significativamente das populações de Guarapuava e São José do Rio Pardo, as quais apresentaram menores médias para essa característica (Tabela 4). Já para a velocidade de deslocamento, Guaxupé e Sacramento apresentaram as maiores médias e Guarapuava a menor, assim como na característica anterior (deslocamento em superfície tratada) (Tabela 4). A velocidade de caminhamento foi a característica que mais discriminou as populações como demonstrado pelo teste de Tukey.

O tempo de repouso médio foi maior para São José do Rio Pardo seguido de Guarapuava, Jacarezinho, Piracicaba (Tabela 4). As populações de José do Rio Pardo e Guarapuava também foram aquelas cujos insetos permaneceram maior parte do tempo sobre a superfície tratada com fenitrotiom em relação à superfície não tratada (Tabela 4).

Tabela 4 – Médias \pm EPM das características comportamentais de caminhamento de 15 populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) em superfície tratada com fenitrotiom.

| População | Distância caminhada (cm) | Velocidade de caminhamento (mm/s) | Tempo de Repouso (s) | Proporção de tempo na área tratada (%) |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------------------|----------------------|--|
| Guaxupé | 404,9 \pm 28,6 a | 8,1 \pm 0,4 a | 156,3 \pm 23,5 b | 52,0 \pm 2,2 ab |
| Abre Campo | 388,6 \pm 43,6 a b | 7,5 \pm 0,4 ab | 169,6 \pm 34,6 b | 55,2 \pm 3,0 ab |
| Piracicaba | 342,2 \pm 29,2 a b | 7,3 \pm 0,3 abcd | 264,3 \pm 50,7 ab | 56,4 \pm 3,2 ab |
| Jacarezinho | 331,2 \pm 22,8 a b | 7,3 \pm 0,3 abcd | 271,8 \pm 53,5 ab | 57,8 \pm 3,5 ab |
| Sete Lagoas | 327,5 \pm 30,7 a b | 6,7 \pm 0,3 abcd | 155,2 \pm 19,3 b | 52,1 \pm 1,8 ab |
| Pedro Juan Caballero | 323,5 \pm 39,7 a b | 6,5 \pm 0,4 abcd | 235,0 \pm 56,5 b | 56,5 \pm 3,6 ab |
| Sacramento | 317,7 \pm 25,7 a b | 7,7 \pm 0,3 a | 169,6 \pm 19,0 b | 45,8 \pm 2,9 b |
| Canarana | 313,0 \pm 33,1 a b | 7,2 \pm 0,2 abcd | 255,1 \pm 69,1 b | 55,5 \pm 3,4 ab |
| Juiz de Fora | 308,0 \pm 37,0 a b | 7,4 \pm 0,3 abc | 202,9 \pm 38,4 b | 51,4 \pm 2,7 ab |
| Rio Verde | 298,0 \pm 30,9 a b | 6,5 \pm 0,3 abcd | 233,8 \pm 37,0 b | 55,8 \pm 4,2 ab |
| Vicentina | 280,8 \pm 40,8 a b | 6,0 \pm 0,4 cd | 158,6 \pm 26,4 b | 54,8 \pm 2,5 ab |
| Dourados | 280,4 \pm 30,5 a b | 6,0 \pm 0,3 cd | 174,3 \pm 27,6 b | 52,6 \pm 1,7 ab |
| Tunápolis | 271,6 \pm 35,1 a b | 6,2 \pm 0,3 bcd | 225,7 \pm 19,3 b | 57,2 \pm 2,1 ab |
| São José do Rio Pardo | 244,8 \pm 22,9 b | 7,0 \pm 0,2 abcd | 499,5 \pm 100,3 a | 64,6 \pm 4,5 a |
| Guarapuava | 240,1 \pm 25,5 b | 5,9 \pm 0,2 d | 306,3 \pm 68,6 ab | 62,3 \pm 2,8 a |

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

As características comportamentais de caminamento em superfície tratada com inseticida não se correlacionam com a razão de resistência tanto na CL_{50} quanto na CL_{95} , seja para clorpirifós-metílico, seja para fenitrotiom como indicado pelos baixos coeficientes de correlação de Pearson e probabilidade maior que 0,05 pelo teste t (Tabela 5).

4.3. Taxa instantânea de crescimento (r_i)

A taxa instantânea de crescimento populacional torna possível verificar se populações resistentes e suscetíveis apresentam o mesmo padrão de crescimento demográfico. Verificou-se, no entanto, que não houve diferença significativa na taxa instantânea de crescimento (r_i) para as populações de *S. zeamais* ($F_{14, 28} = 1,78$; $P = 0,09$), apesar da população de Jacarezinho ter apresentado r_i médio 2,3 vezes maior que a população de Guarapuava, que foi a população com r_i médio mais baixo (Tabela 6). Vale salientar que a razão de resistência dessas duas populações para CL_{50} são bem próximas, não existindo inclusive diferença significativa entre elas, pelo critério de não superposição dos limites de confiança das respectivas CL_{50} .

Observou-se, ainda, que a correlação entre r_i e as razões de resistência das CL_{50} e CL_{95} , tanto para clorpirifós-metílico quanto para fenitrotiom, foram não significativas ($P > 0,05$). Assim, a taxa instantânea de crescimento populacional não esteve associada a variações na razão de resistência das populações aos inseticidas (Tabela 7).

Tabela 5 - Correlações das razões de resistência das CL₅₀ e CL₉₅ de clorpirifós-metílico e fenitrotiom para 15 populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) com as características comportamentais de caminhada na superfície tratada com os inseticidas.

| Correlações | Clorpirifós-metílico | | | | Fenitrotiom | | | |
|------------------------------------|----------------------|----------|--------------------|----------|--------------------|----------|--------------------|----------|
| | RR _{CL50} | | RR _{CL95} | | RR _{CL50} | | RR _{CL95} | |
| | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> |
| Distância caminhada | 0,18 | 0,52 | -0,12 | 0,67 | 0,03 | 0,92 | 0,28 | 0,32 |
| Velocidade de caminhada | 0,05 | 0,84 | -0,38 | 0,16 | -0,29 | 0,28 | -0,08 | 0,78 |
| Tempo de repouso | -0,21 | 0,45 | -0,12 | 0,68 | -0,31 | 0,26 | -0,33 | 0,23 |
| Proporção de tempo em área tratada | 0,08 | 0,76 | -0,001 | 0,99 | 0,09 | 0,76 | 0,04 | 0,88 |

CL = concentração letal; RR = razão de resistência; *r* = coeficiente de correlação de Pearson; *P* = probabilidade associada ao teste *t* com 14 graus de liberdade. Valores de *P* < 0,05 indicam diferença estatística significativa.

Tabela 6 – Médias \pm EPM da taxa instantânea de crescimento populacional, perda de massa de grãos de milho causada, massa corporal e produção de CO₂ de 15 populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae).

| População | Taxa instantânea de crescimento (r_i) ¹ | Consumo de biomassa seca dos grãos de milho (g) ² | Massa corporal (mg) | Produção de CO ₂ (η mol/h/inseto) ¹ |
|-----------------------|--|--|---------------------|---|
| Jacarezinho | 0,034 \pm 0,002 | 43,61 \pm 5,0 a | 3,43 \pm 0,04 a | 130,2 \pm 13,6 |
| Juiz de Fora | 0,030 \pm 0,002 | 37,00 \pm 3,6 ab | 3,27 \pm 0,02 bc | 119,2 \pm 32,5 |
| Pedro Juan Caballero | 0,030 \pm 0,002 | 35,03 \pm 3,4 abc | 3,40 \pm 0,03 a | 122,7 \pm 16,5 |
| Piracicaba | 0,029 \pm 0,002 | 37,23 \pm 3,4 ab | 3,25 \pm 0,05 bc | 107,5 \pm 20,1 |
| São José do Rio Pardo | 0,028 \pm 0,001 | 33,07 \pm 2,2 abc | 3,35 \pm 0,02 ab | 149,9 \pm 7,5 |
| Abre Campo | 0,028 \pm 0,001 | 28,34 \pm 2,9 bcd | 3,23 \pm 0,03 bcd | 115,2 \pm 17,3 |
| Tunápolis | 0,026 \pm 0,005 | 29,11 \pm 6,5 bcd | 3,41 \pm 0,03 a | 91,7 \pm 29,9 |
| Canarana | 0,025 \pm 0,002 | 28,03 \pm 4,1 bcd | 3,06 \pm 0,04 e | 122,1 \pm 6,2 |
| Guaxupé | 0,025 \pm 0,001 | 24,03 \pm 0,9 cd | 3,12 \pm 0,04 de | 128,2 \pm 10,6 |
| Sacramento | 0,024 \pm 0,002 | 27,01 \pm 4,1 bcd | 3,31 \pm 0,06 abc | 127,7 \pm 17,5 |
| Sete Lagoas | 0,024 \pm 0,005 | 28,06 \pm 7,7 bcd | 3,35 \pm 0,08 ab | 104,2 \pm 30,7 |
| Dourados | 0,022 \pm 0,002 | 23,60 \pm 2,9 cd | 3,40 \pm 0,06 a | 167,3 \pm 10,3 |
| Vicentina | 0,021 \pm 0,001 | 17,77 \pm 1,2 d | 2,89 \pm 0,07 f | 102,2 \pm 18,8 |
| Rio Verde | 0,020 \pm 0,009 | 26,22 \pm 9,3 bcd | 3,22 \pm 0,02 cd | 139,1 \pm 13,6 |
| Guarapuava | 0,014 \pm 0,005 | 17,48 \pm 4,8 d | 3,25 \pm 0,04 bc | 157,9 \pm 29,0 |

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste da diferença mínima significativa de Fisher (LSD) protegido pelo teste *F* da ANOVA, a 5% de significância. EPM = Erro padrão da média.

¹A taxa instantânea de crescimento populacional e a produção de CO₂ não diferiram entre as populações pelo teste *F* da análise de variância a 5% de significância e portanto não foi realizado teste de média.

²Massa de milho consumida pelos insetos durante 90 dias.

Tabela 7 - Correlações das razões de resistência das CL₅₀ e CL₉₅ de clorpirifós-metílico e fenitrotiom para 15 populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) com a taxa instantânea de crescimento, perda de massa dos grãos de milho, massa corporal e produção de CO₂.

| Correlações | Clorpirifós-metílico | | | | Fenitrotiom | | | |
|--|----------------------|----------|--------------------|----------|--------------------|----------|--------------------|----------|
| | RR _{CL50} | | RR _{CL95} | | RR _{CL50} | | RR _{CL95} | |
| | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> | <i>r</i> | <i>P</i> |
| Taxa instantânea de crescimento populacional (<i>r</i> _i) | 0,19 | 0,48 | -0,02 | 0,96 | 0,16 | 0,56 | 0,22 | 0,43 |
| Consumo de biomassa de milho | 0,25 | 0,37 | -0,08 | 0,77 | 0,19 | 0,49 | 0,05 | 0,85 |
| Massa corporal | -0,10 | 0,72 | -0,44 | 0,09 | -0,42 | 0,12 | -0,43 | 0,11 |
| Produção de CO ₂ | 0,02 | 0,93 | -0,16 | 0,57 | -0,38 | 0,16 | -0,05 | 0,86 |

CL = concentração letal; RR = razão de resistência; *r* = coeficiente de correlação de Pearson; *P* = probabilidade associada ao teste *t* com 14 graus de liberdade. Valores de *P* < 0,05 indicam diferença estatística significativa.

4.4. Perda média na biomassa seca dos grãos de milho

Foi verificado que a perda de massa de grãos causada pela alimentação dos insetos variou significativamente ($F_{14, 28} = 3,11$; $P = 0,004$), indicando existir consumo diferenciado entre as populações. A perda de massa dos grãos causada por insetos das 15 populações esteve correlacionada com taxa de crescimento populacional ($r = 0,91$; $P < 0,001$), perda essa que foi maior nas parcelas com insetos de Jacarezinho e menor naquelas com insetos de Vicentina e Guarapuava (Tabela 6). No entanto, a correlação entre a perda de massa (ou consumo alimentar) e as razões de resistência das CL_{50} e CL_{95} , tanto para clorpirifós-metílico quanto para fenitrotiom, foram não significativas, ou seja, o grau de suscetibilidade das populações não altera a taxa de consumo alimentar (Tabela 7).

4.5. Massa Corporal

A massa corporal das populações variou significativamente ($F_{14, 30} = 10,66$; $P < 0,0001$), sendo que as populações de Jacarezinho, Tunápolis, Pedro Juan Caballero e Dourados formaram um grupo onde se verificaram as maiores médias, não diferindo estatisticamente entre si. A menor massa corporal foi verificada para os insetos de Vicentina (Tabela 6). Populações com insetos de maior massa corporal tenderam a crescer mais rapidamente ($r = 0,43$; $P = 0,106$), causando maior perda de biomassa dos grãos ($r = 0,54$; $P = 0,0382$). Não foi observada correlação significativa a massa corporal e a razão de resistência da CL_{50} e CL_{95} dos dois inseticidas; logo o fator de resistência não está influenciando o acúmulo de reservas nessas populações e nem a taxa de crescimento populacional (Tabela 7).

4.6. Ensaio respirométricos

A análise de variância demonstrou que não houve diferença estatística significativa na taxa de produção de CO₂ para as populações de *S. zeamais* ($F_{14, 30} = 1,11$; $P = 0,39$), apesar de a população de Jacarezinho apresentar média 1,4 vez superior à menor média (Tunápolis) (Tabela 6).

Apesar da leve tendência à correlação negativa, entre a produção de CO₂ e a razão de resistência da CL₅₀ e da CL₉₅ das populações, esta não demonstrou diferença significativa ($P > 0,05$) (Tabela 7). Verifica-se, portanto, que a taxa respiratória dessas populações não parece ter relação com a resistência das mesmas a clorpirifós-metílico ou a fenitrotiom.

5. DISCUSSÃO

Resistência a inseticidas em insetos-praga de grãos armazenados tem sido documentada com frequência nas duas últimas décadas (Subramanyan e Hagstrum, 1996; Guedes *et al.*, 1996, 1997; Guedes e Zhu, 1998; Lorini e Galley, 1999; Perez-Mendonza, 1999; Ribeiro *et al.*, 2003). No caso de *S. zeamais*, a ocorrência do fenômeno em populações brasileiras foi observada nos estudos de Guedes *et al.* (1995) Ribeiro *et al.* (2003) e Fragoso *et al.* (2003), embora os primeiros registros de resistência nessa espécie tenham sido feitos por Champ e Dyte (1976).

Os resultados obtidos no bioensaio concentração-mortalidade mostraram que existe um baixo grau de resistência das populações de *S. zeamais* a organofosforados, mas essa resistência não atinge os níveis alcançados para resistência a piretróides (Guedes *et al.*, 1995; Ribeiro *et al.*, 2003). Clorpirifós-metílico é um inseticida fosforado não recomendado para o tratamento de milho armazenado no Brasil; entretanto, o nível de resistência das populações de *S. zeamais* a esse inseticida é semelhante a aqueles encontrados para fenitrotiom (recomendado no país para grãos armazenados) (Brasil, 2007), não sendo observadas grandes variações na razão de

resistência. Resistência a clorpirifós-metílico no Brasil é provavelmente resultado de resistência cruzada a outro inseticida em uso no país, exceto fenitrotiom, pois não foi detectada correlação significativa entre resistência ao clorpirifós-metílico e ao fenitrotiom nas populações de caruncho aqui investigadas.

A população de Sete Lagoas foi obtida do laboratório do CNPMS/ Embrapa e vem sendo mantida sob condições de laboratório livre do contato com inseticidas, de modo que apresentou resultados semelhantes àqueles encontrados em estudo realizado por Guedes *et al.* (1995) e foi, portanto, considerada como padrão de suscetibilidade. Naquele estudo, populações de *S. zeamais* submetidas à bioensaios com DDT e piretróides apresentaram altos níveis de resistência, mas todas as populações apresentaram suscetibilidade aos fosforados. Resistência a fosforados foi documentada por Fragozo *et al.* (2002), durante um levantamento da resistência no bicho-mineiro do café (*Leucoptera coffeella*, Lepidoptera: Lyonetiidae) quando verificaram que existe alta frequência de indivíduos resistentes a fosforados, em parte como resultado de fatores como alta frequência de aplicação desses produtos. Os níveis de resistência encontrados para as populações examinadas no presente trabalho, tanto para clorpirifós-metílico quanto para fenitrotiom, não devem implicar em grandes problemas na utilização de organofosforados no controle de *S. zeamais*, uma vez que os níveis de resistência são baixos se comparados a aqueles para algumas populações de *S. zeamais* frente a inseticidas piretróides.

Algumas das populações testadas, como a de Guarapuava, apresentaram alta inclinação na curva concentração-mortalidade. Isso indica baixa variabilidade genética intrapopulacional, o que poderia ser indício de que essas populações teriam poucas chances de terem indivíduos resistentes selecionados. Entretanto, a baixa variabilidade genética pode ser devida ao fato de a população ter sido formada por um número

pequeno de indivíduos, ou pelo fato de em algum momento a densidade populacional ter sido muito baixa e, após a reprodução desse poucos indivíduos, a variabilidade teria acompanhado essa tendência e a população tornou-se mais homogênea geneticamente. A maioria das populações teve suas inclinações dentro de uma faixa equivalente e relativamente baixa para os dois inseticidas, indicando que essas populações possuem variabilidade genética para resistência a fosforados que pode ser facilmente trabalhada para estudos de herdabilidade da resistência (Guedes *et al.*, 1994). Talvez ainda mais importante seja o fato de poder haver seleção no campo levando a níveis de resistência problemáticos, uma vez que essa característica pode evoluir e se estabelecer nestas populações.

As populações de Juiz de Fora e Jacarezinho, bastante estudadas por causa da sua alta resistência a piretróides (Guedes *et al.*, 1994, 1995; Oliveira *et al.*, 2005), mostraram baixa resistência a fosforados, indicando que provavelmente não exista resistência cruzada entre estes grupos inseticidas em populações de *S. zeamais*. Stankovic *et al.* (2004) também realizaram um levantamento da resistência a organofosforados e carbamatos em populações do besouro da batata do Colorado, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) e constataram certo nível de resistência, mas a inclinação da curvas para as populações foi muito baixa, embora a razão de resistência tenha sido de mais de cem vezes no caso de fosforados, além de não verificarem correlação entre resistência a fosforados e carbamatos para este inseto-praga.

As características comportamentais de caminamento dos carunchos na área tratada variaram entre as populações, embora não pareça ter havido repelência deles pelos inseticidas. Essa variação interpopulacional deve ser causada por diferenças nos processos sensoriais dos insetos e pode levar à evolução de resistência comportamental

a inseticidas (Haynes, 1988; Hoy *et al.*, 1998; Desneux, 2007), se tais diferenças forem hereditárias. Wang *et al.* (2004) mostraram alta resistência comportamental a piretróides em baratas, as quais evitaram se alimentar de iscas que continham inseticida. Watson *et al.* (1997) também observaram que *Anthrenus verbasci* (Coleoptera: Dermestidae) procuraram fugir da área tratada para evitar o contato com o inseticida e Watson & Barson (1996) observaram que populações de *O. surinamensis* evitaram áreas tratadas com inseticidas repelentes, mas evidenciaram que o mecanismo de resistência fisiológica está correlacionado a esse comportamento de evitar áreas tratadas.

As modificações no comportamento podem ser estímulo-dependentes, em que o inseticida pode causar irritação nos indivíduos e, com isso, ocorre fuga da área tratada (McKenzie, 1996). Este pode ser o caso de algumas populações de caruncho que andaram com maior velocidade na área tratada, provavelmente para fugir dessa área mais rapidamente. Resultados encontrados por Beckel *et al.* (2004), demonstraram que adultos de *R. dominica* resistentes a deltametrina reduziram a velocidade sobre a superfície tratada com esse inseticida para evitar ou diminuir o contato. As populações do caruncho do milho parecem apresentar resistência comportamental. No entanto, esse tipo de resistência parece não estar relacionada à razão de resistência encontrada no bioensaio concentração-mortalidade, indicando que a resistência comportamental não está associada à resistência fisiológica.

A taxa metabólica medida pela produção de CO₂ e o desempenho demográfico medidos pela taxa instantânea de crescimento populacional foram semelhantes entre as populações, embora tenha havido diferenças na massa corporal e no consumo de milho. Não foram observadas correlações significativas entre essas variáveis e razão de resistência, porém houve uma tendência de insetos de populações mais resistentes, principalmente ao fenitrotiom, apresentarem menor massa corporal e taxa metabólica.

Esses resultados indicam a existência de baixo custo adaptativo da resistência ao inseticida. Curiosamente, a população resistente a piretróides, de Jacarezinho, conseguiu se desenvolver tão bem, ou melhor, que a população padrão de suscetibilidade, evidenciando mais uma vez a inexistência de custo adaptativo associado a resistência a fosforados (Guedes *et al.*, 2006). No entanto, o desempenho demográfico e a massa corporal dos insetos de Jacarezinho nesse estudo foram inferiores aos relatados por Guedes *et al.* (2006), indicando uma possível perda de vigor talvez por vir sendo mantida em laboratório por muito tempo.

6. CONCLUSÕES GERAIS

As populações de *S. zeamais* apresentaram baixo grau de resistência a inseticidas organofosforados. Variações na inclinação das curvas concentração-mortalidade indicam maior variabilidade genética para algumas populações e menor para outras.

O comportamento de caminhamento em área tratada é variável entre as populações, evidenciado por variações na distância caminhada, velocidade de caminhamento e tempo sem caminhar. No entanto, a resistência comportamental não está associada à resistência fisiológica aos inseticidas.

O desempenho demográfico e taxa metabólica dos insetos pertencentes às populações avaliadas foram semelhantes, indicando não haver custos para manutenção da resistência a organofosforados nessas populações. A resistência fisiológica não está influenciando essas populações quanto ao desempenho reprodutivo e ao metabolismo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beckel, H.; Lorini, I.; Lázzari, S.M.N. Comportamento de adultos de diferentes raças de *Rhyzoperta dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae) em superfície tratada com deltamethrin. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 48, p. 115-118, 2004.

Beeman, R.W., Nanis, S.M. Malathion resistance alleles and their fitness in the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 79, 580-587, 1986.

Berticat, C., Boquien, G., Raymond, M., Chevillon, C. Insecticide resistance genes induce a mating competition cost in *Culex pipiens* mosquitoes. **Genetical Research**, v. 72, p. 41-47, 2002.

Bloomquist, J.R., T.A. Miller, T. A. Neural correlates of flight activation and escape behavior in houseflies recovering from pyrethroid poisoning. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 3, p. 551-559, 1985

Botton, M.; Lorini, I.; Afonso, A.P.S. Ocorrência de *Sitophilus zeamais* Mots. danificando a cultura da videira no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 355-356, 2005.

Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, Agrofit. Disponível em http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Visitado em 02/02/2007.

Brattsten, L.B.; Holyoke Jr., C.W.; Leeper, J.R.; Raffa, K.F. Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. **Science**, v. 231, p. 1255-1260. 1986.

Champ, B.R., Dyte, C.E. **Global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests**. Rome, FAO/UN, p. 356, 1976.

Cook, L.M. The ecological factor in assessment of resistance in pest populations. **Pesticide Science**, v. 12, p. 582-586, 1981.

Coustau, C., Chevillon, C., French-Constant, R. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? **Trends in Ecology and Evolution**, v. 15, p. 378-383, 2000.

Danho, M., Gaspar, C., Haubruge, E. The impact of grain quality on the biology of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae): oviposition, distribution of eggs, adult emergence, body weight and sex ratio. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, p. 259-266, 2002.

Desneux, N.; Decourtye, A.; Delpuech, J.M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81-106, 2007.

Feyereisen, R. Molecular biology of insecticide resistance. **Toxicology letters**, v. 82, n. 83, p. 83-90. 1995.

Fragoso, D.B., Guedes, R.N.C., Oliveira, M.G.A. Partial characterization of glutathione S-transferases in pyrethroid-resistance and –susceptible populations of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p. 167-170, 2007.

Fragoso, D.B.; Damasceno, B.L.; Guedes, R.N.C.; Fragoso, C.T.V. Demografia de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) suscetível e resistente a inseticidas. **Ciência Agroambiental**, v. 1, p. 53-59, 2006.

Fragoso, D.B.; Guedes, R.N.C.; Peternelli, L.A. Developmental rates and population growth of insecticide-resistant and susceptible populations of *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, p. 271-281, 2005.

Fragoso, D.B., Guedes, R.N.C., Rezende, S.T. Glutathione S-transferase detoxification as a potential pyrethroid resistance mechanism in the weevil, *Sitophilus zeamais*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 109, p. 21-29, 2003.

Fragoso, D.B., Guedes, R.N.C., Picanço, M.C.; Zambolim, L. Insecticide use and organophosphate resistance in the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 92, p. 203-212, 2002.

French-Constant, R.H. Which came first: insecticides or resistance? **Trends in Genetics**, v. 23, p. 1-4, 2006.

French-Constant, R.H. The molecular and population genetics of cyclodiene resistance. **Insect Biochemical Molecular Biology**, v. 4, p. 275-288, 1994.

Guedes, R.N.C.; Oliveira, E.E.; Guedes, N.M.P.; Ribeiro, B.M.; Serrão, J.E. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**, v. 31, p. 30-38, 2006.

Guedes, R.N.C.; Fragoso, D.B. Resistência: vontade de viver. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, v. 1, p. 18-20, 2000.

Guedes, R.N.C.; Zhu, K.Y. Characterization of malathion resistance in a Mexican population of *Rhyzopertha dominica*. **Pesticide Science**, v. 53, p. 15-20, 1998.

Guedes, R.N.C.; Kambhampati, S.; Dover, B.A.; Zhu, K.Y. Biochemical mechanisms of organophosphate resistance in *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) from the United States and Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v. 87, p. 581-586, 1997.

Guedes, R.N.C.; Zhu, K.Y.; Dover, B.A.; Kambhampati, S. Partial characterization of phosphotriesterase from organophosphate-susceptible and -resistant populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 57, p. 156-164, 1996.

Guedes, R.N.C.; Lima, J.O.G.; Cruz, C.D. Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 31, p. 145-150, 1995.

Guedes, R.N.C.; Lima, J.O.G.; Cruz, C.D. Inheritance of deltamethrin resistance in a Brazilian strain of maize weevil (*Sitophilus zeamais* Mots) (Coleoptera: Curculionidae). **International Journal of Pest Management**, v. 40, p. 103-106, 1994.

Guedes, R.N.C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 15, p. 39-48, 1991.

Guedes, R.N.C. Resistência a inseticidas: desafio para o controle de pragas de grãos armazenados. **Seiva**, v. 50, p. 24-29, 1990.

Harper, D.N. Response-independent food delivery and behavioral resistance to change. **Journal of the Experimental Analysis of Behavior**, v. 65, p. 549-560, 1996.

Haubruege, E., Arnaud, L. Fitness consequences of malathion-specific resistance in the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera, Tenebrionidae), and selection for resistance in the absence of insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, p. 552-557, 2001.

Haynes, K.F. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. **Annual Review of Entomology**, v. 33, p. 149-168, 1988.

Hoy, C.W.; Head, G.P.; Hall, F.R. Spatial heterogeneity and insect adaptation to toxins. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 571-594, 1998.

Liu, N.; Pridgeon, J.W. Metabolic detoxication and *Kdr* mutation in pyrethroid resistant house flies, *Musca domestica* (L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 73, p. 157-163, 2002.

Lorini, I.; Galley, D.J. Deltamethrin resistance in *Rhyzoperta dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae), a pest of stored grain in Brazil. **Journal of Stored Products Research**, v. 35, p. 37-45, 1999.

Lorini, I.; Galley, D.J. Relative effectiveness of topical, filter paper and grain applications of deltamethrin, and associated behavior of *Rhyzoperta dominica* (F.) strains. **Journal of Stored Products Research**, v. 34, p. 377-383, 1998.

McKenzie, J.A. The biochemical and molecular bases of resistance: applications to ecological and evolutionary questions. In: McKenzie, J.A (ed). **Ecological and Evolutionary Aspects of Insecticide Resistance**. Academic, Austin, p. 123-147, 1996.

McKenzie, J.A.; Batterham, P. The genetic, molecular and phenotypic consequences of selection for a insecticide resistance. **Trends in Ecology Evolution**, v. 9, p. 166-169, 1994.

Mullin, C.A.; Scott, J.G. Biomolecular bases for insecticide resistance: classification and comparisons. In: **Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance**. Ed. Mullin, C.A.; Scott, J. G. New York: ACS, p. 1-13, 1992.

Oliveira, E.E.; Guedes, R.N.C.; Corrêa, A.S.; Damasceno, B.L.; Santos, C.T. Resistência vs suscetibilidade a piretróides em *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae): há vencedor? **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 981-990, 2005.

Pereira, P.R.V.S.; Furiatti, R.S.; Lazzari, F.A.; Pinto Jr., A.R. Avaliação de inseticidas no controle de *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) e *Rhyzoperta dominica* (Fab.) (Coleoptera: Bostrichidae) em milho armazenado. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 411-416, 1997.

Perez-Mendonza, J. Survey of insecticide resistance in Mexican populations of maize weevil, *Sitophilus zeamais* M. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 35, p. 107-115, 1999.

Raymond, M.; Berticat, C.; Weill, M.; Pasteur, N.; Chevillon, C. Insecticide resistance in mosquitoes *Culex pipiens*: what have we learned about adaptation? **Genética**, v. 112-113, p. 287-296, 2001.

- Ribeiro, B.M.; Guedes, R.N.C; Oliveira, E.E.; Santos, J.P. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.39, p. 21-31, 2003.
- Rossetto, C.J. O complexo de *Sitophilus* spp. (Coleoptera: Curculionidae) no estado de São Paulo. **Bragantia**, v. 28, p. 127-148, 1969.
- Roush, R.T.; McKenzie, J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Annual Review of Entomology**, v. 32, p. 361-380, 1987.
- Santos, J.P., Cajueiro, I.V.M., Fontes, R.A. Avaliação de perdas causadas por insetos no milho armazenado ao nível de fazenda em três estados. In; Paiva, E. (ed.), **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo**, CNPMS/EMBRAPA. Sete Lagoas, MG, Brasil, p. 65-66, 1986.
- SAS Institute. SAS/STAT User's Guide. SAS, Cary, NC, USA, 2002.
- SAS Institute. SAS/STAT User's Guide. SAS, Cary, NC, USA, 1997.
- Scott, J.G. Investigating mechanisms of insecticide resistance; methods, strategies and pitfalls. In: Roush, T.T., Tabashnik, B.E. (eds.). **Pesticide Resistance in Arthropods**, New York, Chapman e Hall, p. 39-57, 1990.
- Snedecor, G.W.; Cochran, W.G. **Statistical Methods**. 18 ed. Ames : Iowa State University. 593 p., 1989.
- Sonderlund, D.M.; Bloomquist, J.R. Molecular mechanism of insecticide resistance. In: Roush, T.T., Tabashnik, B.E. (eds). **Pesticide resistance in arthropods**, New York, Chapman e Hall, p. 58-96, 1990.
- Stankovic, S.; Zabel, A.; Kostic, M.; Manojlovic, B.; Rajkovic, S. Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)) resistance to organophosphate and carbamates in Serbia. **Journal of Pesticide Science**, v. 77, p. 11-15, 2004.
- Subramanyan, B.H.; Hagstrum, D.W. Resistance measurement and management. In: Subramanyan, B.H.; Hagstrum, D.W. (eds). **Integrated Management of Insects in Stored Products**. New York: Marcel Dekker, p. 331-397, 1996.
- Throne, J.E. Life history of immature maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) on corn stored at constant temperatures and relative humidities in the laboratory. **Environmental Entomology**, v. 23, p. 1459-1471, 1994.

Wang, C.; Scharf, M.E.; Bennet, G.W. Behavioral and physiological resistance of the german cockroach to gel baits (Blattodea: Blattellidae). **Journal of Economy Entomological**, v. 97, p. 2067-2072, 2004.

Watson, E.; Barson, G. A laboratory assessment of the behavioural responses of three strains of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) to three insecticides and the insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide. **Journal of Stored Products Research**, v. 32, p. 59-67, 1996.

Watson, E.; Barson, G.; Pinniger, D.B.; Roberts, G.; Ludlow, A.R. Evaluation of the behavioural responses of *Anthrenus verbasci* adults and larvae to permethrin (ec) using a computerized tracking system. **Journal of Stored Products Research**, v. 33, p. 335-346, 1997.