

MARCO AURÉLIO GUERRA PIMENTEL

**RESPOSTA COMPORTAMENTAL E SELEÇÃO PARA RESISTÊNCIA À
FOSFINA EM *Rhyzopertha dominica* F. (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE)**

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

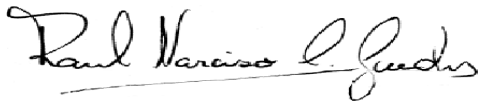
VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2010

MARCO AURÉLIO GUERRA PIMENTEL

**RESPOSTA COMPORTAMENTAL E SELEÇÃO PARA RESISTÊNCIA À
FOSFINA EM *Rhyzopertha dominica* F. (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE)**

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

Aprovada: 19 de fevereiro de 2010.




Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes
(Co-orientador)



Prof. Marcos Antonio Matiello Fadini



Prof. Pedro Amorim Berbert



Prof. Arienilmar Araújo Lopes da Silva



Prof. Lêda Rita D'Antonino Faroni
(Orientadora)

À minha filha Clara, que eu tanto amo

À Carina, minha companheira amada

Aos meus pais José Aurélio (“in memoriam”) e Helena

Às minhas irmãs e sobrinhos

Dedico

Agradecimentos

A Universidade Federal de Viçosa, que me proporcionou formação gratuita e de qualidade, desde a graduação em Agronomia até o Mestrado e Doutorado em Entomologia.

Ao Departamento de Biologia Animal, ao Programa de Pós-graduação em Entomologia e aos professores do programa pelos ensinamentos, confiança e pela oportunidade de formação em um curso tão conceituado (Nota 7 na CAPES).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos, indispensável para a realização desta tese.

A minha orientadora Lêda Rita D'Antonino Faroni pelas oportunidades oferecidas, pelo aprendizado, conselhos, pela confiança no meu trabalho, por permitir que eu fizesse parte do Laboratório de MIP-Grãos; por me orientar e me ensinar ao longo destes últimos 10 anos, desde a iniciação científica. Muito obrigado!

Ao professor Raul Narciso Carvalho Guedes, pelo aprendizado, estímulo, críticas, conselhos, pela parceria nos manuscritos, por me ensinar muito sobre resistência a inseticidas e pela confiança desde os tempos de estagiário no porão da Entomologia.

Ao professor Marcelo Coutinho Picanço por ter me proporcionado a primeira oportunidade de trabalhar com Entomologia, pelos ensinamentos, estímulo, pelos conselhos e apoio.

Aos professores Pedro Amorim Berbert, Marcos Antonio Matiello Fadini e Arienilmar Araújo Lopes da Silva pelas sugestões e disponibilidade para participação na banca avaliadora.

Aos atuais integrantes do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas de Grãos Armazenados (MIP-Grãos): Adalberto, Rodrigo Simões, Juliana, Hany, Adriano, Augusto e João Paulo; e também aos “ex-MIP-Grãos” Carlos Romero, José Roberto e Rodrigo Silveira pelas discussões de projetos, pela convivência, cafezinhos e ajuda nesta caminhada.

Aos companheiros Felipe Humberto da Silva e Maurílio Duarte Batista pela imensa ajuda durante todo o Doutorado, na manutenção das criações de insetos, na execução de experimentos, discussões, aprendizado convivência. Enfim, pela disponibilidade durante o desenvolvimento deste estudo. Muito obrigado! Dedico a vocês também esta conquista.

Aos servidores da UFV, do Setor de Armazenamento de Grãos do Dep. de Engenharia Agrícola: José Eustáquio, Zé Baixinho, Catitu, Édson, Sr. Inhame, Marcos, Hamilton e ao pessoal da fábrica de ração pela dedicação, convivência, apoio e ajuda. À Dona Paula e Miriam da secretaria da Entomologia, pela simpatia, dedicação, convivência e pela ajuda durante o curso de Pós-graduação em Entomologia.

A minha companheira Carina, por tudo. Pelo amor e pela paciência; por estar ao meu lado desde a seleção, na notícia de aprovação, até a revisão final desta tese. Por estar ao meu lado não só no trabalho, mas também na vida, nos sonhos, no dia-a-dia. Só posso agradecer a você pelo auxílio, dedicação, carinho, amizade e amor. Ao seu lado sou muito feliz. Te amo!

A minha filha Clara, simplesmente por existir. Por estar aqui e fazer os meus dias mais felizes. Por me ensinar muito e por proporcionar enorme alegria. Te amo filhinha!

Aos meus pais José Aurélio (“in memoriam”) e Helena, por me incentivar sempre, me apoiarem e me amarem incondicionalmente e por permitirem que eu viesse estudar na UFV, sempre me apoiando apesar das dificuldades. Agora posso lhes dedicar mais esta conquista. Muito obrigado, vocês são meu exemplo.

As minhas irmãs: Joselene, Luciana, Lucília e Josélia, agradeço por estarem ao meu lado sempre que precisei, pela união, pela amizade, carinho e dedicação. Muito obrigado.

Aos meus sobrinhos, Daniel, Lucas, Guilherme, Gustavo, Igor e Gabriel; e as sobrinhas, Ana Carolina, Bárbara e Ana Luiza, pelos momentos felizes vividos juntos, pela amizade e carinho e pelo grande apoio para que eu terminasse esta tese, dedico este trabalho também a vocês.

Aos meus “irmãos” Rubens, Célio e Arnaldo, pelo apoio, ajuda, amizade e incentivo de vocês que também foi fundamental, muito obrigado.

À Dona Marli, Sr. Élio, Henrique e Tita pelo apoio, incentivo, convivência e por toda a ajuda de vocês em todos os momentos.

Aos primos de Patos de Minas: Luciana, Humberto, Thaís, Isabela, Denise, Eugênio, Julia e Henrique e ao Tio Altivo, pela convivência, amizade, apoio e carinho. Obrigado a todos vocês!

Aos amigos Neucir e Iza, pela convivência, pelo carinho e pela dedicação. Aos amigos: Marcel, Lessando, Júnio, Alexandre, Carla, Ângela e César.

Agradeço a Rejane, Bartolomeu, Bruno, Gabriel, Maria do Carmo, Andressa, Andréia e Amanda, por todos os anos de auxílio, de carinho e amizade dedicados principalmente a Clara.

Agradeço ainda à Rita e ao Carlinhos da lanchonete (ex-trailer) da UFV; ao Márcio, do Mercado Econômico, ao João, da Farmácia Santos, e ao Zeti.

E finalmente, agradeço a Deus por mais esta conquista, por me dar forças para chegar até aqui e por cada dia de vida.

Conteúdo

Resumo.....	viii
Abstract.....	x
Introdução Geral.....	1
Referências Bibliográficas.....	5
ARTIGO 1.....	10
Comportamento locomotor de <i>Rhyzopertha dominica</i> F. (Coleoptera: Bostrichidae) sob concentrações subletais de fosfina.....	10
Resumo.....	11
Abstract.....	12
1. Introdução.....	13
2. Material e Métodos.....	15
2.1. Populações de Insetos.....	15
2.2. Bioensaios de concentração-resposta.....	16
2.3. Bioensaios comportamentais.....	17
2.4. Análises estatísticas.....	19
3. Resultados.....	21
3.1. Toxicidade a fosfina.....	21
3.2. Bioensaios comportamentais.....	21
4. Discussão.....	25
5. Referências Bibliográficas.....	29
Tabelas.....	35
Figuras.....	38
ARTIGO 2.....	43
Seleção para resistência à fosfina e respostas (fisiológico-comportamentais) correlatas em <i>Rhyzopertha dominica</i> F. (Coleoptera: Bostrichidae).....	43
Resumo.....	44
Abstract.....	46
1. Introdução.....	48
2. Material e Métodos.....	50
2.1. Populações de insetos.....	50
2.2. Bioensaios de concentração-resposta.....	50
2.3. Seleção para resistência à fosfina.....	51
2.4. Estabilidade da resistência.....	53
2.5. Ensaios respiratórios.....	54
2.6. Taxa instantânea de crescimento populacional (ri), massa corpórea e perda de massa dos grãos.....	54
2.7. Bioensaios comportamentais.....	55
2.8. Bioensaios de iniciação de voo.....	56
2.9. Análises estatísticas.....	57
3. Resultados.....	59
3.1. Seleção para resistência à fosfina.....	59
3.2. Estabilidade de resistência à fosfina.....	60
3.3. Taxa respiratória.....	60
3.4. Crescimento populacional (ri), massa corpórea e perda de massa dos grãos.....	61

3.5. Comportamento locomotor.....	62
3.6. Bioensaios de iniciação de voo.....	64
4. Discussão.....	65
5. Referências Bibliográficas.....	71
Tabelas.....	79
Figuras.....	83
Conclusões.....	92
ANEXOS.....	94
Artigo 1.....	95
Artigo 2.....	98

Resumo

PIMENTEL, Marco Aurélio Guerra, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010. **Resposta comportamental e seleção para resistência à fosfina em *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae).** Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-orientadores: Raul Narciso Carvalho Guedes e Marcos Rogério Tótolá.

O fenômeno da resistência à fosfina está amplamente distribuído entre linhagens brasileiras de insetos-praga de produtos armazenados. Isto se deve, principalmente, a falta de hermeticidade das estruturas armazenadoras e ao emprego de técnicas inadequadas de fumigação que favorecem o desenvolvimento da resistência à fosfina. A baixa hermeticidade dos armazéns graneleiros e silos metálicos favorecem o vazamento de gás, expondo os insetos-praga a concentrações subletais de fosfina, gerando falhas de controle e aumento da frequência de aplicações favorecendo o desenvolvimento da resistência à fosfina. Diante do exposto, o foco principal deste estudo foi verificar o comportamento locomotor de indivíduos de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) sob concentrações subletais de fosfina, e determinar a magnitude do desenvolvimento de resistência à fosfina e estabilidade da resistência, determinando possíveis alterações fisiológicas, comportamentais e custos adaptativos associados à resistência. A exposição dos insetos a concentrações crescentes de fosfina reduziu a mobilidade destes, nas três populações de *R. dominica*. A redução da mobilidade dos insetos minimiza fuga podendo aumentar a exposição ao fumigante, aumentando a eficácia de fumigação. Assim, a atividade locomotora de insetos-praga sob concentrações subletais de fosfina deve ser considerada em pesquisas de manejo da resistência e em programas de manejo integrado de pragas de produtos armazenados. A evolução da resistência à fosfina mostrou-se rápida, com incremento de ≈ 69 vezes em 10 gerações sob seleção. A resistência à fosfina demonstrou estabilidade na população resistente,

mantida sem pressão de seleção por 10 gerações. A taxa respiratória dos insetos reduz com a evolução da resistência à fosfina, enquanto a taxa de crescimento populacional aumenta com a evolução da resistência à fosfina. A perda de massa dos grãos e a massa corpórea não exibem tendência de incremento ou decréscimo para as duas populações, selecionada e não selecionada. A população selecionada apresentou redução da mobilidade ao longo das 10 gerações avaliadas, enquanto a população não selecionada apresentou comportamento inverso. Contudo, a capacidade de voo é incrementada durante as gerações selecionadas, enquanto a população que não foi selecionada não apresentou tendência de aumento ou redução no percentual de insetos que iniciam voo ao longo das gerações. As informações geradas neste estudo sobre a magnitude do desenvolvimento da resistência à fosfina, a estabilidade da resistência, assim como o comportamento de populações de insetos-praga sob concentrações subletais de fosfina proporcionam subsídios ao refino das atuais técnicas de fumigação e táticas de controle empregadas no manejo integrado de pragas de grãos armazenados.

Abstract

PIMENTEL, Marco Aurélio Guerra, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2010. **Behavioral response and selection for resistance to phosphine in *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae).** Advisor: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-advisors: Raul Narciso Carvalho Guedes and Marcos Rogério Tótola.

The phenomenon of phosphine resistance is widely distributed among Brazilian populations of insect pests of stored products. This scenario is due mainly to lack of gas-tightness on storage facilities that favors the development of resistance to phosphine, as well as the use of inadequate techniques of fumigation. The lack of gas-tightness of bulk warehouses and silos favors leaking, exposing the pest insects to sublethal concentrations of phosphine, which will help the development of resistance to phosphine by these populations. According the assumptions, the main focus of this study was to investigate the locomotory behavior of populations of *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) under sublethal concentrations of phosphine, and determine the magnitude of the development of phosphine resistance and its stability, determining possible physiological, behavioral and fitness costs associated. The exposure of insects to increasing concentrations of phosphine reduced their mobility, for the three studied populations of *R. dominica*. The lowest mobility of insects reduces exposure to the fumigant, compromising the effectiveness of fumigation. Thus, the locomotory activity of insect pests under sublethal concentrations of phosphine should be considered in studies of resistance management and integrated pest management of stored products. The evolution of resistance to phosphine was shown to be faster, with an increase of ≈ 69 times in 10 generations under selection. Resistance to phosphine showed stability in the resistant population, maintained without selection pressure for 10 generations. The insect respiration rate decreases with the evolution of phosphine resistance, while the

population growth rate increases with the evolution of phosphine resistance. The loss of grain weight and body mass show no tendency to increase or decrease for the two populations, selected and not selected. The selected population showed a decrease in mobility over the 10 generations evaluated, while the unselected population showed an opposite behavior. However, flight capacity is increased during the generations of selection, while the population not selected did not affect taking-off for flight over the generations. The information generated in this study on the magnitude of the development of resistance to phosphine, the stability of resistance, as well as the behavior of populations of pest insects under sublethal concentrations of phosphine provide subsidies for refining current techniques of fumigation and pest control used in integrated pest management of stored grains.

Introdução Geral

O fenômeno da resistência de artrópodes a inseticidas vem sendo continuamente relatado em diversas regiões do mundo. Atualmente, estimam-se cerca de 7.747 casos de resistência com mais de 331 compostos inseticidas envolvidos. Isto equivale a aproximadamente 5,5% das 10.000 espécies de artrópodes praga resistentes a inseticidas (Whalon, 2008). O impacto econômico da resistência a inseticidas aponta valores vultosos, com prejuízos estimados entre US\$ 1 a 4 bilhões por ano apenas nos Estados Unidos (Pimentel et al., 1991, 1993; Whalon et al., 2008).

O problema da resistência assume importância em insetos-praga de produtos armazenados devido à dependência do uso de inseticidas para seu controle. Tal dependência deve-se à simplicidade deste método de controle, rapidez e economicidade para conter infestações (Guedes, 1991; White & Leesch, 1996). No Brasil, o controle curativo de infestações é feito pela fumigação com fosfina (PH_3), amplamente utilizada na proteção de produtos armazenados devido ao seu baixo custo, eficiência e facilidade de uso (Guedes, 1991; Chaudhry, 1997; Bell, 2000).

A escassez de formas alternativas de controle registradas e as vantagens apresentadas pela fosfina favoreceram a intensificação do seu uso, aumentando a pressão de seleção, o que culminou na evolução rápida da resistência (Roush & McKenzie, 1987; Andow et al., 2008) em linhagens brasileiras de insetos de produtos armazenados, a partir da década de 90 (Pacheco et al., 1990; Sartori et al., 1990).

Estudos recentes registraram altos níveis de resistência à fosfina em populações brasileiras de insetos-praga de produtos armazenados, com destaque para as populações de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) e *Tribolium castaneum* Herbst

(Coleoptera: Tenebrionidae) (Lorini et al., 2007; Pimentel et al., 2007, 2008, 2009). Estes estudos revelaram desvantagens adaptativas, influenciando negativamente o desenvolvimento e o crescimento populacional dos insetos resistentes e redução da taxa respiratória das populações resistentes como principal mecanismo de resistência à fosfina (Pimentel et al., 2007, 2008, 2009; Sousa et al., 2009).

Apesar da importância destas informações no desenvolvimento de programas de manejo de resistência a inseticidas (Denholm & Rowland, 1992; Subramanyam & Hagstrum, 1996; Coustau et al., 2000), ainda são necessários estudos das características comportamentais associadas à resistência à fosfina, bem como aspectos relacionados à evolução desta resistência. Além disso, não existem estudos que abordem o comportamento locomotor de insetos-praga resistentes e suscetíveis, tampouco o comportamento de indivíduos sob fumigação.

Estudos que determinem o desenvolvimento da resistência à fosfina podem prover informações fundamentais aos programas de manejo de resistência, tais como o número de gerações e de fumigações necessárias para o desenvolvimento de níveis elevados de resistência, a magnitude da evolução de mecanismos, aspectos fisiológicos, comportamentais e a evolução de custos adaptativos associados à resistência à fosfina.

O desenvolvimento de resistência em laboratório (seleção em laboratório) produz informações importantes a respeito de níveis e mecanismos de resistência, muito próximos aos níveis verificados a campo, por isso são de grande utilidade na mitigação da resistência e mais ainda em seu manejo (Roush & McKenzie, 1987). Assim, esforços que quantificam a magnitude de desenvolvimento da resistência, acompanhando a evolução de mecanismos, alterações comportamentais e fisiológicas, são fundamentais para o manejo da resistência a

inseticidas (Georghiou, 1972; Roush & McKenzie, 1987; Denholm & Rowland, 1992; Andow et al., 2008).

De forma geral, respostas comportamentais e fisiológicas aos inseticidas estão correlacionadas, em muitas espécies de insetos-praga (Sparks et al., 1989; Via, 1990; Head et al., 1995, 1998; Hoy et al., 1998; Jallow & Hoy, 2006). Estudos sobre a ação dos inseticidas usualmente priorizam os efeitos de caráter fisiológico e bioquímico, dando pouca atenção às respostas comportamentais do organismo resultantes da exposição ao inseticida (Kongmee et al., 2004; Guedes et al., 2009). A sobrevivência do inseto pode ser favorecida se o seu comportamento for modificado para evitar ou reduzir a exposição a um ambiente com gás, por conseguinte, a fumigação se torna menos eficaz, e o controle e o manejo dos insetos-praga torna-se mais difícil (Haynes, 1988; Barson et al., 1992).

Associado à sobrevivência dos insetos graças às fumigações ineficientes e às suas alterações comportamentais, os insetos são ainda submetidos à fumigação em ambientes que não apresentam boas condições de hermeticidade, gerando concentrações subletais de fosfina, favorecendo falhas de controle que culminam com o aumento da frequência de aplicações, acentuando o risco de desenvolvimento de populações resistentes (Haynes, 1988; Chaudhry, 1997; Bell, 2000). Estudos que enfocam o comportamento dos insetos sob concentrações subletais de fosfina são escassos, mesmo podendo prover informações de extrema aplicabilidade prática.

Neste contexto, o presente estudo enfoca o comportamento locomotor de adultos de *R. dominica* submetidos à fumigação em concentrações subletais de fosfina, além de verificar a influência de desvantagem adaptativa no comportamento locomotor (Artigo 1); e determinar a magnitude do desenvolvimento de resistência à fosfina e sua estabilidade, além de determinar possíveis alterações fisiológicas e comportamentais e a associação do

desenvolvimento da resistência com custos adaptativos em populações de *R. dominica* (Artigo 2).

Referências Bibliográficas

- ANDOW, D.A.; FITT, G.P.; GRAFIUS, E.J.; JACKSON, R.E.; RADCLIFFE, E.B.; RAGSDALE, D.W.; ROSSITER, L. Pesticide and transgenic plant resistance management in the field. In: WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. (Org.). *Global Pesticide Resistance in Arthropods*. Wallingford: CAB International, 2008, p. 90-118.
- BARSON, G.; FLEMING, D.A.; ALLAN, E. Laboratory assessment of the behavioral-responses of residual populations of *Oryzaephilus-surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) to the contact insecticide pirimiphos-methyl by linear logistic modelling. *Journal of Stored Products Research*; v. 28, n. 3, p. 161-170. 1992.
- BELL, C.H. Fumigation in the 21st century. *Crop Protection*, v. 19, p. 563-569. 2000.
- CHAUDHRY, M.Q. A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored-product insects. *Pesticide Science*, v. 49, p. 213-228. 1997.
- COUSTAU, C.; CHEVILLON, C.; FFRENCH-CONSTANT, R.H. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? *Trends in Ecology and Evolution*, v. 15, p. 378-383. 2000.
- DENHOLM, I.; ROWLAND, M.W. Tactics for managing pesticide resistance in arthropods: theory and practice. *Annual Review of Entomology*, v. 37, p. 91-112. 1992.
- GEORGHIOU, G.P. The evolution of resistance to pesticides. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 3, p. 133-168. 1972.
- GUEDES, N.M.P.; GUEDES, R.N.C.; FERREIRA, G.H.; SILVA, L.B. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and resistant strains of *Sitophilus zeamais*

- exposed to deltamethrin. *Bulletin of Entomological Research*, v. 99, n. 4, p. 393-400. 2009.
- GUEDES, R.N.C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. *Revista Brasileira de Armazenamento*, v. 15, p. 39-48, 1991.
- HAYNES, K.F. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Review of Entomology*, v. 33, p. 149–168. 1988.
- HEAD, G.; HOY, C.W.; HALL, F.R. Genetics of response to permethrin in unexposed diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) populations. *Annals of Entomological Society of America*, v. 91, p. 217-221. 1998.
- HEAD, G.; HOY, C.W.; HALL, F.R. Quantitative genetics of behavioral and physiological response to permethrin in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 88, p. 447-453. 1995.
- 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.
- JALLOW, M.F.A.; HOY, C.W. Quantitative genetics of adult behavioral response and larval physiological tolerance to permethrin in diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 99, p. 1388-1395. 2006.
- KONGMEE, M.; PRABARIPAI, A.; AKRATANAKUL, P.; BANGS, M.J.; CHAREONVIRIYAPHAP, T. Behavioral responses of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) exposed to deltamethrin and possible implications for disease control. *Journal of Medical Entomology*, v.41, p.1055-1063. 2004.
- LORINI, I.; COLLINS, P.J.; DAGLISH, G.J.; NAYAK, M.K.; PAVIC, H. Detection and characterization of strong resistance to phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *Pest Management Science*, v. 63, n. 4, p. 358-364. 2007.

- PACHECO, I.A.; SARTORI, M.R.; TAYLOR, R.W.D. Levantamento de resistência de insetos-praga de grãos armazenados à fosfina no estado de São Paulo. *Coletânea do ITAL*, v. 20, n. 2, p. 144-154. 1990.
- PIMENTEL, D.; ACQUAY, H.; BILTONEN, M.; RICE, P.; SILVA, M.; NELSON, J.; LIPNER, V.; GIORDANO, S.; HOROWITZ, A.; D'AMORE, M. Assessment of environmental and economic impacts of pesticide use. In: PIMENTEL, D.; LEHMAN, H. (Org.). *The Pesticide Question: Environment, Economics, and Ethics*. Chapman & Hall, Inc., New York, 1993. p. 47–84.
- PIMENTEL, D.; MCLAUGHLIN, L.; ZEPP, A.; LAKITAN, B.; KRAUS, T.; KLEINMAN, P.; VANCINI, F.; ROACH, W.J.; GRAAP, E.; KEETON, W.S.; SELIG, G. Environmental and economic impacts of reducing US agricultural pesticide use. In: PIMENTEL, D. (Org.). *Handbook of Pest Management in Agriculture*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1991. p. 679–718.
- PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D'A.; BATISTA, M.D.; SILVA, F.H. Resistance of stored-product insects to phosphine. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, p. 1671-1676. 2008.
- PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D'A.; GUEDES, R.N.C.; SOUSA, A.H.; TÓTOLA, M.R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, v. 45, n. 1, p. 71-74. 2009.
- PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D'A.; TÓTOLA, M.R.; GUEDES, R.N.C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. *Pest Management Science*, v. 63, p. 876–881. 2007.

- ROUSH, R.T.; MCKENZIE, J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annual Review of Entomology*, v. 32, p. 361-380. 1987.
- SARTORI, M.R.; PACHECO, I.A.; VILAR, R.M.G. Resistance to phosphine in stored grain insects in Brazil. In: 5th INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 1990, Bordeaux, France. Proceedings... Bordeaux: INRA, Bordeaux, France, 1990. p 1041–1049.
- SOUSA, A.H.; FARONI, L.R.D'A.; PIMENTEL, M.A.G.P.; GUEDES, R.N.C. Developmental and population growth rates of phosphine-resistant and susceptible populations of stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research*, v. 45, p. 241-246. 2009.
- SPARKS, T.C.; LOCKWOOD, J.A.; BYFORD, R.L.; GRAVES, J.B.; LEONARD, B.R. The role of behavior in insecticide resistance. *Pesticide Science*, v. 26, p. 383-399. 1989.
- SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. Resistance measurement and management. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. (Org.). *Integrated Management of Insects in Stored Products*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996, p. 331-397.
- VIA, S. Ecological genetics and host adaptation in herbivorous insects: the experimental study of evolution in natural and agricultural systems. *Annual Review of Entomology*, v. 35, p. 421-466. 1990.
- WHALON, M.E. Introduction. In: WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. (Org.). *Global Pesticide Resistance in Arthropods*. Wallingford: CAB International, 2008, p. 1-4.
- WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. Analysis of global pesticide resistance in Arthropods. In: WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.;

HOLLINGWORTH, R.M. (Org.). *Global Pesticide Resistance in Arthropods*.

Wallingford: CAB International, 2008, p. 5-32.

WHITE, N. D. G.; LEESCH, J. G. Chemical Control. In: SUBRAMANYAM, B.;

HAGSTRUM, D.W. (Org.). *Integrated Management of Insects in Stored Products*. New

York: Marcel Dekker, Inc., 1996, p.287-330.

ARTIGO 1

Comportamento locomotor de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) sob concentrações subletais de fosfina

M.A.G. Pimentel ^a, L.R.D'A. Faroni ^b, R.N.C. Guedes ^a

^a *Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-000, Brasil. marcoagp@gmail.com, guedes@ufv.br*

^b *Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-000, Brasil. lfaroni@ufv.br*

Resumo

O objetivo deste estudo foi verificar o comportamento locomotor de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) sob concentrações subletais de fosfina, e investigar a influência de desvantagens adaptativas sobre o comportamento locomotor. Três populações de *R. dominica* foram utilizadas: uma suscetível e duas resistentes à fosfina (com e sem custo adaptativo devido à resistência). Insetos adultos das três populações de *R. dominica* foram submetidos, individualmente, a concentrações subletais de fosfina em uma arena de acrílico hermética. Os parâmetros referentes ao comportamento locomotor foram registrados utilizando-se um sistema de monitoramento por vídeo: distância caminhada, velocidade de caminhada, tempo de repouso e número de paradas do inseto na arena. Os insetos também foram submetidos a bioensaios de concentração-mortalidade com estimativa das concentrações letais para as três populações. De modo geral, o incremento nas concentrações de fosfina reduz a distância caminhada e a velocidade de caminhada. Por outro lado, observa-se aumento no tempo de repouso e no número de paradas na arena com o aumento das concentrações aplicadas para as três populações. A redução da mobilidade dos insetos pode aumentar a exposição ao fumigante, maximizando a eficácia de fumigação, em ambientes sem possibilidade de escape ou fuga. Assim, a atividade locomotora de insetos-praga sob concentrações subletais de fosfina fornece novas informações que podem ser adicionadas ao manejo da resistência e em programas de manejo integrado de pragas de produtos armazenados.

Palavras-chave: Menor broqueador dos grãos, resistência à fosfina, resistência comportamental, fumigação, pragas de grãos armazenados.

Abstract

The aim of this study was to investigate the locomotory behavior of *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) populations under sublethal phosphine concentrations, and investigate the influence of adaptive costs on locomotory behavior. Three populations of *R. dominica* were used, one susceptible and two resistant to phosphine (with and without adaptive costs). Adults of the three populations of *R. dominica* were individually submitted to sublethal phosphine concentrations on acrylic hermetic arena. The following parameters related to locomotory behavior were recorded using a video monitoring system: walking distance, walking velocity, resting time and number of stops on the arena. Concentration-mortality curves were performed, and lethal concentrations were estimated for the three populations. The increase in phosphine concentrations reduces the walking distance and walking velocity. Moreover, there is an increase in the resting time and the number of stops on the arena with the increasing phosphine concentrations, for the three populations. Low mobility of insects reduces exposure to the fumigant, compromising its effectiveness. Thus, the locomotory activity of insect pests under sublethal phosphine concentrations should be considered in resistance management programs and integrated pest management of stored product insects.

Key Words: Lesser grain borer, phosphine resistance, behavioral resistance, fumigation, stored grain insect pests.

1. Introdução

O fumigante fosfina (PH_3) é amplamente utilizado na proteção de produtos armazenados devido ao seu baixo custo, eficácia, rápida difusão no ar, facilidade de uso e pelos baixos resíduos que podem contaminar os grãos (Chaudhry, 1997; Bell, 2000). Estas vantagens somadas à eliminação gradual das substâncias que depreciam a camada de ozônio, como o brometo de metila, apontam a fosfina como o principal fumigante disponível para a proteção dos grãos armazenados (UNEP, 1995; White & Leesch, 1996; Bell, 2000; Zettler & Arthur, 2000; Mills, 2001; Darglish, 2004).

A utilização massiva e intensa da fosfina vem proporcionando uma seleção de populações resistentes em todo mundo e conseqüente redução da eficiência do controle de insetos-praga (Rajendran, 1999; Zeng, 1999; Bell, 2000; Mills, 2001; Collins et al., 2003; Lorini et al., 2007; Pimentel et al., 2007). No Brasil o primeiro levantamento para detecção de resistência à fosfina foi realizado no período de 1972/1973 pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), que à época não detectou populações resistentes (Champ & Dyte, 1976). O primeiro relato de resistência à fosfina no Brasil em insetos-praga de produtos armazenados data da década de 90 (Pacheco et al., 1990; Sartori et al., 1990). Após este relato, estudos recentes detectaram altos níveis de resistência à fosfina em populações brasileiras de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) (Lorini et al., 2007; Pimentel et al., 2007). Estes estudos revelaram ainda desvantagens adaptativas, influenciando negativamente o desenvolvimento dos insetos resistentes, e redução da taxa respiratória das populações resistentes como principal mecanismo de resistência à fosfina (Pimentel et al., 2007; Sousa et al., 2009).

Os insetos-praga de produtos armazenados podem resistir à fumigação com fosfina tanto pela evolução de mecanismos fisiológicos, como pela redução da taxa respiratória, como

também por mecanismos comportamentais, que podem minimizar a exposição de uma população ao fumigante, evitando assim os efeitos letais da fosfina (Georghiou, 1972; Lockwood et al., 1984; Haynes, 1988; Hoy et al., 1998).

Estudos sobre a ação dos inseticidas usualmente priorizam os efeitos de caráter fisiológico e bioquímico, dando pouca atenção às respostas comportamentais do organismo resultantes da exposição ao inseticida (Kongmee et al., 2004; Guedes et al., 2009). Estudos comportamentais sobre resistência à fosfina são escassos na literatura. Winks (1985) e Winks & Waterford (1986) sugeriram a narcose como um mecanismo de proteção em insetos expostos a altas concentrações de fosfina, contudo, estes autores não exploraram os possíveis mecanismos comportamentais desenvolvidos pelos insetos. Este cenário tem motivado esforços para determinação de possíveis alterações ou adaptações comportamentais dos insetos como mecanismo de resistência à fosfina. Estas características bióticas relacionadas com a resistência a inseticidas, como repelência a inseticidas, desvantagens adaptativas e resistência comportamental, podem apresentar importância prática no manejo da resistência (Lockwood et al., 1984; Denholm & Rowland, 1992; Hoy et al., 1998; Guedes et al., 2008, 2009; Pereira et al., 2009).

O uso de inseticida, em níveis que não causam mortalidade, pode influenciar o comportamento dos insetos. No entanto, existem poucos estudos que abordam com maior detalhamento potenciais efeitos comportamentais de doses subletais de fosfina em populações de insetos-praga (Haynes, 1988). Muitas unidades armazenadoras em todo mundo, não apresentam condições ideais de hermeticidade em suas estruturas (Bell, 2000; Mills, 2001; Lorini et al., 2007; Pimentel et al., 2007). Assim, os insetos submetidos à fumigação ficam expostos a concentrações subletais de fosfina, que são ineficientes no controle, gerando falhas

de controle e favorecendo a repetição de aplicações de produtos, o que favorece a seleção para resistência (Haynes, 1988; Chaudhry, 1997; Bell, 2000; Mills, 2001).

O comportamento de diferentes populações submetidas a concentrações subletais é um tema pouco estudado. Bond & Uptis (1973) e Hobbs & Bond (1989) estudaram o efeito de concentrações subletais de fosfina no desenvolvimento e mortalidade de diferentes espécies de insetos-praga de produtos armazenados. Contudo, não se conhecem estudos com foco nas alterações comportamentais associadas ao caminhamento dos insetos com diferentes níveis de suscetibilidade sob fumigação. A sobrevivência do inseto pode ser favorecida se o seu comportamento é modificado para evitar um ambiente com gás, por conseguinte, a fumigação se torna menos eficaz e o controle e o manejo dos insetos-praga mais difícil (Haynes, 1988; Barson et al., 1992).

A elucidação de possíveis modificações comportamentais de indivíduos expostos à fumigação pode proporcionar novos caminhos para maior efetividade do manejo integrado de pragas de produtos armazenados. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo verificar padrões comportamentais de caminhamento dos indivíduos de diferentes populações brasileiras de *R. dominica* sob fumigação. Investigou-se ainda se a presença de desvantagens adaptativas, associadas com a resistência à fosfina, pode influenciar os padrões comportamentais de caminhamento dos indivíduos sob fumigação.

2. Material e Métodos

2.1. Populações de Insetos

Os bioensaios foram realizados utilizando-se três populações de *R. dominica*. A primeira população utilizada neste trabalho foi considerada padrão de susceptibilidade à fosfina. Esta população é proveniente do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA)/

USP, localizado no município de Piracicaba, SP e vem sendo criada em laboratório por aproximadamente seis anos na ausência de inseticidas. A suscetibilidade à fosfina desta população é conhecida e sempre verificada (Pimentel et al., 2007, 2008). A segunda população foi originalmente coletada em silos com grãos de milho e sorgo infestados no município de Uberlândia, MG em 2004. A população de Uberlândia é resistente à fosfina e não apresenta custo adaptativo devido à resistência (resistente sem custo) (Pimentel et al., 2007, 2008).

A terceira população foi originalmente coletada em silos com grãos de milho infestados no município de Palmital, SP em 2005. Esta população é resistente à fosfina e apresenta pior desempenho reprodutivo em relação à população suscetível, caracterizando desvantagem adaptativa devido à resistência (resistente com custo). A resistência à fosfina desta população é conhecida assim como a presença de desvantagem (custo) adaptativa em relação à população suscetível (Pimentel et al., 2007, 2008; Sousa et al., 2009).

As populações foram multiplicadas a partir dos insetos contidos nas amostras originais coletadas no campo, e as criações foram mantidas em recipientes de vidro (1,5 L), dentro de câmaras climáticas tipo B.O.D., sob condições controladas de temperatura (30 ± 2 °C) e umidade relativa ($70 \pm 10\%$). O substrato utilizado para manutenção das populações foi trigo (grãos inteiros) com 13% de umidade, isento de pragas e inseticidas.

2.2. Bioensaios de concentração-resposta

Os bioensaios de toxicidade à fosfina foram conduzidos conforme método padrão recomendado pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) (FAO, 1975). Para a estimativa das curvas de concentração-resposta para as três populações, procedeu-se à exposição de 50 insetos adultos, em quatro repetições, por um período de 20 h à

concentração discriminante (CD) do gás fumigante ($0,03 \text{ mg L}^{-1}$ para *R. dominica*) a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e 70% UR. Com base na mortalidade dos insetos nesta concentração, foram estipuladas concentrações maiores ou menores a fim de se obterem valores de mortalidade variando entre 0 a 100%. Assim, foi estipulada uma faixa de cinco a oito concentrações, que contemplassem o intervalo de mortalidade de 0 a 100%, para as três populações testadas.

O gás fumigante fosfina (86% de pureza) foi produzido utilizando-se comprimidos de fosfeto de alumínio (0,6 g) em solução ácida (5% ácido sulfúrico). Os insetos adultos foram acondicionados em frascos plásticos (7,0 cm de diâmetro superior \times 5,5 cm de diâmetro inferior) ventilados (volume de 140 mL). Como câmaras de fumigação, foram utilizados dessecadores de vidro, adaptados com uma mangueira de silicone (10 cm de comprimento). A aplicação do gás nos dessecadores foi realizada por meio de seringa específica para gases (Hamilton Gastight[®] Syringes, Nevada, USA) diretamente nas mangueiras de silicone adaptadas aos dessecadores.

Após o período de exposição ao gás fumigante (20 h), os insetos foram retirados dos dessecadores, expostos ao ar atmosférico por cerca de 30 min. e posteriormente transferidos para placas de Petri (140 mm de diâmetro \times 10 mm de altura), com a mesma dieta utilizada nas criações. Estas placas foram mantidas armazenadas por 14 dias em câmaras tipo B.O.D. ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), conforme o método padrão. Após este período, foram realizadas as avaliações de mortalidade, contando-se os insetos mortos e vivos.

2.3. Bioensaios comportamentais

A metodologia utilizada nos bioensaios comportamentais foi adaptada de Watson & Barson (1996), Watson et al. (1997), Pereira et al. (2009) e Guedes et al. (2008, 2009). As arenas utilizadas nestes bioensaios foram confeccionadas em material acrílico transparente,

com 15,0 cm de diâmetro e volume interno de 0,345 L. Para introdução dos insetos adultos foi deixada uma abertura lateral de 1,3 cm de diâmetro lacrada com septo de borracha (tipo penicilina) e selada com cola quente, durante os bioensaios com fosfina.

O gás fosfina, gerado em condições já descritas, foi injetado na arena através do septo de borracha com o auxílio de seringas específicas para gases, em uma concentração pré-determinada. Foram utilizadas seis concentrações de fosfina para cada população: a concentração recomendada para fumigação ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$) e concentrações estimadas pelas curvas de concentração-resposta para cada população (correspondente a CL_{10} , CL_{50} , CL_{75} , CL_{95}), mais o tratamento controle sem aplicação de gás. É interessante salientar que a escolha destas concentrações foi baseada nas curvas de concentração-mortalidade determinadas para as três populações. Contudo, estas concentrações tornam-se subletais, devido ao curto período de exposição utilizado nos bioensaios de comportamento locomotor (10 min.) em relação ao período de exposição utilizado na estimativa das curvas de concentração-mortalidade (20 h). Para a população suscetível, as concentrações utilizadas foram de: 0,00; 0,010; 0,067; 0,18; 0,76 e $2,00 \text{ mg L}^{-1}$; para a população resistente sem custo, de: 0,00; 0,66; 2,00; 2,73; 5,76 e $16,89 \text{ mg L}^{-1}$; e para a população resistente com custo, de: 0,00; 2,00; 3,74; 5,72; 7,15 e $9,87 \text{ mg L}^{-1}$. De acordo com ensaios preliminares, estas concentrações de fosfina não causam nenhum efeito letal nos insetos expostos por intervalos curtos (<20 min.).

Nos ensaios comportamentais, foram utilizados insetos adultos, não-sexados, com idade entre 3 e 7 dias após a emergência. Os insetos foram pré-aclimatados às arenas por um período de 24 h, antes dos bioensaios definitivos. Posteriormente, um inseto adulto foi colocado na arena, procedeu-se então o seu fechamento com septo de borracha e cola quente, aplicação do gás na concentração requerida e posterior acomodação sob o sistema de rastreamento formado por uma câmera de vídeo acoplada a um computador por um período

de 10 min. (ViewPoint Life Sciences Inc., Montreal – Canadá). Os parâmetros comportamentais avaliados foram distância percorrida (cm), tempo em movimento (s), velocidade média de caminhada (cm s^{-1}) e número de paradas na arena, que é o número de vezes que o inseto interrompe o movimento na arena. O experimento foi delineado inteiramente ao acaso com 20 repetições e estruturado em um fatorial (3 populações \times 6 concentrações) cada repetição constituindo-se de um único inseto para cada concentração aplicada nas três populações. A cada repetição, a arena foi substituída por outra previamente limpa e arejada para completa eliminação de possíveis resíduos do gás fumigante.

2.4. Análises estatísticas

Os resultados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit (Finney, 1971), por intermédio do procedimento PROC PROBIT do programa SAS (SAS Institute, 2000), gerando as curvas de concentração-mortalidade. Os dados de mortalidade obtidos foram corrigidos pela mortalidade que ocorreu no tratamento controle (Abbott, 1925). A razão de resistência (RR) e o intervalo de confiança ($P < 0,95$) para cada população foram calculados segundo metodologia proposta por Robertson et al. (2007).

Os parâmetros de caminhada das três populações de *R. dominica* sob fumigação foram submetidos à análise de regressão utilizando-se o programa TableCurve 2D para ajuste dos modelos de regressão (SPSS, 2000). Os modelos de regressão foram testados desde os mais simples (linear e não linear) até modelos alternativos de maior complexidade (não-linear exponencial). A seleção do modelo foi realizada com base na simplicidade, aliando valores elevados de F (e quadrado médio) e no incremento do coeficiente de determinação (R^2) com a complexidade do modelo. Os dados referentes ao caminhada das três populações de *R. dominica* no tratamento controle (sem aplicação de fosfina) foram submetidos à análise de

variância univariada (PROC UNIVARIATE; SAS Institute, 2000), seguida de teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o procedimento PROC GLM do programa SAS (SAS Institute, 2000).

3. Resultados

3.1. Toxicidade a fosfina

Os resultados dos bioensaios de concentração-mortalidade para as três populações de *R. dominica* mostram baixos valores de qui-quadrado (χ^2) (<7,00) e valores elevados de *P* (>0,05), indicando adequação dos dados ao modelo probit para estimativa das curvas de concentração-mortalidade. Isto possibilitou as estimativas das concentrações letais para as três populações (Tabela 1).

As curvas de concentração-mortalidade indicaram níveis elevados de resistência à fosfina para duas populações sabidamente resistentes, que apresentaram razão de resistência (RR) superior a 85 e 44 vezes (resistente com custo e resistente sem custo, respectivamente). Os resultados também confirmam a suscetibilidade à fosfina da população suscetível, conforme determinado por Pimentel et al. (2007). As inclinações das curvas de concentração-mortalidade variaram entre as populações, variação que esteve entre $1,55 \pm 0,12$ (população suscetível) e $6,94 \pm 0,52$ (população resistente com custo) (Tabela 1).

3.2. Bioensaios comportamentais

Os padrões característicos de caminhamento para as três populações de *R. dominica* em arena completamente tratada com concentração subletal (correspondente a CL_{95} estimada para cada população) e no tratamento controle são apresentados na Figura 1. Os padrões de caminhamento ilustram o comportamento das três populações de *R. dominica* na arena tratada, evidenciando o efeito subletal da fumigação sobre os insetos. O incremento nas concentrações de fosfina reduz a distância caminhada, assim como a velocidade de caminhamento. Por outro lado, observa-se aumento no tempo de repouso e no número de paradas na arena com o aumento das concentrações aplicadas (Figuras 2 a 5).

Os resultados referentes à distância percorrida no tratamento controle (sem aplicação de fosfina) mostraram diferença significativa entre as três populações ($F_{2,59} = 9,59$; $P < 0,0003$), com a população suscetível percorrendo maior distância ($325,65 \pm 45,84$ cm) e a população resistente com custo a menor distância ($276,97 \pm 30,13$ cm) (Tabela 2). Os demais parâmetros de caminhada, tempo de repouso ($F_{2,59} = 1,86$; $P > 0,1647$), velocidade de caminhada ($F_{2,59} = 1,17$; $P > 0,3173$) e número de paradas na arena ($F_{2,59} = 2,94$; $P > 0,0607$) não apresentaram diferença significativa no tratamento controle (Tabela 2).

Os resultados das curvas ajustadas, bem como os modelos, para os quatro parâmetros de caminhada na arena tratada com diferentes concentrações de fosfina são apresentados na Tabela 3. As curvas de distância caminhada para as duas populações resistentes foram adequadamente ajustadas utilizando-se regressão linear simples, enquanto a população suscetível obteve melhor ajuste com o modelo de potência (Tabela 3). As curvas referentes ao tempo de repouso para as populações resistente com custo e suscetível foram ajustadas utilizando-se modelos de potência, enquanto a curva para a população resistente sem custo obteve melhor ajuste com o modelo linear simples (Tabela 3). As curvas referentes ao parâmetro velocidade de caminhada foram ajustadas utilizando-se o modelo potência, para as três populações (Tabela 3). Para o número de paradas na arena, as curvas das populações resistentes foram ajustadas com o modelo linear simples, enquanto a curva para a população suscetível foi mais bem representada pelo modelo potência (Tabela 3).

Observou-se tendência de redução da distância caminhada com o aumento da concentração de fosfina para as três populações avaliadas (Figura 2). A população resistente com custo apresentou maior decréscimo relativo na distância caminhada entre as três populações de *R. dominica* (Figura 2). A população resistente com custo apresentou redução média na distância caminhada de 52,5% na CL_{05} ($9,87 \text{ mg L}^{-1}$) em relação ao controle (0,00

mg L⁻¹). Menor redução relativa na distância caminhada quando se compara o controle com a maior concentração aplicada foi observada na população suscetível e na população resistente sem custo, cuja variação foi de 36,5% e 23,7%, respectivamente (Figura 2).

A população resistente com custo novamente apresentou maior incremento no tempo de repouso entre o tratamento controle e a maior concentração aplicada, com variação próxima de 55% de aumento no tempo de repouso (Figura 3). A população suscetível e a população resistente sem custo apresentaram aumento no tempo de repouso de 44% e 45%, respectivamente, entre a menor e maior concentração aplicada, valores inferiores em relação à população resistente com custo (Figura 3).

Observou-se redução na velocidade de caminhada com o aumento da concentração de fosfina aplicada, para as três populações de *R. dominica* avaliadas (Figura 4). A população resistente com custo apresentou maior redução na velocidade de caminhada com o aumento das concentrações aplicadas entre as três populações estudadas. A população resistente com custo apresentou 26% de redução na velocidade de caminhada entre o tratamento controle e a maior concentração aplicada (Figura 4). A população suscetível e a população resistente sem custo apresentaram redução mais discreta na velocidade de caminhada em comparação com a população resistente com custo. A redução média na velocidade de caminhada para a população suscetível e a população resistente sem custo foi de aproximadamente 8,2% e 2,7% entre o tratamento controle e a maior concentração aplicada (Figura 4).

O número médio de paradas na arena foi maior à medida que se aumentaram as concentrações de fosfina aplicada, para as três populações de *R. dominica* avaliadas. Isto significa que os insetos tendem a aumentar o número de paradas em concentrações maiores do gás fumigante (Figura 5). A inclinação da curva da população resistente com custo foi

superior à inclinação das demais populações, ou seja, a população resistente com custo apresentou maior incremento no número de paradas na arena entre o tratamento controle e a maior concentração aplicada, isto representa uma variação de 20% de aumento no número de paradas na arena nas maiores concentrações (Figura 5). A população suscetível assim como a população resistente sem custo apresentaram menor incremento entre o tratamento controle e a maior concentração aplicada, cerca de 13,7% e 11,3%, respectivamente.

4. Discussão

Resistência à fosfina em populações brasileiras de *R. dominca* tem sido relatada com certa frequência nas últimas duas décadas (Pacheco et al., 1990; Sartori et al., 1990; Lorini et al., 2007; Pimentel et al., 2007, 2008). Contudo, estudos recentes, além de apontarem níveis elevados de resistência à fosfina, assinalam a redução da taxa respiratória das linhagens resistentes como mecanismo predominante de resistência, e relatam ainda desvantagens adaptativas de algumas populações devido à resistência (Pimentel et al., 2007; Sousa et al., 2009). Os resultados dos bioensaios de concentração-resposta mostram que as populações resistentes (com e sem custo) mantêm níveis elevados de resistência à fosfina, quando comparadas com estudos anteriores (Pimentel et al., 2007, 2008) e com outros estudos semelhantes com populações brasileiras (Lorini et al., 2007). A suscetibilidade à fosfina também foi confirmada para a população considerada padrão de suscetibilidade (Pimentel et al., 2007, 2008).

Os resultados dos bioensaios comportamentais mostraram redução da distância caminhada e da velocidade de caminhar das três populações, como resposta induzida pela exposição a concentrações subletais de fosfina. Além disso, o tempo de repouso e o número de paradas na arena aumentaram de forma diretamente proporcional ao aumento das concentrações de fosfina, um padrão que foi observado nas três populações avaliadas. Desta forma, verificaram-se alterações nos padrões comportamentais dos insetos das três populações quando expostos a concentrações subletais de fosfina. Os resultados indicam que indivíduos sob fumigação apresentam redução na mobilidade normal, permanecendo mais tempo parados, percorrendo distâncias menores de forma mais lenta. Guedes et al. (2008) relataram padrão semelhante com redução de mobilidade de *Liposcelis bostrychophila* Badonnel e L.

entomophila (Enderlein) (Psocoptera: Liposcelididae) em arenas de concreto parcialmente (metade) ou totalmente tratadas com β -ciflutrina, clorfenapir e piretrinas.

De acordo com Haynes (1988), alguns compostos inseticidas podem estimular ou até mesmo reduzir a mobilidade, afetando o comportamento locomotor dos insetos. Os inseticidas podem deixar os insetos sem coordenação ou até mesmo promover convulsões, podendo interferir significativamente na reprodução, na localização de presas ou alimento, na dispersão, migração e alimentação destes indivíduos (Haynes, 1988).

A redução da atividade locomotora dos insetos adultos de *R. dominica* sob concentrações subletais de fosfina era, de certa forma, esperada. Isto porque o principal mecanismo de resistência à fosfina relatada em espécies de insetos-praga está relacionado com a menor captação (ou absorção) de fosfina (Price, 1981; Chaudhry, 1997). Esta redução na captação pelos insetos resistentes aparece como resultado da redução da taxa respiratória em populações resistentes à fosfina (Price, 1984; Chaudhry & Price, 1990; Chaudhry, 1997; Pimentel et al., 2007, 2009). A redução da taxa respiratória é um reflexo provável da redução do metabolismo dos insetos, que pode levá-los à paralisia, quando atinge uma concentração limiar (Winks, 1985; Winks & Waterford, 1986; Nakakita, 1987). A redução da atividade locomotora sob fumigação pode ser uma consequência da exposição a altas concentrações do fumigante, que também conduzem à paralisia dos insetos expostos (Winks & Waterford, 1986; Darglish et al., 2004).

Em consequência da redução na distância caminhada e da velocidade de caminamento com o aumento das concentrações de fosfina, o tempo de repouso e o número de paradas na arena tendem a aumentar. Estes foram padrões observados para as três populações avaliadas, porém as duas populações resistentes (principalmente a população resistente com custo) apresentaram comportamento ligeiramente diferenciado em relação à

população suscetível. Esta observação pode confirmar a hipótese que buscava avaliar a influência de desvantagens adaptativas, associadas com a resistência à fosfina, com supostas alterações nos padrões comportamentais de caminhamento destes indivíduos sob fumigação.

No entanto, considerando os resultados do comportamento das três populações no tratamento controle (sem fosfina), pode-se observar que a população resistente com custo percorre uma distância menor, em relação às outras duas populações estudadas (Figuras 1 e 2). Segundo Georghiou (1972), redução na locomoção pode abreviar a exposição e conseqüentemente o contato dos insetos em superfícies ou ambientes tratados com inseticidas de contato. Neste caso, o custo adaptativo pode favorecer a linhagem resistente por proporcionar menor exposição a um ambiente contaminado com inseticidas pela menor locomoção dos indivíduos. Ainda segundo Georghiou (1972), esta característica (locomoção reduzida) pode ter sido incorporada acidentalmente à população ou foi resultado de endogamia, pois a redução no comportamento locomotor dos insetos pode ser um fenômeno comum relacionado a linhagens resistentes (Haynes, 1988). Assim, a redução na distância percorrida e na velocidade de caminhamento por parte da população resistente com custo pode ser explicada pelo alto nível de resistência à fosfina desta população (RR>85 vezes).

Guedes et al. (2009), trabalhando com três populações de caruncho de milho [*Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)] em arenas parcialmente (metade) e totalmente tratadas com resíduo seco de deltametrina, relataram resistência comportamental destas populações expressa por menor atividade locomotora do inseto. Esses autores discutem a resistência comportamental nos carunchos do milho como estímulo-independente, ou seja, a resistência nestas populações é independente da concentração, pois é consequência da diferente composição genética das populações. A redução na atividade locomotora dos carunchos não foi dependente da concentração de deltametrina, cuja relação

não foi significativa, indicando que o comportamento locomotor é característica do sexo e da população, sendo independente dos estímulos das doses do inseticida testados no estudo (Guedes et al., 2009).

A elucidação dos padrões de comportamento locomotor relacionados aos diferentes níveis de resistência à fosfina são considerações importantes para a dispersão da sua resistência à fosfina. Além disso, a redução na distância caminhada com aumento do tempo de repouso potencialmente reduz a exposição ao fumigante, comprometendo a eficácia de fumigação devendo então, ser considerada em pesquisas de manejo da resistência e em programas de manejo integrado de pragas de produtos armazenados.

Os padrões comportamentais verificados para as três populações, submetidas a concentrações subletais de fosfina, podem ser encontrados em instalações de armazenagem sem padrões aceitáveis de hermeticidade (Mills, 2001). A exposição dos indivíduos das diferentes populações a concentrações subletais de fosfina mostrou-se dependente da concentração, pois a redução da distância caminhada e da velocidade de caminhar foi dependente da concentração de fosfina aplicada. Em concentrações mais elevadas de fosfina ou com maiores períodos de exposição, padrões comportamentais semelhantes podem ser verificados, o que pode encorajar mais estudos com impacto prático para a proteção dos produtos armazenados. Estudos posteriores podem ser realizados visando à detecção de resistência comportamental em populações de *R. dominica*, bem como em outras espécies-praga de insetos de produtos armazenados que também apresentam níveis elevados de resistência à fosfina já reportados para o Brasil (Pimentel et al., 2007, 2008, 2009).

5. Referências Bibliográficas

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, v. 18, p. 265-266. 1925.
- BARSON, G.; FLEMING, D.A.; ALLAN, E. Laboratory assessment of the behavioral-responses of residual populations of *Oryzaephilus-surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) to the contact insecticide pirimiphos-methyl by linear logistic modeling. *Journal of Stored Products Research*; v. 28, n. 3, p. 161-170. 1992.
- BELL, C.H. Fumigation in the 21st century. *Crop Protection*, v. 19, p. 563-569. 2000.
- BOND, E.J.; UPITIS, E. Response of three insects to sublethal doses of phosphine. *Journal of Stored Products Research*, v. 8, n. 4, p. 307-312, 1973.
- CHAMP, B.R.; DYTE, C.E. *FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests*. Rome: FAO/UN, 1976. 297 p.
- CHAUDHRY, M.Q. A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored-product insects. *Pesticide Science*, v. 49, p. 213-228. 1997.
- CHAUDHRY, M.Q.; PRICE, N.R. Insect mortality at doses of phosphine which produce equal uptake in susceptible and resistant strains of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Stored Products Research*, v. 26, n. 2, p. 101-107. 1990.
- COLLINS, P.J.; EMERY, R.N.; WALLBANK, B.E. Two decades of monitoring and managing phosphine resistance in Australia. In: 8th INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 2002, York, UK. Proceedings... York: CAB International, Oxford, UK, 2003. p. 570–575.

- DAGLISH, G.J. Effect of exposure period on degree of dominance of phosphine resistance in adults of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera : Curculionidae). *Pest Management Science*, v. 60, n. 8, p. 822-826. 2004.
- DENHOLM, I.; ROWLAND, M.W. Tactics for managing pesticide resistance in arthropods: theory and practice. *Annual Review of Entomology*, v. 37, p. 91-112. 1992.
- FAO, Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. 16: Tentative method for adults of some stored cereals, with methyl bromide and phosphine. *FAO Plant Prot Bull.* v. 23, p. 12–25. 1975.
- FINNEY, D.J. *Probit analysis*. 3rd Edition. Cambridge University Press: UK, 1971. 333 p.
- GEORGHIU, G.P. The evolution of resistance to pesticides. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 3, p. 133–168. 1972.
- GUEDES, N.M.P.; GUEDES, R.N.C.; FERREIRA, G.H.; SILVA, L.B. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and –resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. *Bulletin of Entomological Research*, v. 99, n. 4, p. 393-400. 2009.
- GUEDES, R.N.C.; CAMPBELL, J.F.; ARTHUR, F.H.; OPIT, G.P.; ZHU, K.Y.; THRONE, J.E. Acute lethal and behavioral sublethal responses of two stored-product psocids to surface insecticides. *Pest Management Science*, v. 64, p. 1314–1322. 2008.
- HAYNES, K.F. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Review of Entomology*, v. 33, p. 149–168. 1988.
- HOBBS, S.K.; BOND, E.J. Response of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) to sublethal treatments with phosphine. *Journal of Stored Products Research*, v. 25, p. 137-146. 1989.

- 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.
- KONGMEE, M.; PRABARIPAI, A.; AKRATANAKUL, P.; BANGS, M.J.; CHAREONVIRIYAPHAP, T. Behavioral responses of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) exposed to deltamethrin and possible implications for disease control. *Journal of Medical Entomology*, v.41, p.1055-1063. 2004.
- LOCKWOOD, J.A.; SPARKS, T.C.; STORY, R.N. Evolution of insect resistance to insecticides: a revolution of roles of physiology and behavior. *Bulletin of the Entomological Society of America*, v. 30, n. 4, p. 41-51. 1984.
- LORINI, I.; COLLINS, P.J.; DAGLISH, G.J.; NAYAK, M.K.; PAVIC, H. Detection and characterisation of strong resistance to phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *Pest Management Science*, v. 63, n. 4, p. 358-364. 2007.
- NAKAKITA, H. The mode of action of phosphine. *Journal of Pesticide Science*, v. 12, p. 299–309. 1987.
- MILLS, K.A. Phosphine resistance: where to now? In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON CONTROLLED ATMOSPHERE AND FUMIGATION IN STORED PRODUCTS, 2000, Fresno, CA, USA. Proceedings... Clovis, CA, USA: Executive Printing Services, 2001. p. 583-591.
- PACHECO, I.A.; SARTORI, M.R.; TAYLOR, R.W.D. Levantamento de resistência de insetos-praga de grãos armazenados à fosfina no estado de São Paulo. *Coletânea do ITAL*, v. 20, n. 2, p. 144-154. 1990.
- PEREIRA, C.J.; PEREIRA, E.J.G.; CORDEIRO, E.M.G.; DELLA LUCIA, T.M.C.; TÓTOLA, M.R.; GUEDES, R.N.C. Organophosphate resistance in the maize weevil *Sitophilus zeamais*: Magnitude and behavior. *Crop Protection*, v. 28, p. 168–173. 2009.

- PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D'A.; BATISTA, M.D.; SILVA, F.H. Resistance of stored-product insects to phosphine. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, p. 1671-1676. 2008.
- PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D'A.; GUEDES, R.N.C.; SOUSA, A.H.; TÓTOLA, M.R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, v. 45, n. 1, p. 71-74. 2009.
- PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D'A.; TÓTOLA, M.R.; GUEDES, R.N.C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. *Pest Management Science*, v. 63, p. 876–881. 2007.
- PRICE, N.R. A comparison of the uptake and metabolism of ³²P-radiolabelled phosphine in susceptible and resistant strains of lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 69, p. 129-131. 1981.
- PRICE, N.R. Active exclusion of phosphine as a mechanism of resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Stored Products Research*, v. 20, n. 3, p. 163-168. 1984.
- RAJENDRAN, S. Phosphine resistance in stored grain pests in India. In: 7th INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 1998, Beijing, China. Proceedings... Beijing: House of Science and Technology, Chengdu, China, 1999. p 635–641.
- ROBERTSON, J.L.; RUSSELL, R.M.; PREISLER, H.K.; SAVIN, N.E. *Bioassays with Arthropods*. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2007. 199 p.
- SARTORI, M.R.; PACHECO, I.A.; VILAR, R.M.G. Resistance to phosphine in stored grain insects in Brazil. In: 5th INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-

- PRODUCT PROTECTION, 1990, Bordeaux, France. Proceedings... Bordeaux: INRA, Bordeaux, France, 1990. p 1041–1049.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT User's Guide. Cary, USA, SAS Institute, 2002.
- SOUSA, A.H.; FARONI, L.R.D'A.; PIMENTEL, M.A.G.P.; GUEDES, R.N.C. Developmental and population growth rates of phosphine-resistant and -susceptible populations of stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research*, v. 45, p. 241-246. 2009.
- SPSS, 2000. TableCurve 2D user's guide. SPSS, Chicago, IL.
- UNEP. *Montreal Protocol on substances that deplete the ozone layer. 1994. Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. 1995 Assessment.* UNEP, Nairobi, Kenya, 1995. 304 p.
- 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, n. 1, p.59-67. 1996.
- WATSON, E.; BARSON, G.; PINNIGER, D.B.; LUDLOW, A.R. Evaluation of the behavioural responses of *Anthrenus verbasci* adults and larvae to permethrin (e.c.) using a computerized tracking system. *Journal of Stored Products Research*, v. 33, n. 4, p. 335-346. 1997.
- WHITE, N. D. G.; LEESCH, J. G. Chemical Control. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. (Org.). *Integrated Management of Insects in Stored Products*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996, p.287-330.

- WINKS, R.G. The toxicity of phosphine to adults of *Tribolium castaneum* (Herbst): Phosphine-induced narcosis. *Journal of Stored Products Research*, v. 21, n. 1, p. 25-29. 1985.
- WINKS, R.G.; WATERFORD, C.J. The relationship between concentration and time in the toxicity of phosphine to adults of a resistant strain of *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*, v. 22, n. 2, p. 85-92. 1986.
- ZENG, L. Development and countermeasures of phosphine resistance in stored grain insects in Guangdong, China. In: 7th INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 1998, Beijing, China. Proceedings... Beijing: House of Science and Technology, Chengdu, China, 1999. p. 642–647.
- ZETTLER, J.L.; ARTHUR, F.H. Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. *Crop Protection*, v. 19, p. 577-582. 2000.

Tabelas

Tabela 1. Suscetibilidade das populações suscetível e resistentes de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) à fosfina (PH₃)

Populações	N ^a	Inclinação ± E.P.M. ^b	CL ₅₀ (IF 95%) mg L ⁻¹	RR CL ₅₀ (IF 95%)	CL ₉₅ (IF 95%) mg L ⁻¹	χ ²	P
Suscetível	700	1,55 ± 0,12	0,067 (0,055-0,079)	1,0	0,763 (0,578-1,097)	3,52	0,62
Resistente sem custo	600	2,08 ± 0,15	2,725 (2,372-3,103)	40,8 (32,6-51,2)	16,889 (13,323-22,941)	3,99	0,55
Resistente com custo	550	6,94 ± 0,52	5,715 (5,486-5,947)	85,7 (71,1-103,2)	9,865 (9,145-10,885)	6,41	0,17

^a N = Número total de insetos por bioensaio; ^b EPM = Erro padrão da média; CL = Concentração letal; IF 95% = Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; RR = Razão de Resistência: CL₅₀ da população resistente/CL₅₀ da população suscetível; χ² = Qui-quadrado; P = Probabilidade.

Tabela 2. Parâmetros de caminhada das populações suscetível e resistentes de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) no tratamento controle, sem aplicação de fosfina (PH₃)

Populações	Distância caminhada (cm)	Tempo de repouso (s)	Velocidade de caminhamento (cm s⁻¹)	Número de paradas na arena
Suscetível	325,65 ± 25,84 a	120,57 ± 44,13 a	0,724 ± 0,104 a	741,40 ± 234,68 a
Resistente sem custo	312,49 ± 20,96 a	154,60 ± 22,89 a	0,730 ± 0,076 a	847,00 ± 144,75 a
Resistente com custo	276,97 ± 20,13 b	146,25 ± 36,79 a	0,759 ± 0,043 a	876,30 ± 163,05 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey, a 5% de significância. E.P.M. = Erro padrão da média.

Tabela 3. Sumário das análises de regressão linear e não linear para os parâmetros comportamentais relacionados ao caminhamento de adultos de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) submetidos à fumigação com fosfina (PH₃), x em mg L⁻¹.

Variáveis	Modelo	Populações	Parâmetros estimados (± E.P.M.)			g.l. _{erro}	F	R ²
			a	b	c			
Distância caminhada (cm)	y=a+bx	Resistente sem custo	299,4 ± 6,5	-5,9 ± 0,9	nd	4	45,37	0,86
	y=a+bx	Resistente com custo	244,7 ± 19,6	-12,9 ± 3,4	nd	4	14,27	0,64
	y=a+bx ^c	Suscetível	328,1 ± 13,7	-72,3 ± 14,3	0,12 ± 0,06	3	16,12	0,79
Tempo de repouso (s)	y=a+bx	Resistente sem custo	150,4 ± 4,0	7,6 ± 0,5	nd	4	197,64	0,97
	y=a+bx ^{0,5}	Resistente com custo	159,2 ± 14,7	62,5 ± 6,7	nd	4	86,01	0,93
	y=a+bx ^c	Suscetível	118,4 ± 16,7	90,6 ± 18,0	0,13 ± 0,06	3	15,35	0,78
Velocidade de caminhamento (cm s ⁻¹)	y=a+bx ^{0,5}	Resistente sem custo	0,72 ± 0,01	-0,01 ± 0,01	nd	4	13,12	0,61
	y=a+bx ^c	Resistente com custo	0,76 ± 0,01	-0,13 ± 0,01	0,21 ± 0,03	3	368,39	0,99
	y=a+bx ^{0,5}	Suscetível	0,72 ± 0,003	-0,02 ± 0,004	nd	4	28,56	0,80
Número de paradas na arena	y=a+bx	Resistente sem custo	887,7 ± 17,0	6,6 ± 2,3	nd	4	8,22	0,45
	y=a+bx	Resistente com custo	856,4 ± 33,7	18,2 ± 5,8	nd	4	9,67	0,63
	y=a+bx ^c	Suscetível	699,8 ± 54,0	258,4 ± 50,6	0,07 ± 0,03	3	52,85	0,93

Todos os parâmetros estimados foram significativos ($P < 0,02$) pelo teste *t* e todos os modelos significativos ($P < 0,03$) pelo teste F.

E.P.M. = Erro padrão da média, nd = Parâmetro não determinado.

Figuras

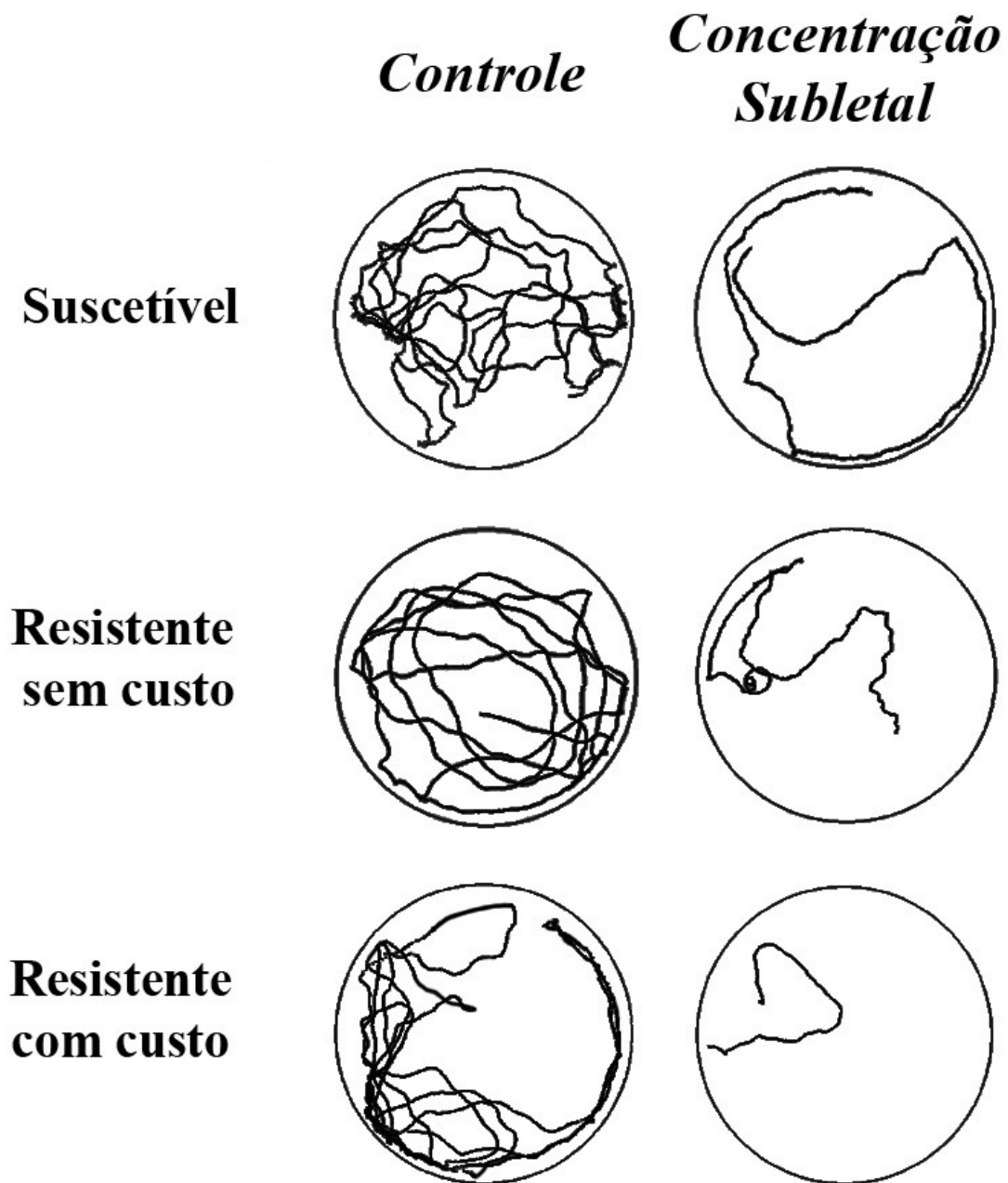


Figura 1. Caminhamento de indivíduos de três populações de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) submetidas a arenas não tratadas (controle) e tratadas com a concentração subletal (correspondente a CL_{95} específica para cada população) por 10 min.

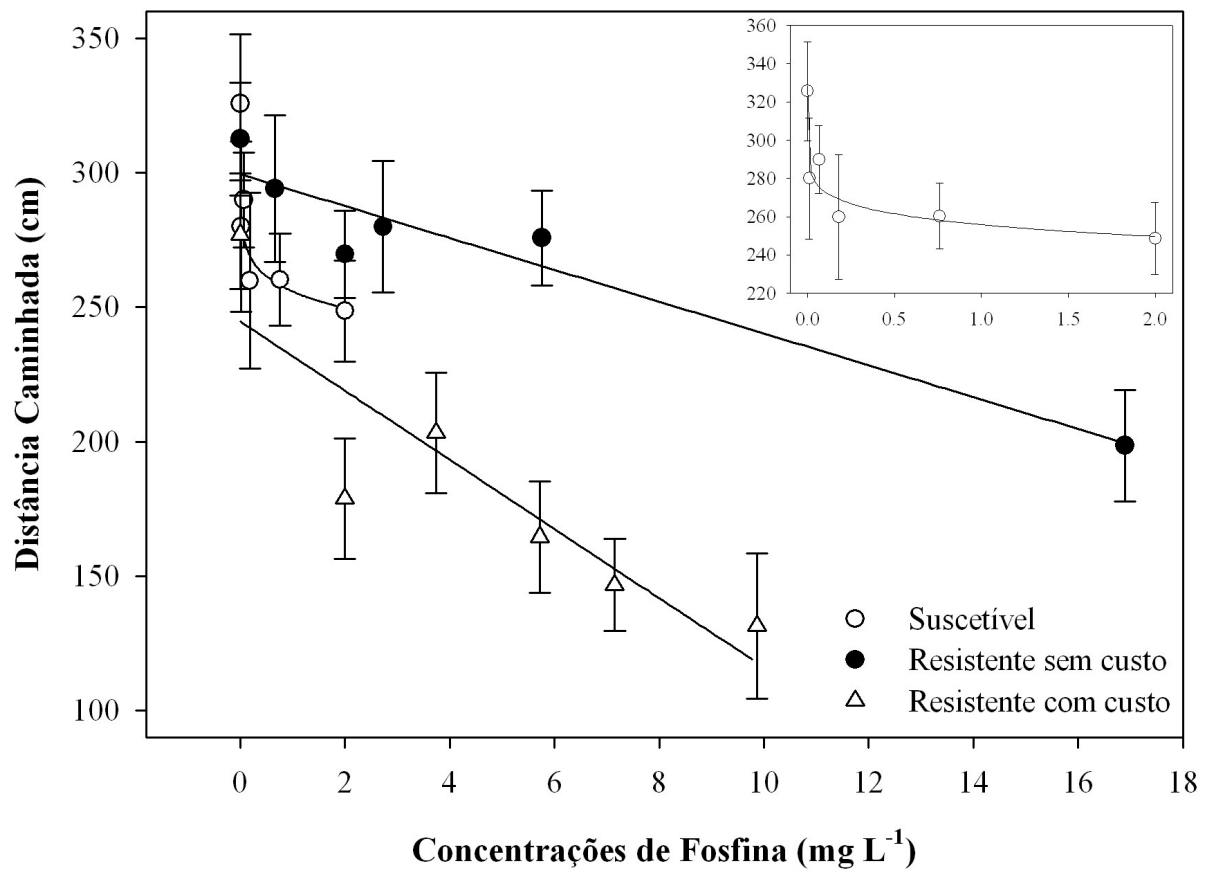


Figura 2. Distância caminhada (\pm E.P.M.) por indivíduos das três populações de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) expostos à arena tratada com diferentes concentrações de fosfina. Os pontos representam médias de vinte repetições para cada concentração aplicada. [Em detalhe: Distância caminhada (\pm E.P.M.) por indivíduos da população suscetível de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) expostos a concentrações de fosfina entre 0,0 e 2,0 mg L⁻¹]

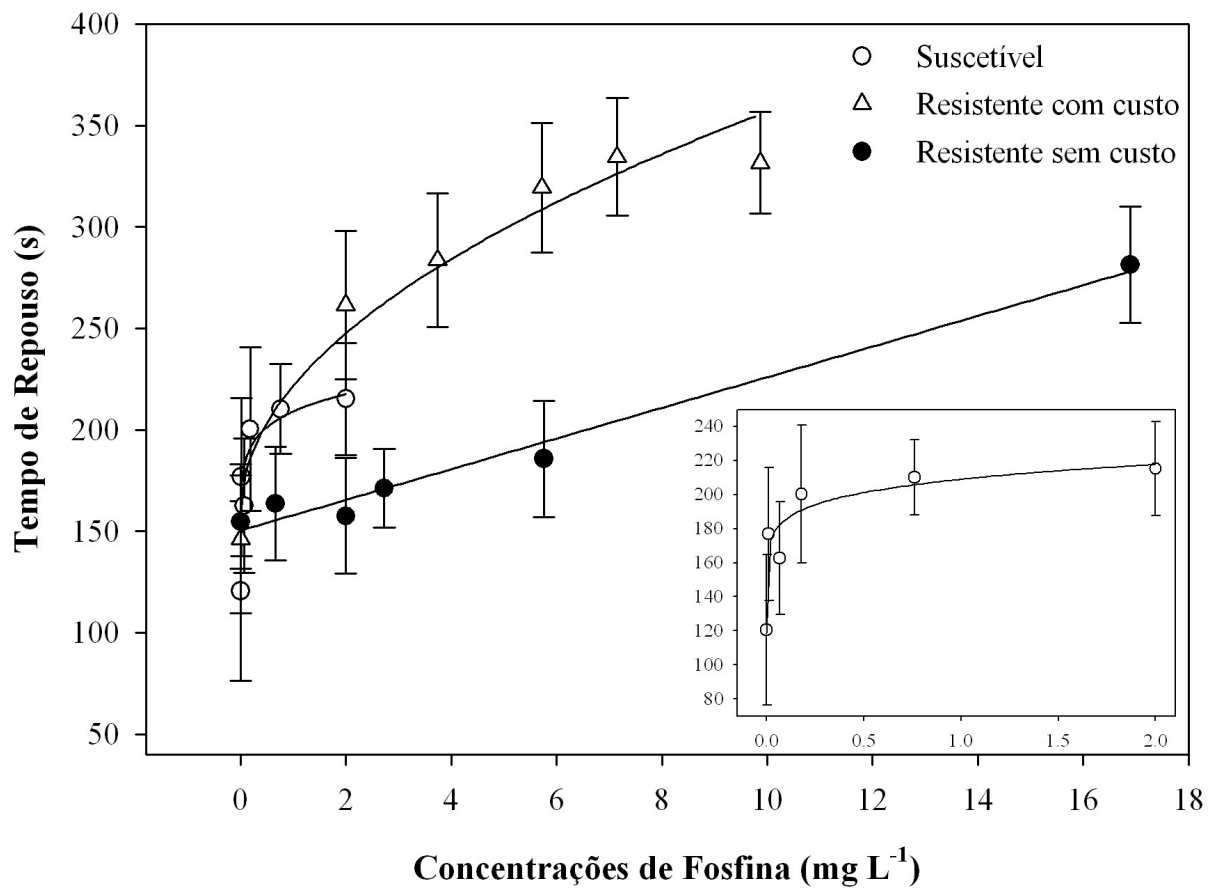


Figura 3. Tempo de repouso (\pm E.P.M.) de insetos adultos das três populações de *Rhizopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) expostos à arena tratada com diferentes concentrações de fosfina. Os pontos representam médias de vinte repetições para cada concentração aplicada. [Em detalhe: Tempo de repouso (\pm E.P.M.) de insetos adultos da população suscetível de *Rhizopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) expostos a concentrações de fosfina entre 0,0 e 2,0 mg L⁻¹]

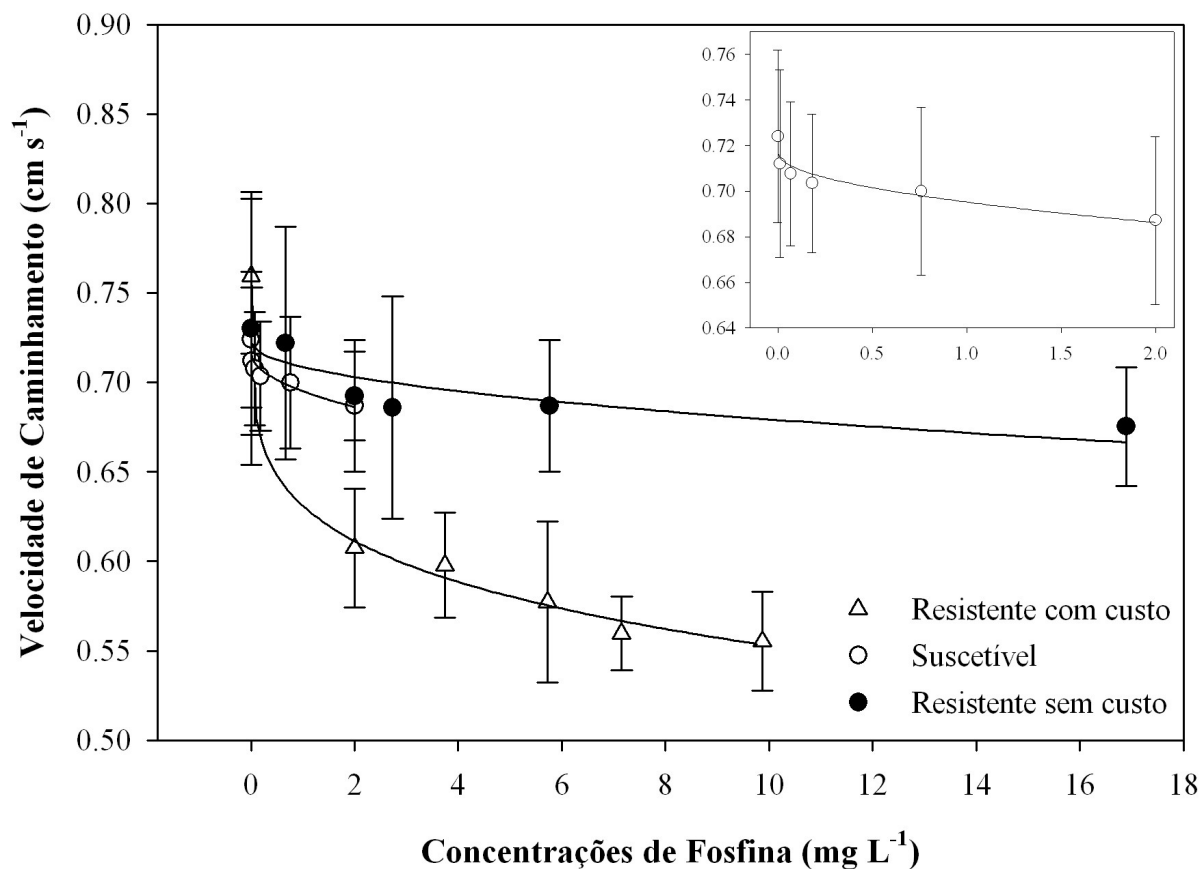


Figura 4. Velocidade de caminhada (\pm E.P.M.) de insetos adultos, das três populações de *Rhizopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), expostos à arena tratada com diferentes concentrações de fosfina. Os pontos representam médias de vinte repetições para cada concentração aplicada. [Em detalhe: Velocidade de caminhada (\pm E.P.M.) de insetos adultos da população suscetível de *Rhizopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) expostos a concentrações de fosfina entre 0,0 e 2,0 mg L⁻¹]

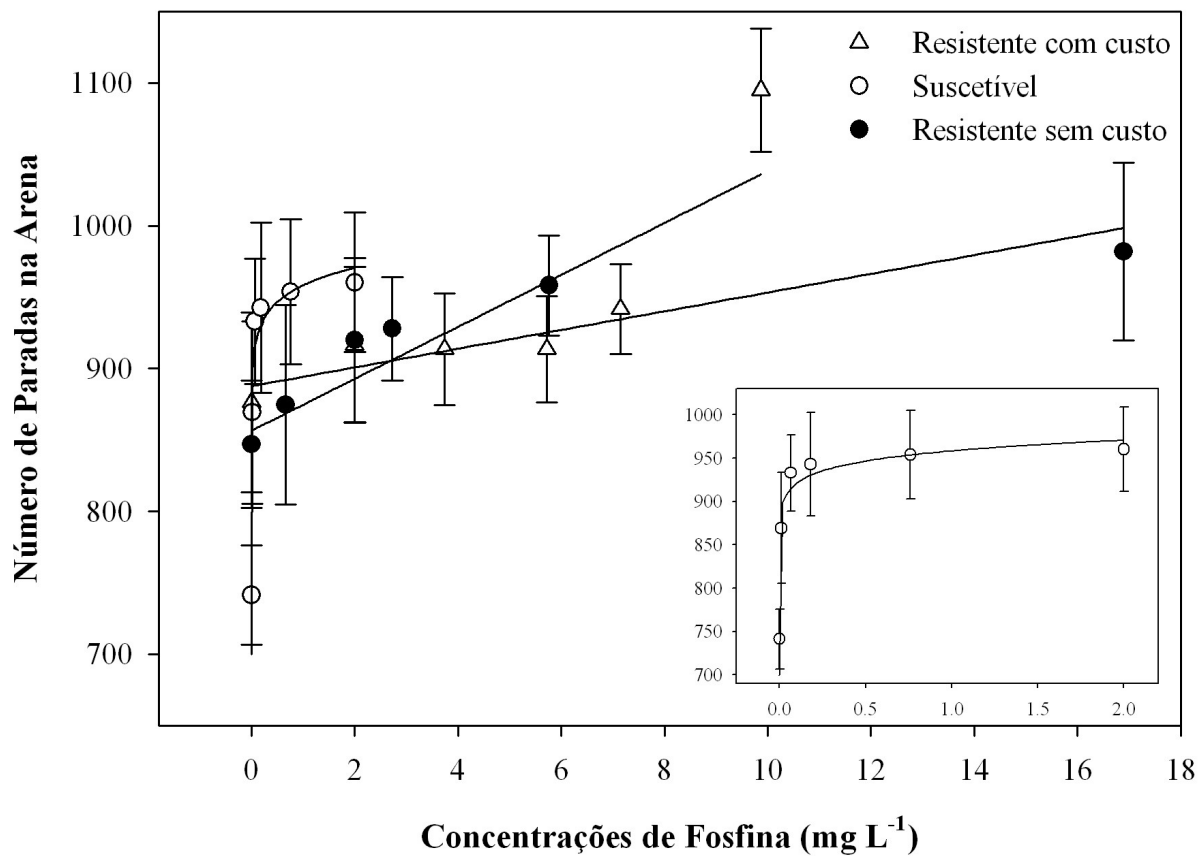


Figura 5. Número de paradas na arena (\pm E.P.M.) de insetos adultos, das três populações de *Rhizophorthera dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), expostos à arena tratada com diferentes concentrações de fosfina. Os pontos representam médias de vinte repetições para cada concentração aplicada. [Em detalhe: Número de paradas na arena (\pm E.P.M.) de insetos adultos, da população suscetível de *Rhizophorthera dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), expostos a concentrações de fosfina entre 0,0 e 2,0 mg L⁻¹]

ARTIGO 2

Seleção para resistência à fosfina e respostas (fisiológico-comportamentais) correlatas em *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae)

M.A.G. Pimentel ^a, L.R.D'A. Faroni ^b, R.N.C. Guedes ^a

^a *Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-000, Brasil. marcoagp@gmail.com, guedes@ufv.br*

^b *Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-000, Brasil. lfaroni@ufv.br*

Resumo

O objetivo deste estudo foi determinar a magnitude do desenvolvimento de resistência à fosfina e estabilidade da resistência, determinando possíveis alterações fisiológicas, comportamentais e custos adaptativos associados em populações de *Rhyzopetha dominica*. Duas populações foram utilizadas, uma suscetível e uma resistente à fosfina. A primeira foi submetida à seleção e a segunda foi mantida sem exposição ao fumigante, por 10 gerações. Avaliaram-se os seguintes parâmetros para todas as gerações, parentais (P) até F₁₀, das duas populações: curvas de concentração-mortalidade, taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), massa corpórea, taxa respiratória, consumo de grãos pelos insetos, iniciação de voo (decolagem) e parâmetros comportamentais associados à locomoção dos insetos. Observou-se aumento da razão de resistência à fosfina de ≈ 69 vezes entre as gerações. A população mantida sem pressão de seleção manteve níveis estáveis de resistência à fosfina ($RR \approx 1,27$ vezes) entre as gerações. Foram verificados redução da taxa respiratória com a evolução da resistência à fosfina e aumento de r_i com a evolução da resistência à fosfina. O consumo de grãos e a massa corpórea variaram significativamente entre as gerações, porém sem tendência definida para as duas populações. A distância caminhada, o tempo de caminhamento e o número de paradas na arena apresentaram redução ao longo das gerações para a população selecionada, enquanto a população não selecionada apresenta comportamento inverso. A velocidade de caminhamento aumenta ao longo das gerações para as duas populações. A percentagem de insetos que iniciaram voo aumenta ao longo das gerações para a população selecionada, enquanto na população que não foi selecionada não se observa tendência de aumento ou redução no percentual de insetos que iniciam voo ao longo das gerações.

Palavras-chave: Menor boqueador dos grãos, resistência a inseticidas, evolução experimental, fumigação, manejo de resistência, pragas de grãos armazenados.

Abstract

The aim of this study was to determine the magnitude of the evolution of phosphine resistance, and the stability of phosphine resistance in Brazilian populations of *Rhyzopertha dominica*, associating physiological, behavioral and biotic characteristics of these populations under selection and without selection pressure. Two populations were used, one susceptible and one resistant to phosphine. The first was subjected to selection and the second was kept without exposure to the fumigant for 10 generations. For all generations, Parental (P) to F₁₀, of the two populations the following parameters were measured: Concentration-mortality curves, instantaneous rate of increase (r_i), body mass, respiration rate, consumption of grain by insects, the flight take-off, and behavioral parameters associated with locomotion of the insects (walking distance, walking time, walking speed and number of stops in the arena). There was an increase of the ratio of phosphine resistance of ≈ 69 -fold between the P and the F₁₀ generation. The unselected population (maintained without selection pressure) exhibited stable levels of phosphine resistance (≈ 1.27 -fold) between the generations. The respiration rate reduces with the evolution of resistance to phosphine and r_i increase with the evolution of resistance to phosphine. The grain consumption and body mass varied significantly, but no tendency was detected between the generations, for the two populations. Walking distance, walking time and number of stops on the arena show increased over the generations for the selected population, while the unselected population shows an opposite behavior. The walking velocity increases over the generations for the two populations. The percentage of insects taking-off for flight increases over the generations for the selected population, while for the unselected population did not exhibit trend in the proportion of insects taking-off for flight over the generations.

Key Words: Lesser grain borer, insecticide resistance, experimental evolution, fumigation, resistance management, stored grain insect pests.

1. Introdução

Apesar da importância econômica da resistência de insetos-praga à fosfina (Knight & Norton, 1989; Collins, 1990, Whalon et al., 2008), poucos são os estudos desenvolvidos sobre este inseticida, limitando-se à detecção do problema (Champ & Dyte, 1976; Pacheco et al., 1990; Sartori et al., 1990), salvo alguns esforços recentes (Lorini et al., 2007; Pimentel et al., 2007, 2008, 2009). Estes estudos revelaram a existência de desvantagens adaptativas de populações resistentes, refletindo em menores taxas de crescimento populacional destas em relação às populações suscetíveis mostraram, ainda, a redução da taxa respiratória das populações resistentes como principal mecanismo de resistência à fosfina (Pimentel et al., 2007; Sousa et al., 2009).

Nos programas de manejo da resistência são fundamentais o levantamento de informações e a elucidação de aspectos relacionados à herança de resistência, resistência cruzada, mecanismos fisiológicos e comportamentais, evolução do fenômeno e custo adaptativo dos indivíduos resistentes na ausência de seleção, além do contínuo monitoramento das populações de determinada região ou país (Roush & McKenzie, 1987; Andow et al., 2008).

O principal objetivo das investigações sobre seleção para resistência é voltado, principalmente, às alterações fisiológicas que acompanham a seleção que é medida apenas pela capacidade adquirida pelos insetos de sobreviver a uma determinada dose de inseticida (Groeters & Tabashnik, 2000). Entretanto, as alterações fisiológicas, comportamentais e a evolução de custos adaptativos, que podem prejudicar o desempenho reprodutivo dos insetos resistentes, têm recebido pouca atenção, principalmente com relação ao fumigante fosfina (Champ & Dyte, 1976; Pimentel et al., 2007; Sousa et al., 2009).

De forma geral, respostas comportamentais e fisiológicas aos inseticidas estão correlacionadas em muitas espécies de insetos-praga (Sparks et al., 1989; Via, 1990; Head et al., 1995, 1998; Hoy et al., 1998; Jallow & Hoy, 2006). A importância prática da correlação genética entre estas duas características (resposta fisiológica e comportamental) dentro de uma população é que a seleção de uma característica pode indiretamente resultar em uma resposta na característica correlacionada (Falconer, 1989). O somatório destas informações pode acarretar implicações significativas na dispersão destas populações e no refino e amplificação das táticas de manejo e de mitigação da resistência (Roush & McKenzie, 1987; Subramanyam & Hagstrum, 1996; Coustau et al., 2000; Andow et al., 2008).

A seleção intensa e a evolução rápida da resistência a inseticidas em populações naturais têm sido um dos obstáculos a serem superados no manejo de insetos-praga (Kence & Keidje, 1997; Berticat et al., 2008). Assim, é fundamental a elucidação das bases fisiológicas, a evolução e a estabilidade da resistência à fosfina, além de alterações comportamentais e desvantagens adaptativas associadas à evolução da resistência a esse inseticida (Roush & McKenzie, 1987; Jallow & Hoy, 2007). Não existem relatos na literatura de alterações fisiológicas, comportamentais e desenvolvimento de custos adaptativos devido à evolução da resistência à fosfina em insetos-praga de produtos armazenados e até mesmo em populações resistentes sob pouca ou nenhuma pressão de seleção. Assim, o objetivo deste estudo é determinar a magnitude do desenvolvimento e da estabilidade de resistência à fosfina, avaliando alterações fisiológicas, comportamentais e custos adaptativos em populações de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae).

2. Material e Métodos

2.1. Populações de insetos

Os bioensaios foram realizados utilizando-se duas populações de *R. dominica*. A primeira população é considerada padrão de susceptibilidade à fosfina (Pimentel et al., 2007, 2008). Esta população é proveniente do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA)/USP, Piracicaba, SP, e vem sendo criada em laboratório por mais de seis anos na ausência de inseticidas. A segunda população foi coletada em silos com grãos de milho e sorgo em Uberlândia, MG, em 2004. A população de Uberlândia é resistente à fosfina e não apresenta custo adaptativo associado à resistência (Pimentel et al., 2007, 2008). As criações, multiplicadas a partir dos insetos contidos nas amostras originais, foram mantidas em recipientes de vidro (1,5 L), dentro de câmaras climáticas tipo B.O.D., sob condições de temperatura (30 ± 2 °C) e de umidade relativa ($70 \pm 10\%$) controladas. O substrato para manutenção das populações foi trigo (grãos inteiros) com 13% de umidade, isento de pragas e inseticidas.

2.2. Bioensaios de concentração-resposta

Os bioensaios de toxicidade à fosfina para as gerações das duas populações foram realizados conforme método padrão, recomendado pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) (FAO, 1975). Para a estimativa das curvas de concentração-resposta, para as duas populações, procedeu-se à exposição de 50 insetos adultos, em quatro repetições, por um período de 20 h à concentração discriminante (CD) do gás fumigante ($0,03 \text{ mg L}^{-1}$ para *R. dominica*), a 25 °C e 70% UR. Com base na mortalidade dos insetos nesta concentração, foram estipuladas concentrações maiores ou menores a fim de obter valores de mortalidade variando de 0 a 100%. Assim, foi estipulada uma faixa de cinco

a oito concentrações, que contemplassem o intervalo de mortalidade de 0 a 100%, para as duas populações testadas (resistente e suscetível) e suas respectivas gerações.

O gás fumigante fosfina (86% de pureza) foi produzido utilizando-se comprimidos de fosfeto de alumínio (0,6 g) em solução ácida (5% ácido sulfúrico). Os insetos adultos foram acondicionados em frascos plásticos (7,0 cm de diâmetro superior × 5,5 cm de diâmetro inferior) ventilados (volume de 140 mL). Como câmaras de fumigação, foram utilizados dessecadores de vidro, adaptados com uma mangueira de silicone (10 cm de comprimento). A aplicação do gás nos dessecadores foi realizada por meio de seringa específica para gases (Hamilton Gastight® Syringes, Nevada, USA) diretamente nas mangueiras de silicone adaptadas aos dessecadores.

Após o período de exposição ao gás fumigante (20 h), os insetos foram retirados dos dessecadores e expostos ao ar atmosférico, por cerca de 30 min., e posteriormente transferidos para placas de Petri (140 mm de diâmetro × 10 mm de altura), com mesma dieta utilizada nas criações. Estas placas foram mantidas armazenadas por 14 dias em câmaras tipo B.O.D. (25 ± 1 °C), conforme o método padrão. Após este período, foram realizadas as avaliações de mortalidade, contando-se os insetos mortos e vivos.

2.3. Seleção para resistência à fosfina

A seleção para resistência à fosfina foi realizada com a população suscetível. Ensaios preliminares de concentração-resposta foram realizados para determinar a suscetibilidade à fosfina da geração parental (P) desta população (seção 2.2). Os resultados de mortalidade deste ensaio preliminar foram submetidos à análise de Probit (Finney, 1971), para determinar a curva de concentração-mortalidade e estimar as concentrações letais (CL) para a geração P da população suscetível.

O experimento de seleção para resistência à fosfina foi realizado a partir da geração P e foi mantido até a décima geração (F_{10}), totalizando 11 gerações mantidas sob seleção (P- F_{10}). Foram realizadas curvas de concentração-resposta para cada geração estimando os parâmetros toxicológicos relativos à toxicidade à fosfina (CL_{50}). Insetos adultos, não-sexados, de cada geração, foram selecionados para a resistência, expondo-os à fosfina, conforme descrito anteriormente (seção 2.2) em concentrações suficientes para fornecer aproximadamente 80% de mortalidade (CL_{80} da geração anterior) (Subramanyam & Hagstrum, 1996).

Em cada geração, aproximadamente 1.800 insetos adultos (com no máximo sete dias de emergidos) foram submetidos à fumigação com a CL_{80} estimada para a geração anterior. As concentrações de fosfina utilizadas em cada seleção foram: 0,232; 0,597; 0,516; 0,696; 1,741; 4,370; 4,183; 5,480; 5,430 e 6,066 mg L⁻¹, da geração P até a décima primeira geração (geração F_{10}), respectivamente, totalizando 11 gerações. Após a exposição dos insetos à fosfina, os sobreviventes eram transferidos para frascos de vidro (1,5 L) com substrato alimentar (grãos de trigo) para oviposição e desenvolvimento até o surgimento da próxima geração. Os indivíduos desta geração (progênie) foram expostos novamente à fosfina, como descrito acima, e todo o procedimento foi repetido até o surgimento da geração F_{10} . O número mínimo de sobreviventes em cada seleção, que foram utilizados como pais para as gerações posteriores, foi superior a 500 insetos ($\approx 27\%$ de sobrevivência). Os parâmetros de herdabilidade foram calculados para a população selecionada utilizando metodologia descrita por Falconer (1989), Tabashnik (1992), Tabashnik & McGaughey (1994) e Subramanyam & Hagstrum (1996).

2.4. Estabilidade da resistência

O experimento para verificação da estabilidade da resistência à fosfina foi realizado com a população resistente. Ensaio preliminares de concentração-resposta foram realizados para determinar a suscetibilidade à fosfina da geração parental (P) da população resistente (seção 2.2). Os resultados de mortalidade deste ensaio preliminar foram submetidos à análise de Probit (Finney, 1971), para determinar a curva de concentração-mortalidade e estimar as concentrações letais (CL) para a geração P da população resistente.

O experimento de estabilidade da resistência à fosfina foi realizado a partir da geração P e foi mantido até a décima geração (F_{10}), totalizando 11 gerações mantidas sem exposição à fosfina (P- F_{10}). Foram realizadas curvas de concentração-resposta para cada geração estimando os parâmetros toxicológicos relativos à toxicidade à fosfina (CL_{50}). Em cada geração, aproximadamente 1.800 insetos adultos (com no máximo sete dias de emergidos) foram separados da geração anterior e transferidos para frascos de vidro (1,5 L) com substrato alimentar (grãos de trigo) para oviposição e desenvolvimento até o surgimento da próxima geração (F_1). Estes insetos foram mantidos sem exposição à fosfina.

Os insetos foram mantidos por 10 dias nos frascos para oviposição, após esse período, todos os insetos adultos foram retirados e descartados. Os frascos com as criações foram mantidos a 30 ± 2 °C e $70 \pm 5\%$ UR para o desenvolvimento dos ovos e imaturos até o surgimento da geração F_1 . Posteriormente, para obtenção da próxima geração, os indivíduos desta geração foram removidos da geração anterior, e todo o procedimento foi repetido até o surgimento da geração F_{10} . A taxa de decréscimo da resistência (R) foi determinada para a população resistente (não selecionada) pela equação: $R = \log(CL_{50} \text{ final}) - \log(CL_{50} \text{ inicial})/n$, em que n é o número de gerações da população mantida sem exposição à fosfina (Subramanyam & Hagstrum, 1996).

2.5. Ensaio respiratórios

A produção de dióxido de carbono (CO_2) pelos insetos foi medida em condições de laboratório (25 °C), utilizando um respirômetro do tipo TR2 equipado com um analisador de CO_2 (Sable System International, Las Vegas, EUA) e metodologia adaptada de Guedes et al. (2006), Pimentel et al. (2007, 2009) e Pereira et al. (2009). A produção de CO_2 foi realizada para cada geração (P a F_{10}) das duas populações com vinte insetos adultos, não-sexados, devidamente acondicionados numa câmara com capacidade de 25 mL. Após o período de aclimatização dos insetos (5 h), estas câmaras foram conectadas a um sistema fechado, onde o CO_2 produzido pelos insetos ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ h}^{-1}$) é varrido por um fluxo de ar isento de CO_2 e mensurado por um leitor infravermelho conectado ao sistema. Mediu-se também a produção de CO_2 em uma câmara controle sem insetos. O experimento foi delineado inteiramente ao acaso com três repetições para cada geração das duas populações. A taxa respiratória não foi normalizada, em massa, pois tal procedimento pode mascarar as possíveis bases fisiológicas da resistência a inseticidas e sua mitigação (Guedes et al., 2006).

2.6. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), massa corpórea e perda de massa dos grãos

Os ensaios de taxa de crescimento populacional (r_i) foram realizados utilizando-se placas de Petri (140 × 10 mm) contendo 20 insetos adultos das duas populações de *R. dominica* e grãos de trigo inteiros (13% umidade base úmida). Para obter insetos de mesma faixa de idade, os grãos de trigo nos quais eram mantidas as duas populações foram peneirados para retirada de todos os adultos presentes. Após quinze dias, as progênies obtidas foram utilizadas para montagem dos experimentos. Vinte insetos adultos, não-sexados, foram

retirados e inseridos nas placas de Petri que continham aproximadamente 50 g de trigo (13% de umidade, base úmida). Imediatamente antes da infestação das placas de Petri, realizou-se a pesagem de cada grupo de 20 insetos, de cada geração das duas populações, utilizando balança analítica, com precisão de 0,0001 g. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com sete repetições para cada geração das duas populações. Após 60 dias de armazenamento, as placas foram avaliadas, contando-se o número de insetos vivos e mortos. Além do número de insetos vivos e mortos, a massa final dos grãos foi registrada a fim de se obter a perda de massa dos grãos causada pelos insetos. O teor de umidade dos grãos foi também determinado ao final do experimento, tendo-se mantido próximo a 13,6%. A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) foi calculada utilizando-se a equação: $r_i = \ln(N_f/N_0)/\Delta t$, em que N_f é o número final de insetos vivos, N_0 é o número inicial de insetos e Δt é a duração do experimento, em dias (Walthall & Stark, 1997).

2.7. Bioensaios comportamentais

Os bioensaios comportamentais foram realizados com insetos de cada geração (P a F₁₀) das duas populações com metodologia adaptada de Barson et al. (1992), Watson & Barson (1996), Watson et al. (1997), Pereira et al. (2009) e Guedes et al. (2008, 2009). As arenas utilizadas nestes bioensaios foram confeccionadas em material acrílico transparente, com 15,0 cm de diâmetro e volume interno de 0,345 L. Para introdução dos insetos adultos, foi deixada uma abertura lateral de 1,3 cm de diâmetro que era lacrada com septo de borracha (tipo penicilina) e selada com cola quente, durante os bioensaios de comportamento locomotor.

Nos ensaios comportamentais foram utilizados insetos adultos, não-sexados, com idade variando de 5 a 10 dias após a emergência. Os insetos foram alojados em arenas

similares às utilizadas nos ensaios por um período de 24 h com o intuito de aclimação do inseto à arena. Posteriormente, um inseto adulto foi colocado na arena, procedeu-se então ao seu fechamento com septo de borracha e cola quente, e posterior acomodação sob o sistema de rastreamento formado por uma câmera de vídeo acoplada a um computador (ViewPoint Life Sciences Inc., Montreal – Canadá), com iluminação artificial de duas lâmpadas de baixa intensidade (40 W). O conjunto da arena com o inseto foi monitorado para avaliação dos parâmetros comportamentais por um período de 10 min. Os parâmetros comportamentais avaliados foram distância percorrida (cm), tempo em movimento (s), velocidade média de caminhada (cm s^{-1}) e número de paradas na arena, que é o número de vezes em que o inseto interrompe o movimento na arena. O experimento foi delineado inteiramente ao acaso, com 20 repetições para cada geração das duas populações de *R. dominica*, e cada repetição se constituiu de um inseto. A cada repetição a arena foi substituída por outra previamente limpa.

2.8. Bioensaios de iniciação de voo

Os bioensaios de descolagem ou iniciação de voo foram realizados para cada geração (P a F₁₀) das duas populações de *R. dominica*, com metodologia adaptada de Aslam et al. (1994) e Perez-Mendoza et al. (1999). As unidades experimentais para os bioensaios de iniciação de voo foram compostas de frascos de plástico transparente (15 cm de diâmetro × 12 centímetros de altura) com as paredes internas impregnadas com cola entomológica (BioControle, São Paulo, SP). O fundo dos frascos plásticos foi revestido com um papel de filtro (Whatman n.º 1) para permitir o caminhar normal dos insetos avaliados. Duzentos insetos adultos, não-sexados (5 a 10 dias após a emergência), foram liberados no centro de cada frasco, que foram mantidos a $28,5 \pm 2$ °C durante uma hora para subsequente avaliação e contagem do número de insetos colados às paredes (que iniciaram voo). O delineamento

experimental foi inteiramente casualizado, com 10 repetições para cada geração (P a F₁₀) das duas populações.

2.9. Análises estatísticas

Os resultados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit (Finney, 1971), por intermédio do procedimento PROC PROBIT do programa SAS (SAS Institute, 2000), gerando as curvas de concentração-mortalidade para cada geração (P a F₁₀) das duas populações. Os dados de mortalidade obtidos para cada geração das duas populações foram corrigidos pela mortalidade que ocorreu no tratamento controle (Abbott, 1925). Foram realizadas três curvas de concentração-resposta para cada geração das duas linhagens, independentemente, assim cada uma das curvas foi considerada uma repetição, totalizando três repetições. A razão de resistência (RR) e o intervalo de confiança ($P < 0,95$) das duas populações (Robertson et al., 2007).

Os dados dos quatro parâmetros de caminhamento de cada geração das duas populações de *R. dominica* foram submetidos à análise de variância univariada (PROC UNIVARIATE; SAS Institute, 2000), assim como os dados de taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), massa corpórea, taxa respiratória, perda de massa dos grãos e iniciação de voo (PROC UNIVARIATE; SAS Institute, 2000).

Os dados referentes aos parâmetros de caminhamento, da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), massa corpórea, taxa respiratória, perda de massa dos grãos e iniciação de voo foram correlacionados aos dados de razão de resistência (para CL₅₀) para as duas populações, utilizando-se análise de correlação de Pearson ($P < 0,05$) (PROC CORR; SAS Institute, 2000). Os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias foram

avaliados (PROC UNIVARIATE; PROC GPLOT; SAS Institute, 2002), mostrando que não houve necessidade de transformação de dados.

3. Resultados

3.1. Seleção para resistência à fosfina

A população de *R. dominica* mantida sob seleção para resistência apresentou variação significativa quanto à suscetibilidade à fosfina entre as gerações (P-F₁₀). Os resultados dos bioensaios de concentração-mortalidade para as gerações sob seleção mostraram baixos valores de χ^2 (<10,00) e valores elevados de *P* (>0,05), indicando adequação dos dados ao modelo probit, permitindo a estimativa das concentrações letais para cada geração (Tabela 1). Observou-se aumento da razão de resistência à fosfina de aproximadamente 69 vezes entre a geração P e a geração F₁₀. Esta variação na razão de resistência (CL₅₀) para a população sob seleção foi significativa (F_{10,32} = 263,07; *P* < 0,0001) (Tabela 1).

O incremento na razão de resistência à fosfina foi de aproximadamente 13 vezes até a geração F₄ e mais pronunciada da geração F₄ a F₁₀, atingindo aproximadamente 69 vezes (Tabela 1). Devido a esse comportamento no processo de seleção, o cálculo da herdabilidade realizada (*h*²) foi feito em duas partes, da geração P até a geração F₅ e da geração F₆ até F₁₀, para efeito de comparação entre a etapa inicial e final do processo de seleção. A estimativa de *h*² também foi realizada para a seleção completa, ou seja, de P até F₁₀ (Tabela 3).

A herdabilidade (*h*²) calculada após onze gerações (P-F₁₀) para a população sob seleção com fosfina foi de 0,571 (Tabela 3). O número de gerações necessárias para incrementar em 10 vezes o valor estimado para a CL₅₀ de fosfina foi de 5,4, ou seja, são necessárias aproximadamente 5,4 gerações sob seleção para aumentar 10 vezes a CL₅₀ desta população (valor recíproco de R; Tabela 3). A *h*² para as primeiras cinco gerações (P até F₅) sob seleção foi estimada em 0,594, valor semelhante à seleção completa, e o número de gerações necessárias para um aumento de 10 vezes na CL₅₀ foi estimado em 3,3 para as cinco

primeiras gerações (Tabela 3). Para as gerações de F₆ até F₁₀ a h^2 , foi estimado em 0,191, e o número de gerações necessárias para um aumento de 10 vezes na CL₅₀ foi estimado em 24,4 (Tabela 3).

3.2. Estabilidade de resistência à fosfina

A variação na razão de resistência para a população resistente, mantida sem exposição à fosfina, não apresentou variação significativa ($F_{10,32} = 7,72$, $P > 0,1329$) entre as gerações (P-F₁₀). A análise das curvas de concentração-mortalidade e a estimativa das concentrações letais para todas as gerações foram realizadas com modelo probit, apresentando baixos valores de χ^2 (<13,00) e valores elevados de P (>0,05) (Tabela 2). A razão de resistência para a CL₅₀ foi de aproximadamente 1,27 vezes (Tabela 2). Observa-se, pelos resultados obtidos para a população não selecionada (resistente), que a resistência à fosfina apresenta estabilidade entre as gerações.

3.3. Taxa respiratória

Observou-se correlação negativa e significativa entre a taxa respiratória e a razão de resistência para CL₅₀ para a população selecionada, ou seja, observou-se redução na produção de CO₂ com o aumento dos níveis de resistência, medidos pela razão de resistência (Tabela 4). Observou-se redução da taxa respiratória de aproximadamente 34,6% pela geração F₁₀ em relação à geração P (Figura 1). Os resultados apontam redução na produção de dióxido de carbono com a evolução da resistência à fosfina (Figura 1 e Tabela 4), suportando a hipótese de que menor taxa respiratória (produção de CO₂) está correlacionada com níveis elevados de resistência.

A população de *R. dominica* mantida sem pressão de seleção apresentou correlação positiva (r positivo), mas não significativa, entre taxa respiratória e razão de resistência para CL_{50} (Tabela 4). Estes resultados podem ser atribuídos à baixa variação da razão de resistência para CL_{50} observada para as gerações mantidas sem pressão de seleção. Contudo, observa-se incremento médio na produção de CO_2 de aproximadamente 64,7% quando se compara a geração F_{10} em relação à geração P, o que revela tendência de elevação da taxa respiratória na ausência de pressão de seleção, ou seja, sem exposição dos insetos à fosfina (Figura 1).

3.4. Crescimento populacional (r_i), massa corpórea e perda de massa dos grãos

A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) entre as gerações (P- F_{10}) da população selecionada variou significativamente ($F_{10,76} = 7,37$, $P < 0,0001$), enquanto para a população mantida sem exposição à fosfina, o r_i não variou significativamente entre as gerações (P- F_{10}) ($F_{10,76} = 1,59$, $P > 0,1299$) (Figura 2). Observou-se correlação positiva e significativa entre r_i e razão de resistência para CL_{50} para a população selecionada, com aumento de aproximadamente 60% da taxa de crescimento populacional da geração F_{10} em relação à geração P (Tabela 4 e Figura 2). A população mantida sem exposição à fosfina apresentou correlação significativa entre r_i e razão de resistência para a CL_{50} (Tabela 4). Os resultados indicam tendência de aumento no r_i com a evolução da resistência à fosfina (Figura 2 e Tabela 4). Isto não indica evolução dos custos adaptativos, relacionados com o crescimento da população, com a evolução da resistência à fosfina.

A perda de massa dos grãos de trigo variou significativamente entre as gerações (P a F_{10}) das populações selecionada ($F_{10,75} = 2,04$, $P < 0,0429$) e não selecionada ($F_{10,74} = 6,51$, $P < 0,0001$), indicando consumo e perda de massa de grãos desigual entre as gerações das

populações (Figura 3). Embora com variações significativas, a perda de massa dos grãos para as duas populações não apresentou tendência de aumento ou redução entre as gerações (Figura 3). A perda de massa dos grãos de trigo foi correlacionada com a taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) e nenhuma correlação significativa foi observada, tanto para a população selecionada ($r = 0,10$, $P > 0,78$) quanto para a população mantida sem pressão de seleção ($r = 0,32$, $P > 0,34$). A correlação entre a perda de massa dos grãos e os índices de resistência das duas populações não foi significativa ($P > 0,05$), indicando falta de correlação entre evolução da resistência e estabilidade da resistência com consumo alimentar, ou perda de massa dos grãos pelo consumo de *R. dominica* (Tabela 4).

A massa corpórea dos insetos variou significativamente entre as gerações da população selecionada ($F_{10,198} = 8,30$, $P < 0,0001$) e da não selecionada ($F_{10,144} = 5,70$, $P < 0,0001$) (Figura 4). A massa corporal dos insetos das duas populações apresentou variação significativa, mas nenhuma tendência foi observada entre as gerações (Figura 4). Esta constatação pode ser confirmada pela ausência de correlação significativa ($P > 0,05$) entre a massa corporal e o índice de resistência (CL_{50}) para as duas populações (Tabela 4). Portanto, presume-se falta de correlação entre evolução da resistência e estabilidade da resistência com aumento ou redução de massa corporal tampouco com taxa de crescimento populacional, sob as condições do presente estudo.

3.5. *Comportamento locomotor*

Os resultados referentes ao comportamento locomotor dos insetos em arena não-tratada com fosfina nas onze gerações (P até F_{10}) são apresentados nas Figuras 6 até 9. A distância caminhada variou significativamente entre as gerações das populações, selecionada ($F_{10,271} = 8,91$, $P < 0,0001$) e não selecionada ($F_{10,236} = 1,95$, $P < 0,0403$) (Figura 5). Verificou-

se correlação negativa e significativa ($P < 0,05$) entre distância caminhada e razão de resistência para CL₅₀ para a população selecionada, com redução de aproximadamente 30,0% da geração F₁₀ em relação à geração P (Tabela 4 e Figura 5). Observou-se correlação positiva e significativa entre distância caminhada e razão de resistência para a CL₅₀ para a população que não foi selecionada para resistência à fosfina (Tabela 4). Os insetos selecionados da geração P caminharam mais do que os insetos selecionados da geração F₁₀, ou seja, a distância caminhada diminuiu com a evolução da resistência. A falta de pressão de seleção indica tendência de aumento da distância caminhada pelos insetos (Figura 5).

O tempo de caminhada dos insetos também apresentou variação significativa entre as gerações das duas linhagens, selecionada ($F_{10,271} = 19,54$, $P < 0,0001$) e não selecionada ($F_{10,236} = 8,45$, $P < 0,0001$) (Figura 6). Observou-se correlação negativa e significativa ($P < 0,05$) entre tempo de caminhada e razão de resistência para CL₅₀ e CL₉₅ para a população selecionada, com redução de 30,6% da geração F₁₀ em relação à geração P (Tabela 4 e Figura 6). A correlação entre o tempo de caminhada e a razão de resistência para CL₅₀ e CL₉₅ não foi significativa para a população mantida sem pressão de seleção (Tabela 4).

A velocidade de caminhada apresentou variação significativa entre as gerações das duas populações, selecionada ($F_{10,271} = 5,34$, $P < 0,0001$) e não selecionada ($F_{10,236} = 3,64$, $P < 0,0002$) (Figura 7). Observou-se correlação positiva e significativa ($P < 0,05$) entre a velocidade de caminhada e razão de resistência para CL₅₀ para a população selecionada (Tabela 4). Para a população mantida sem pressão de seleção, a correlação entre velocidade de caminhada e a razão de resistência para CL₅₀ não foi significativa (Tabela 4).

O número de paradas na arena apresentou variação significativa entre as gerações das populações, selecionada ($F_{10,271} = 23,42$, $P < 0,0001$) e não selecionada ($F_{10,236} = 6,21$, $P <$

0,0001) (Figura 8). Observou-se correlação negativa e significativa ($P < 0,05$) entre o número de paradas na arena e razão de resistência para CL_{50} para a população selecionada (Tabela 4). A redução do número de paradas na arena parece contraditória, quando comparada com a distância caminhada e o tempo de caminhada, mas o aumento na velocidade de caminhada pode demonstrar movimentação mais rápida com menor tempo de caminhada. Para a população que não foi submetida à pressão de seleção, a correlação entre a velocidade de caminhada e a razão de resistência para CL_{50} não foi significativa (Tabela 4).

3.6. Bioensaios de iniciação de voo

A iniciação de voo (decolagem) dos insetos da população de *R. dominica* submetida à seleção diferiu significativamente entre as gerações ($F_{10,109} = 8,62$, $P < 0,0001$), mas a iniciação de voo dos insetos da população mantida sem exposição à fosfina (população resistente) não diferiu significativamente entre as gerações ($F_{10,109} = 1,54$, $P > 0,1380$) (Figura 9). Observou-se correlação positiva e significativa ($P < 0,05$) entre a iniciação de voo e a razão de resistência para CL_{50} e para a CL_{95} para a população selecionada (Tabela 4). Os insetos da geração F10 decolaram aproximadamente 122% a mais quando comparados com a geração P, para a população selecionada, refletindo aumento na iniciação de voo com o desenvolvimento de resistência pela população selecionada (Figura 9). A correlação entre a iniciação de voo e a razão de resistência para a população que foi mantida sem exposição à fosfina não foi significativa, assim, não se observa tendência de aumento ou redução na decolagem dos insetos ao longo das gerações estudadas (Tabela 4 e Figura 9).

4. Discussão

Os resultados obtidos indicam rápida evolução da resistência à fosfina, atingindo razão de resistência de ≈ 69 vezes, correspondente a CL_{50} de 4,663 mg L⁻¹, após 10 gerações sob seleção. Os níveis de resistência podem ser atribuídos ao uso de concentrações crescentes de fosfina, aliado à variabilidade genética da população suscetível, que, segundo Georghiou (1972) e Haynes (1988), são fatores que favorecem a evolução da resistência. Os valores de CL_{50} obtidos após a seleção assemelham-se com índices considerados altos, já obtidos com populações de *R. dominica* (Lorini et al., 2007; Pimentel et al., 2007). Estudos de seleção em laboratório produzem níveis e mecanismos de resistência similares aos níveis verificados em campo (Roush & McKenzie, 1987). Por isso, esforços que quantificam a magnitude de desenvolvimento da resistência, acompanhando a evolução de mecanismo, alterações comportamentais e fisiológicas, são fundamentais para o manejo da resistência a inseticidas (Georghiou, 1972; Roush & McKenzie, 1987; Daglish, 2004; Andow et al., 2008).

El-Lakwah et al. (1992) selecionaram uma população de *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) para resistência à fosfina com dose fixa de fosfina por seis gerações. Estes autores verificaram incremento de 4,5 vezes no tempo letal estimado para controle de 50% da população (TL_{50}) após seis gerações sob seleção para resistência à fosfina. Excetuando-se o estudo de El-Lakwah et al. (1992) de seleção para resistência, com dose fixa de fosfina, a presente investigação é o primeiro relato de seleção para resistência à fosfina e estabilidade de resistência em populações de insetos-praga de produtos armazenados, associando possíveis alterações fisiológicas e comportamentais entre as gerações estudadas.

Lorini & Galley (2000) verificaram que as populações de *R. dominica* suscetíveis desenvolveram resistência mais rapidamente que populações sabidamente resistentes à deltametrina. Estes mesmos autores verificaram que o número de gerações necessárias para

incrementar em 10 vezes a CL_{50} (Tabashnik, 1992), para a população suscetível foi de quatro gerações, e de seis gerações para as populações resistentes (Lorini & Galley, 2000). Estes resultados corroboram os resultados observados para a população selecionada de *R. dominica*, cujo número estimado de gerações necessárias para incrementar em 10 vezes a CL_{50} foi de aproximadamente 5,4 gerações. Os valores estimados da taxa de desenvolvimento da resistência à fosfina da geração P até F_{10} (0,184) foi inferior àqueles valores das primeiras cinco gerações (0,307) sugerindo que nas gerações iniciais a herdabilidade foi maior que nas gerações F_6 a F_{10} , que apresentaram os menores valores (0,041).

A herdabilidade para a fosfina, nas 10 gerações sob seleção (0,571), indica alta variabilidade genética da população selecionada (Falconer, 1989; Sayyed & Wright, 2004). Nas gerações de F_6 até F_{10} , este valor foi baixo (0,191), indicando redução da variabilidade genética com o processo de seleção. Ao contrário do que foi observado para as gerações iniciais (0,594), cujo valor se aproxima do valor estimado para a seleção completa (P até F_{10}).

A extrapolação dos dados obtidos neste estudo para situações de campo revelam a possibilidade de incremento significativo de resistência à fosfina em curto espaço de tempo. O cenário atual no país é favorável ao rápido desenvolvimento de resistência à fosfina. Atualmente, no Brasil, muitas unidades armazenadoras, indústrias e fábricas de ração armazenam milho, trigo, sorgo e farelos durante todo ano, e realizam fumigações constantemente, atingindo comumente mais de dez fumigações durante um ano em suas instalações. Esta situação remete à possibilidade de seleção de indivíduos de uma população de insetos-praga que infestam estas estruturas armazenadoras. A situação torna-se mais crítica pela extrema dependência da fosfina, o único inseticida fumigante registrado para controle curativo de insetos-praga de produtos armazenados. Assim, tornam-se necessárias investigações sobre métodos alternativos à fosfina que possam ser utilizadas no controle de

insetos-praga resistentes a ela. O uso alternado de inseticidas com modos de ação incomuns tem sido uma das estratégias de manejo de resistência mais recomendadas para retardar ou diminuir a pressão de seleção sobre indivíduos resistentes (Roush & McKenzie, 1987; Subramanyam & Hagstrum, 1996; Andow et al., 2008).

As bases fisiológicas, comportamentais e a evolução dos custos adaptativos associados à resistência podem trazer implicações ao manejo da resistência à fosfina. Alterações entre as gerações das duas populações foram observadas indicando tendência de redução na produção de dióxido de carbono com a evolução da resistência à fosfina. Tal fato suporta a hipótese de que menor taxa respiratória está correlacionada com níveis elevados de resistência (Pimentel et al., 2007, 2009). Ao contrário, a população mantida sem pressão de seleção aumentou a taxa respiratória entre as gerações (Figura 2). Tal fato pode ser explicado pela ausência de pressão de seleção, que é um dos fatores operacionais que afetam a evolução da resistência à fosfina (Roush & McKenzie, 1987). Outra possibilidade, que merece estudos futuros, é a identificação dos mecanismos que comandam a redução ou aumento da taxa respiratória e sua origem.

A presença de desvantagens adaptativas em populações resistentes é um dos fatores que influenciam a evolução da resistência a inseticidas, assim como a frequência de alelos e a dominância (Roush & McKenzie, 1987). Um dos parâmetros comumente utilizados para mensurar desvantagens adaptativas em linhagens resistentes é a taxa instantânea de crescimento da população (Roush & McKenzie, 1987). A estimativa deste parâmetro pode indicar alterações no desempenho demográfico da população devido ao desenvolvimento da resistência (Subramanyam & Hagstrum, 1996; Andow et al., 2008). Observou-se tendência de incremento na taxa de crescimento (r_i) com o desenvolvimento da resistência, enquanto a população mantida sem pressão de seleção apresentou estabilidade com variação discreta no

r_i . O aumento da taxa de crescimento para a população selecionada pode ser explicada pela falta de estabilidade de resistência, ou seja, a resistência à fofina ainda não está totalmente estável nesta população após 10 gerações (Georghiou, 1972; Roush & McKenzie, 1987). Roush & McKenzie (1987) discutem que a seleção em laboratório pode incrementar o metabolismo dos insetos da população selecionada, favorecendo o desempenho demográfico.

Apesar de o aumento da massa corpórea e do consumo alimentar estar relacionado com o acúmulo de energia e por influenciar positivamente o r_i de populações de insetos-praga de produtos armazenados (Guedes et al., 2006), não se observou aumento significativo na massa corpórea, tampouco no consumo de grãos entre as gerações das populações em estudo. O aumento da massa corpórea e do consumo alimentar está fortemente relacionado com a mitigação do custo adaptativo em populações resistentes a inseticida de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), de acordo com Guedes et al. (2006) e Araújo et al. (2008a e b).

Os resultados dos bioensaios comportamentais revelaram redução da distância caminhada e correlação do tempo de caminhamento entre as gerações da população submetida à seleção e comportamento inverso com relação à população sem pressão de seleção. Estes resultados corroboram a hipótese sugerida por Lockwood et al. (1984) que propuseram existir a possibilidade de uma coevolução entre resistência comportamental e fisiológica, sendo sua ideia alavancada por duas relações principais. Primeiramente, todo comportamento tem uma base fisiológica, sendo uma manifestação física das características fisiológicas do organismo, e também a ocorrência simultânea da resistência comportamental e fisiológica pode existir se um mecanismo fisiológico ou comportamental não provê nível suficiente de resistência a um determinado inseticida. Esta hipótese é alternativa à hipótese proposta por Georghiou (1972),

que relata uma correlação negativa entre resistência comportamental e resistência fisiológica a inseticidas, o que não foi verificado neste estudo.

A menor distância caminhada e o menor tempo proporcionam menor exposição ao fumigante pelos indivíduos que foram selecionados para a resistência à fosfina. Por outro lado, é interessante salientar o efeito oposto observado na população mantida sem pressão de seleção, que tende a aumentar a distância e o tempo de caminhar ao longo das gerações. Este comportamento é inato nas progênes, que não foram expostas a superfícies ou ambientes tratados com inseticidas nos bioensaios comportamentais. Portanto, esforços devem ser despendidos na busca de informações a respeito do comportamento de indivíduos selecionados expostos a ambientes tratados com fosfina. Assim, pode-se estudar em trabalhos posteriores a hipótese de que os padrões locomotores das populações em estudo podem estar relacionados com comportamento estímulo-dependente, que se refere a um aumento na habilidade do inseto de detectar determinada substância tóxica, gerando resposta de fuga ou repelência do inseto após a detecção da substância (Georghiou, 1972; Lockwood et al., 1984).

Outro comportamento interessante observado neste estudo está relacionado ao aumento da proporção de insetos que iniciam voo com a evolução da resistência. Relatos na literatura apontam *R. dominica* como inseto dotado de relativa capacidade de voo (Hagstrum et al., 1996; Rees, 1996), podendo ser detectada a alguns quilômetros de unidades armazenadoras ou até mesmo de pontos de liberação em estudos ecológicos (Campbell et al., 2002, 2006; Campbell & Mullen, 2004). Este resultado pode ter relação com a capacidade de escape dos efeitos letais do inseticida pelos indivíduos resistentes, ou indica ausência de custo adaptativo associado ao desenvolvimento de resistência à fosfina, reforçando os resultados de r_i que também demonstram ausência de desvantagem adaptativa com a evolução da resistência à fosfina. O incremento no metabolismo de insetos selecionados em laboratório

pode ser outra explicação plausível para a acentuação na capacidade de iniciação de voo (Roush & McKenzie, 1987).

Os padrões de comportamento locomotor, relacionados a diferentes níveis de resistência à fosfina, assim como a capacidade de decolagem dos insetos, são considerações importantes, com relação direta com a migração dos insetos e conseqüente dispersão da resistência à fosfina. Além disso, a redução na distância caminhada e o aumento da proporção de insetos que iniciam voo com o desenvolvimento da resistência à fosfina podem favorecer os insetos resistentes, reduzindo a exposição ao fumigante, comprometendo a eficácia de fumigação. Portanto, estas questões devem ser consideradas em pesquisas de manejo da resistência e em programas de manejo integrado de pragas de produtos armazenados.

O desenvolvimento de resistência à fosfina em população de *R. dominica* é rápida, atingindo níveis consideráveis de resistência em poucas gerações, em um intervalo de tempo curto. Estudos futuros devem determinar se a resistência desenvolvida em laboratório torna-se estável ou pode erodir a partir da redução da pressão de seleção. Deve-se ainda determinar a dominância da resistência à fosfina, além de estudos comportamentais apurados que visem a estimar a existência de uma proporção de indivíduos capazes de escapar ou mesmo desenvolver repelência à fosfina.

5. Referências Bibliográficas

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, v. 18, p. 265-266. 1925.
- ANDOW, D.A.; FITT, G.P.; GRAFIUS, E.J.; JACKSON, R.E.; RADCLIFFE, E.B.; RAGSDALE, D.W.; ROSSITER, L. Pesticide and transgenic plant resistance management in the field. In: WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. (Org.). *Global Pesticide Resistance in Arthropods*. Wallingford: CAB International, 2008, p. 90-118.
- ARAÚJO, R.A.; GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, M.G.A.; FERREIRA, G.H. Enhanced proteolytic and cellulolytic activity in insecticide-resistant strains of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Journal of Stored Products Research*, v.44, p. 354– 359, 2008 (a).
- ARAÚJO, R.A., GUEDES, R.N.C., OLIVEIRA, M.G.A. & FERREIRA, G.H. Enhanced activity of carbohydrate- and lipid-metabolizing enzymes in insecticide-resistant populations of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Bulletin of Entomological Research*, v.98, p. 417–424, 2008(b).
- ASLAM, M.; HAGSTRUM, D.W.; DOVER, B.A. The effect of photoperiod on the flight activity and biology of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, v. 67, p. 107-115, 1994.
- BARSON, G.; FLEMING, D.A.; ALLAN, E. Laboratory assessment of the behavioral-responses of residual populations of *Oryzaephilus-surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) to the contact insecticide pirimiphos-methyl by linear logistic modeling. *Journal of Stored Products Research*, v. 28, n. 3, p. 161-170. 1992.

- BERTICAT, C.; BONNET, J.; DUCHON, S.; AGNEW, P.; WEILL, M.; CORBEL, V. Costs and benefits of multiple resistance to insecticides for *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *BMC Evolutionary Biology*, v.8, p.1-9, 2008.
- CAMPBELL, J.F.; MULLEN, M.A. Distribution and dispersal behaviour of *Trogoderma variable* Ballion and *Plodia interpunctella* (Hübner) outside a food processing plant. *Journal of Economic Entomology*, v. 97, p. 1455-1464. 2004.
- CAMPBELL, J.F.; CHING'OMA, G.P.; TOEWS, M.D.; RAMASWAMY, S.B. Spatial distribution and movement patterns of stored-product insects. In: 9th INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 2006, Campinas, Brasil. Proceedings... Campinas: ABRAPOS, Brasil, 2006. p. 361-370.
- CAMPBELL, J.F.; MULLEN, M.A.; DOWDY, A.K. Monitoring stored-product pests in food processing plants: a case study using pheromone trapping, contour mapping, and mark-recapture. *Journal of Economic Entomology*, v. 95, p. 1089-1101. 2002.
- CHAMP, B.R.; DYTE, C.E. *FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests*. Rome: FAO/UN, 1976. 297 p.
- COLLINS, P.J. Management of resistance to insecticides in stored grain: resistance risk and impact assessment. In: 5th INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 1990, Bordeaux, France. Proceedings... Bordeaux: INRA, France, 1990. p. 983-987.
- COUSTAU, C.; CHEVILLON, C.; FRENCH-CONSTANT, R.H. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? *Trends in Ecology and Evolution*, v. 15, p. 378-383. 2000.

- DAGLISH, G.J. Effect of exposure period on degree of dominance of phosphine resistance in adults of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera : Curculionidae). *Pest Management Science*, v. 60, n. 8, p. 822-826. 2004.
- EL-LAKWAH, S.M.; AHMED, S.M.; KHALTAB, M.M.; ABDEL-LATIEF, A.M. Selection of the red flour beetle (*Tribolium castaneum* Herbst) for resistance to phosphine in the laboratory and biological observations on the resistant strain. In: OTTO, D.; WEBER, B. (Org.). *Insecticides: Mechanism of action and resistance*. United Kingdom: Andover, 1992. p. 409-426.
- FALCONER, D.S. *Introduction to Quantitative Genetics*. 3rd Edition. Longman: New York, 1989. 438 p.
- FAO, Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. 16: Tentative method for adults of some stored cereals, with methyl bromide and phosphine. *FAO Plant Prot Bull*. v. 23, p. 12–25. 1975.
- FINNEY, D.J. *Probit analysis*. 3rd Edition. Cambridge University Press: UK, 1971. 333 p.
- GEORGHIOU, G.P. The evolution of resistance to pesticides. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 3, p. 133–168. 1972.
- GUEDES, N.M.P.; GUEDES, R.N.C.; FERREIRA, G.H.; SILVA, L.B. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and –resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. *Bulletin of Entomological Research*, v. 99, n. 4, p. 393-400. 2009.
- GUEDES, R.N.C.; CAMPBELL, J.F.; ARTHUR, F.H.; OPIT, G.P.; ZHU, K.Y.; THRONE, J.E. Acute lethal and behavioral sublethal responses of two stored-product psocids to surface insecticides. *Pest Management Science*, v. 64, p. 1314–1322. 2008.

- 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.
- GROETERS, F.R.; TABASHNIK, B. E. Roles of selection intensity, major genes, and minor genes in evolution of insecticide resistance. *Journal of Economic Entomology*, v. 93, p. 1580-1587. 2000.
- HAGSTRUM, D.W.; FLINN, P.W.; HOWARD, R.W. Ecology. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. (Org.). *Integrated Management of Insects in Stored Products*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996, p. 71-134.
- HEAD, G.; HOY, C.W.; HALL, F.R. Quantitative genetics of behavioral and physiological response to permethrin in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 88, p. 447-453. 1995.
- HEAD, G.; HOY, C.W.; HALL, F.R. Genetics of response to permethrin in unexposed diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) populations. *Annals of Entomological Society of America*, v. 91, p. 217-221. 1998.
- 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.
- JALLOW, M.F.A.; HOY, C.W. Quantitative genetics of adult behavioral response and larval physiological tolerance to permethrin in diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 99, p. 1388-1395. 2006.
- KENCE, M.; JDEIDI, T. Effect of malathion on larval competition in house fly (Diptera: Muscidae) populations. *Journal of Economic Entomology*, v. 90, p.59-65, 1997.

- KNIGHT, A.L.; NORTON, G.W. Economics of agricultural pesticide resistance in arthropods. *Annual Review of Entomology*, v. 34, p. 293-313. 1989.
- LOCKWOOD, J.A.; SPARKS, T.C.; STORY, R.N. Evolution of insect resistance to insecticides: a revolution of roles of physiology and behavior. *Bulletin of Entomological Society of America*, v. 30, n. 4, p. 41-51. 1984.
- LORINI, I.; GALLEY, D.J. Estimation of realized heritability of resistance to deltamethrin insecticide in selected strains of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Stored Products Research*, v. 36, p. 119-124. 2000.
- LORINI, I.; COLLINS, P.J.; DAGLISH, G.J.; NAYAK, M.K.; PAVIC, H. Detection and characterization of strong resistance to phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *Pest Management Science*, v. 63, n. 4, p. 358-364. 2007.
- PACHECO, I.A.; SARTORI, M.R.; TAYLOR, R.W.D. Levantamento de resistência de insetos-praga de grãos armazenados à fosfina no estado de São Paulo. *Coletânea do ITAL*, v. 20, n. 2, p. 144-154. 1990.
- PEREIRA, C.J.; PEREIRA, E.J.G.; CORDEIRO, E.M.G.; DELLA LUCIA, T.M.C.; TÓTOLA, M.R.; GUEDES, R.N.C. Organophosphate resistance in the maize weevil *Sitophilus zeamais*: Magnitude and behavior. *Crop Protection*, v. 28, p. 168–173. 2009.
- PEREZ-MENDOZA, J.; DOVER, B.A.; HAGSTRUM, D.W.; HOPKINS, T.L. Effect of crowding, food deprivation, and diet on flight initiation and lipid reserves of the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 91, p. 317-326. 1999.
- PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D’A.; BATISTA, M.D.; SILVA, F.H. Resistance of stored-product insects to phosphine. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, p. 1671-1676. 2008.

- PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D'A.; GUEDES, R.N.C.; SOUSA, A.H.; TÓTOLA, M.R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, v. 45, n. 1, p. 71-74. 2009.
- PIMENTEL, M.A.G.; FARONI, L.R.D'A.; TÓTOLA, M.R.; GUEDES, R.N.C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. *Pest Management Science*, v. 63, p. 876–881. 2007.
- REES, D.P. Coleoptera. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. (Org.). *Integrated Management of Insects in Stored Products*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p.1-39.
- ROBERTSON, J.L.; RUSSELL, R.M.; PREISLER, H.K.; SAVIN, N.E. *Bioassays with Arthropods*. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2007. 199 p.
- ROUSH, R.T.; MCKENZIE, J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annual Review of Entomology*, v. 32, p. 361-380. 1987.
- SAYYED, A.H.; WRIGHT, D.J. Fipronil resistance in the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae): inheritance and number of genes involved. *Journal of Economic Entomology*, v. 97, n. 6, p. 2043-2050. 2004.
- SARTORI, M.R.; PACHECO, I.A.; VILAR, R.M.G. Resistance to phosphine in stored grain insects in Brazil. In: 5th INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT PROTECTION, 1990, Bordeaux, France. Proceedings... Bordeaux: INRA, Bordeaux, France, 1990. p 1041–1049.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT User's Guide. Cary, USA, SAS Institute, 2002.
- SOUSA, A.H.; FARONI, L.R.D'A.; PIMENTEL, M.A.G.P.; GUEDES, R.N.C. Developmental and population growth rates of phosphine-resistant and susceptible

- populations of stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research*, v. 45, p. 241-246. 2009.
- SPARKS, T.C.; LOCKWOOD, J.A.; BYFORD, R.L.; GRAVES, J.B.; LEONARD, B.R. The role of behavior in insecticide resistance. *Pesticide Science*, v. 26, p. 383-399. 1989.
- SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. Resistance measurement and management. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. (Org.). *Integrated Management of Insects in Stored Products*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996, p. 331-397.
- TABASHNIK, B.E. Resistance risk assessment: realized heritability of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae), tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae), and Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 85, p. 1551-1559. 1992.
- TABASHNIK, B.E.; MCGAUGHEY, W.H. Resistance risk assessment for single and multiple insecticides: responses of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) to *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*, v. 87, p. 834-841. 1994.
- VIA, S. Ecological genetics and host adaptation in herbivorous insects: the experimental study of evolution in natural and agricultural systems. *Annual Review of Entomology*, v. 35, p. 421-466. 1990.
- WALTHALL, W.K.; STARK, J.D. Comparison of two population-level ecotoxicological endpoints: the intrinsic (r_m) and instantaneous (r_i) rates of increase. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 16, p. 1068-1073. 1997.
- 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, n. 1, p.59-67. 1996.

- WATSON, E.; BARSON, G.; PINNIGER, D.B.; LUDLOW, A.R. Evaluation of the behavioural responses of *Anthrenus verbasci* adults and larvae to permethrin (e.c.) using a computerized tracking system. *Journal of Stored Products Research*, v. 33, n. 4, p. 335-346. 1997.
- WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. Analysis of global pesticide resistance in Arthropods. In: WHALON, M.E.; MOTA-SANCHEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M. (Org.). *Global Pesticide Resistance in Arthropods*. Wallingford: CAB International, 2008, p. 5-32.
- WHITE, N.D.G.; LEESCH, J.G. Chemical Control. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. (Org.). *Integrated Management of Insects in Stored Products*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996, p.287-330.

Tabelas

Tabela 1. Toxicidade de fosfina para a população suscetível de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) e gerações subsequentes (F₁–F₁₀)

Gerações	N ^a	Inclinação ± E.P.M. ^b	CL ₅₀ (IF 95%) mg L ⁻¹	RR CL ₅₀ (IF 95%)	χ ²	P
Parental	700	1,55 ± 0,12	0,067 (0,055-0,079)	-	3,52	0,62
F ₁	800	1,20 ± 0,10	0,119 (0,099-0,143)	1,78 (1,38-2,30)	1,44	0,96
F ₂	600	2,94 ± 0,21	0,267 (0,244-0,293)	3,99 (3,26-4,90)	3,34	0,85
F ₃	600	3,73 ± 0,28	0,414 (0,383-0,447)	6,21 (5,09-7,60)	8,63	0,12
F ₄	550	2,86 ± 0,35	0,885 (0,806-0,968)	13,26 (10,82-16,25)	5,55	0,23
F ₅	125	3,06 ± 0,22	2,321 (2,197-2,454)	34,79 (28,76-42,07)	6,69	0,35
	0					
F ₆	550	5,30 ± 0,39	2,902 (2,750-3,061)	43,49 (35,97-52,57)	7,77	0,13
F ₇	650	3,25 ± 0,25	3,017 (2,760-3,267)	45,21 (36,99-55,25)	9,74	0,14
F ₈	550	4,66 ± 0,40	3,584 (3,339- 3,810)	53,71 (44,26-65,17)	6,62	0,16
F ₉	550	5,36 ± 0,46	4,226 (3,980-4,455)	63,33 (52,35-76,62)	3,48	0,48
F ₁₀	600	5,83 ± 0,45	4,663 (4,439-4,879)	69,88 (57,91-84,33)	4,41	0,35

^a N = Número total de insetos por bioensaio; ^b EPM = Erro padrão da média; CL = Concentração letal; IF 95% = Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; RR = Razão de Resistência: CL₅₀ da população resistente/CL₅₀ da população susceptível; χ² = Qui-quadrado; P = Probabilidade.

Tabela 2. Toxicidade de fosfina para a população resistente de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) e gerações subsequentes (F₁–F₁₀)

Gerações	N ^a	Inclinação ± E.P.M. ^b	CL ₅₀ (IF 95%) mg L ⁻¹	RR CL ₅₀ (IF 95%)	χ ²	P
Parental	600	2,08 ± 0,15	2,73 (2,37-3,10)	-	3,99	0,55
F ₁	250	2,06 ± 0,26	2,46 (2,01-3,05)	0,90 (0,70-1,15)	4,81	0,19
F ₂	700	2,72 ± 0,18	2,24 (2,05-2,45)	0,82 (0,70-0,97)	12,99	0,11
F ₃	650	2,42 ± 0,20	2,44 (2,18-2,77)	0,90 (0,75-1,07)	6,09	0,30
F ₄	750	2,62 ± 0,20	3,03 (2,77-3,31)	1,11 (0,94-1,31)	9,96	0,19
F ₅	1000	2,60 ± 0,17	2,98 (2,76-3,22)	1,09 (0,93-1,28)	8,76	0,46
F ₆	700	4,19 ± 0,28	3,27 (3,07-3,49)	1,20 (1,03-1,40)	5,91	0,66
F ₇	600	2,21 ± 0,18	2,49 (2,18-2,80)	0,91 (0,76-1,10)	8,40	0,30
F ₈	500	2,38 ± 0,28	3,26 (2,90-3,66)	1,20 (1,00-1,43)	2,72	0,74
F ₉	600	2,60 ± 0,24	3,72 (3,36-4,11)	1,37 (1,15-1,62)	7,34	0,12
F ₁₀	600	2,48 ± 0,22	3,46 (3,11-3,84)	1,27 (1,07-1,51)	4,73	0,32

^a N = Número total de insetos por bioensaio; ^b EPM = Erro padrão da média; CL = Concentração letal; IF 95% = Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; RR = Razão de Resistência: CL₅₀ da população resistente/CL₅₀ da população susceptível; χ² = Qui-quadrado; P = Probabilidade.

Tabela 3. Estimativa da herdabilidade realizada (h^2) da resistência para a população selecionada (suscetível) de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) com fosfina (P-F₁₀)

n^b	Estimativas da média ^a (resposta/geração)					Estimativa da seleção média (diferencial/geração)					
	CL ₅₀ inicial	CL ₅₀ final	R^c	p^d	i^e	Inclinação		σ_p^f	S^g	h^{2h}	G^i
	(log) (mg L ⁻¹)	(log) (mg L ⁻¹)				inicial	final				
5 (F ₁ -F ₅)	0,067 (-1,17)	2,321 (0,366)	0,307	28,65	1,192	1,55	3,06	0,434	0,517	0,594	3,26
5 (F ₆ -F ₁₀)	2,902 (0,463)	4,663 (0,669)	0,041	28,65	1,192	5,30	5,83	0,180	0,215	0,191	24,39
11 (P-F ₁₀)	0,067 (-1,17)	4,663 (0,669)	0,184	28,65	1,192	1,55	5,83	0,271	0,323	0,571	5,43

^a Os valores de CL₅₀ inicial e final (mg L⁻¹) foram determinados para cada geração.

^b n = Número de gerações sob seleção.

^c Resposta à seleção ou taxa de desenvolvimento da resistência (R): $\log(\text{CL}_{50} \text{ final}) - \log(\text{LC}_{50} \text{ inicial})/n$.

^d Percentagem média de sobreviventes em cada geração sob seleção (p).

^e Intensidade de seleção (i) (Falconer 1989).

^f Desvio fenotípico (σ_p) = $[0,5 \times (\text{inclinação inicial} + \text{inclinação final})]^{-1}$.

^g Diferencial de seleção (S) (diferença fenotípica média entre os pais selecionados e a geração dos pais, $S = i \times \sigma_p$).

^h Herdabilidade realizada (h^2) = R/S .

ⁱ G = Número de gerações necessárias para aumentar em 10 vezes a CL₅₀ (valor recíproco a R).

Tabela 4. Sumário das análises de correlação entre toxicidade a fosfina (medida pela razão de resistência para CL_{50}) e parâmetros fisiológicos, bióticos e comportamentais para as duas populações de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae)

Parâmetros avaliados	População	População não
	selecionada	selecionada
	RR (CL_{50})	RR (CL_{50})
Taxa respiratória (μ mol CO_2 h^{-1} inseto $^{-1}$)	$r^a = -0,8291$ $P^b < 0,0016^*$ $r = 0,9017$	$r = 0,4723$ $P < 0,1424$ $r = 0,6568$
Taxa instantânea de crescimento (r_i)	$P < 0,0001^*$ $r = -0,0691$	$P < 0,0281^*$ $r = -0,1289$
Perda de massa dos grãos (%)	$P > 0,8401$ $r = -0,3603$	$P > 0,7057$ $r = 0,2784$
Massa corpórea dos insetos (mg)	$P > 0,2764$ $r = -0,8594$	$P > 0,4071$ $r = 0,6687$
Distância caminhada (cm)	$P < 0,0007^*$ $r = -0,9173$	$P < 0,0245^*$ $r = 0,5828$
Tempo de caminhada (s)	$P < 0,0001^*$ $r = 0,6881$	$P < 0,0599$ $r = 0,4619$
Velocidade de caminhada ($cm\ s^{-1}$)	$P < 0,0193^*$ $r = -0,9049$	$P < 0,1527$ $r = -0,3525$
Número de paradas na arena	$P < 0,0001^*$ $r = 0,7800$	$P < 0,2876$ $r = -0,0010$
Iniciação de voo (%)	$P < 0,0046^*$	$P < 0,9977$

^a Coeficiente de correlação de Pearson (r). ^b P = Probabilidade.

Os asteriscos indicam significância a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Figuras

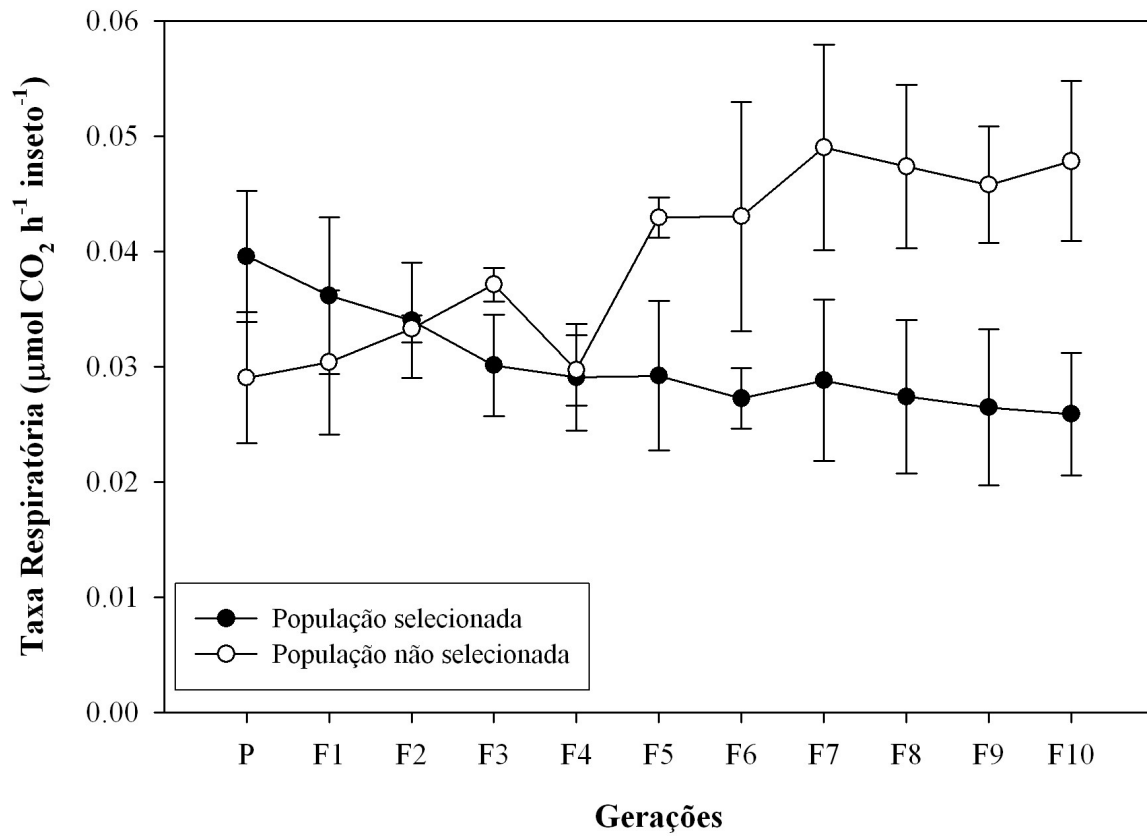


Figura 1. Taxa respiratória média (\pm E.P.M.) ($\mu \text{ mol CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ inseto}^{-1}$) de insetos adultos de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), durante 10 gerações de seleção para resistência à fosfina (população selecionada) e sem exposição à fosfina (população não selecionada).

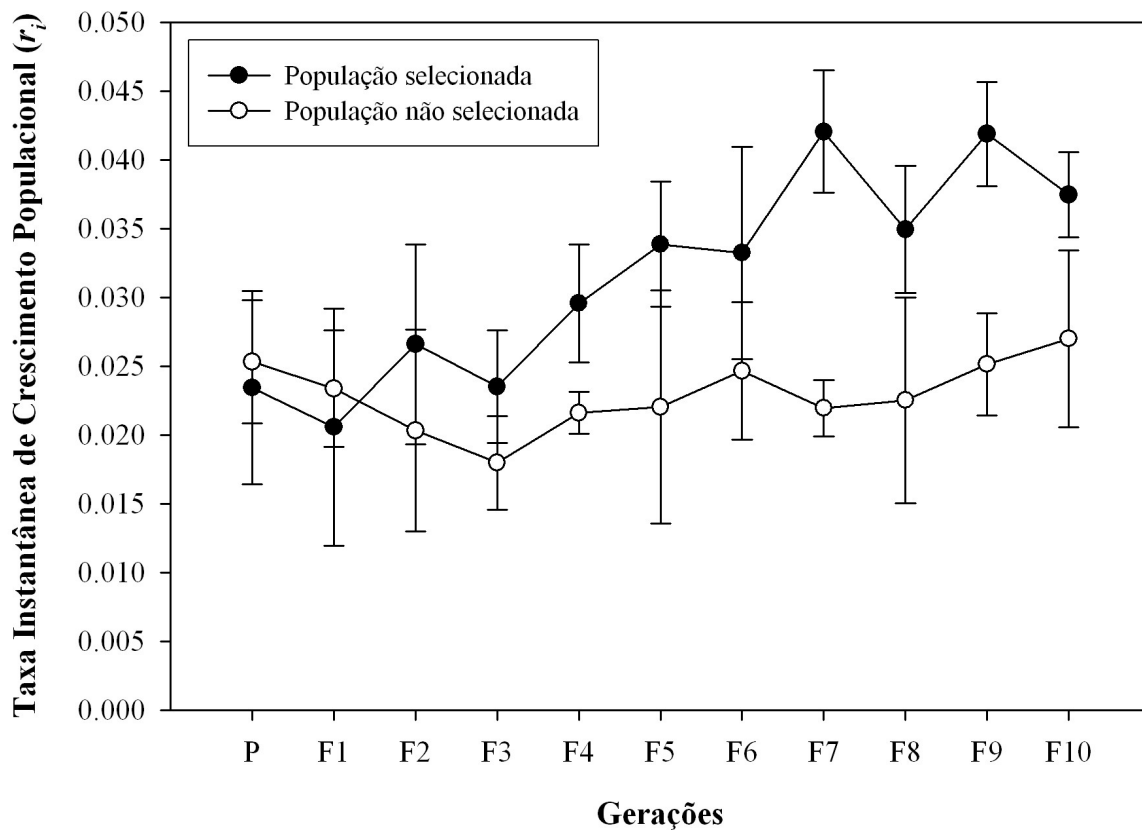


Figura 2. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) média (\pm E.P.M.), para duas populações de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), durante 10 gerações de seleção para resistência à fosfina (população selecionada) e sem exposição à fosfina (população não selecionada).

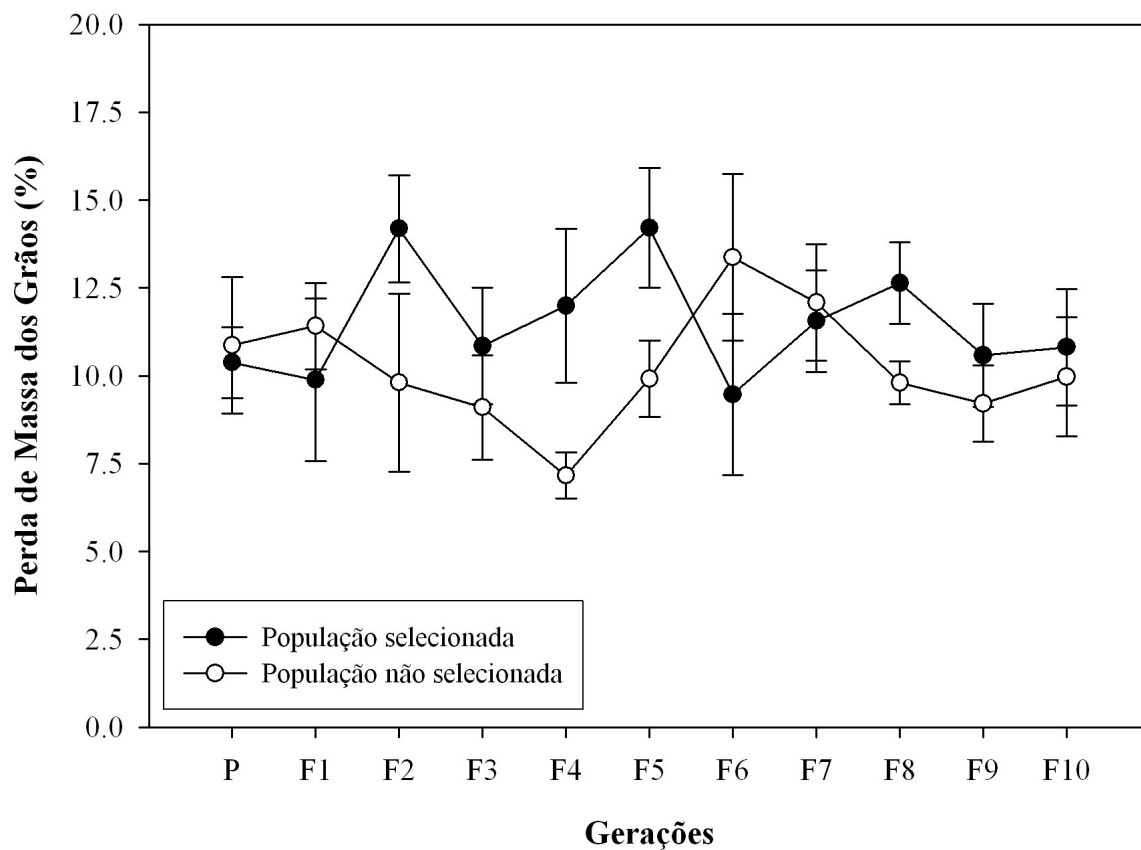


Figura 3. Percentual médio de consumo de grãos de trigo (\pm E.P.M.), por insetos adultos de *Rhizopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), durante 10 gerações de seleção para resistência à fosfina (população selecionada) e sem exposição à fosfina (população não selecionada).

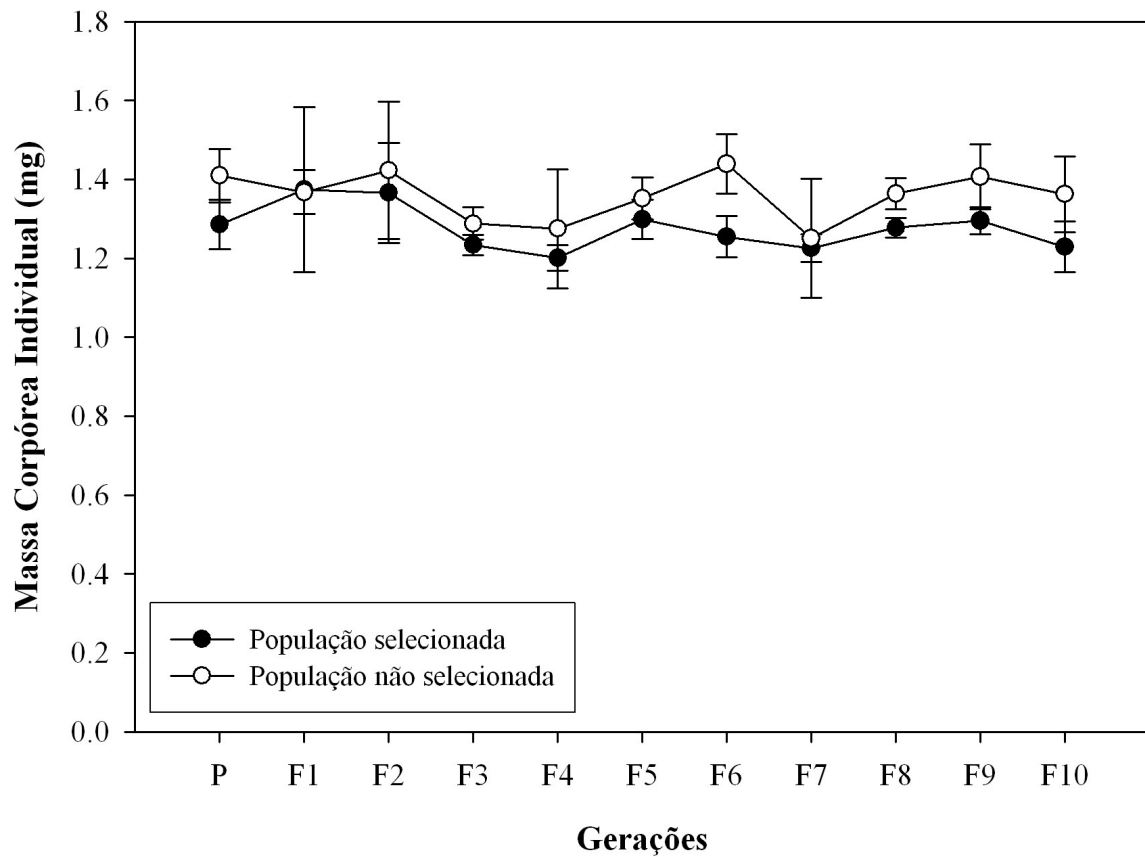


Figura 4. Massa corpórea média (\pm E.P.M.) de insetos adultos de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), durante 10 gerações de seleção para resistência à fosfina (população selecionada) e sem exposição à fosfina (população não selecionada).

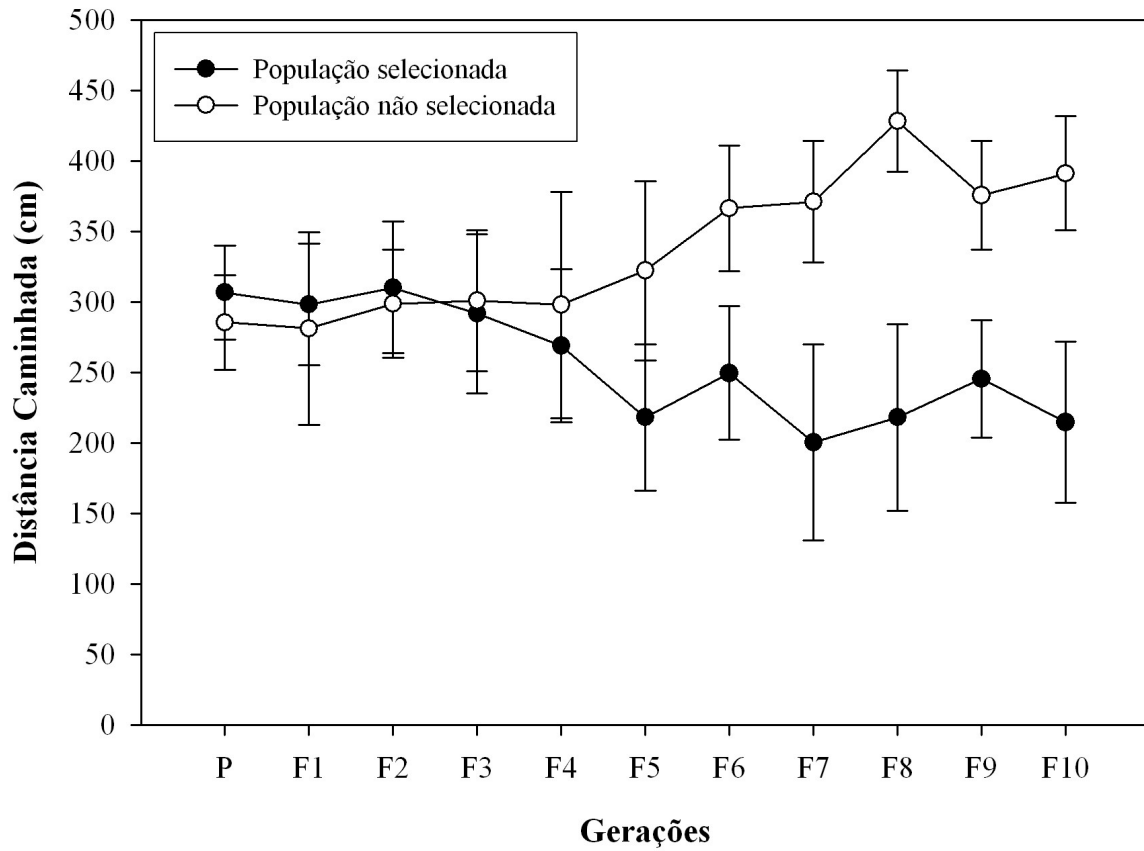


Figura 5. Distância caminhada (cm) (\pm E.P.M.) por insetos adultos de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), durante 10 gerações de seleção para resistência à fosfina (população selecionada) e para população mantida sem exposição à fosfina (população não selecionada). Os símbolos representam médias de vinte repetições independentes.

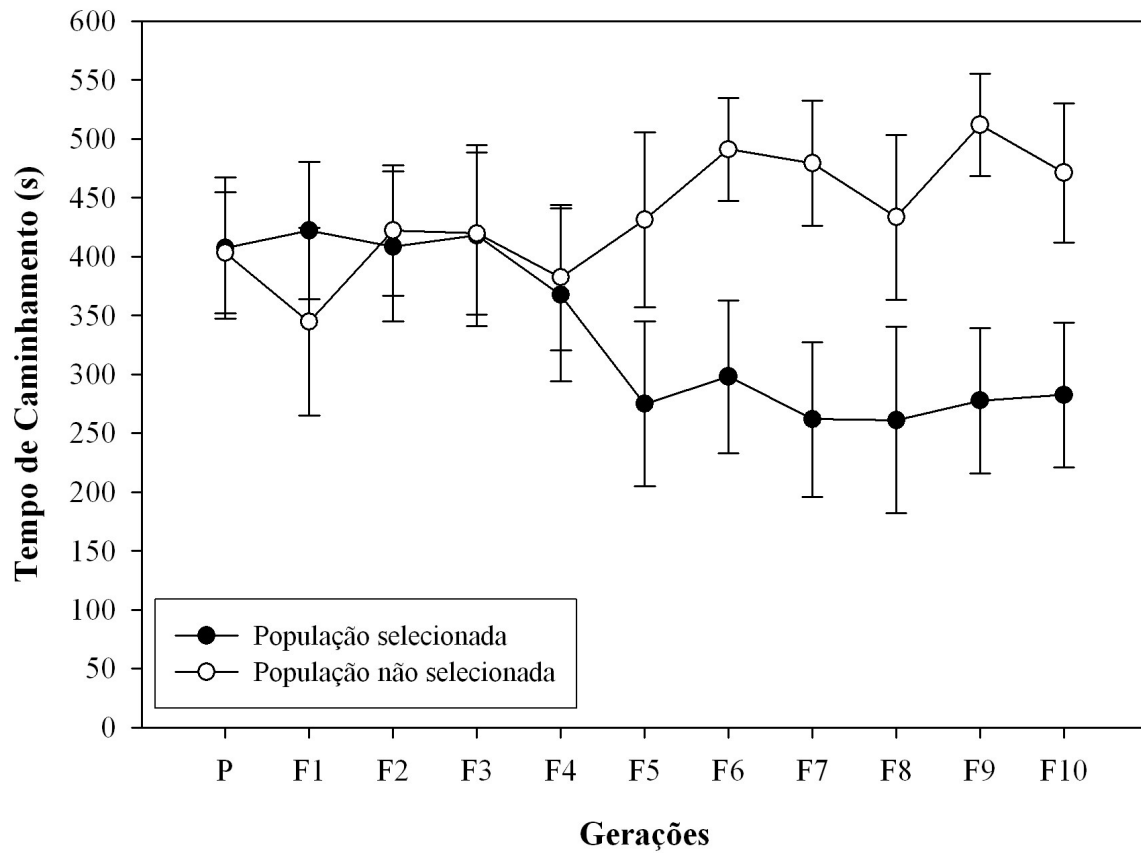


Figura 6. Tempo de caminhada (s) (\pm E.P.M.) de insetos adultos de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), durante 10 gerações de seleção para resistência à fosfina (população selecionada) e para população mantida sem exposição à fosfina (população não selecionada). Os símbolos representam médias de vinte repetições independentes.

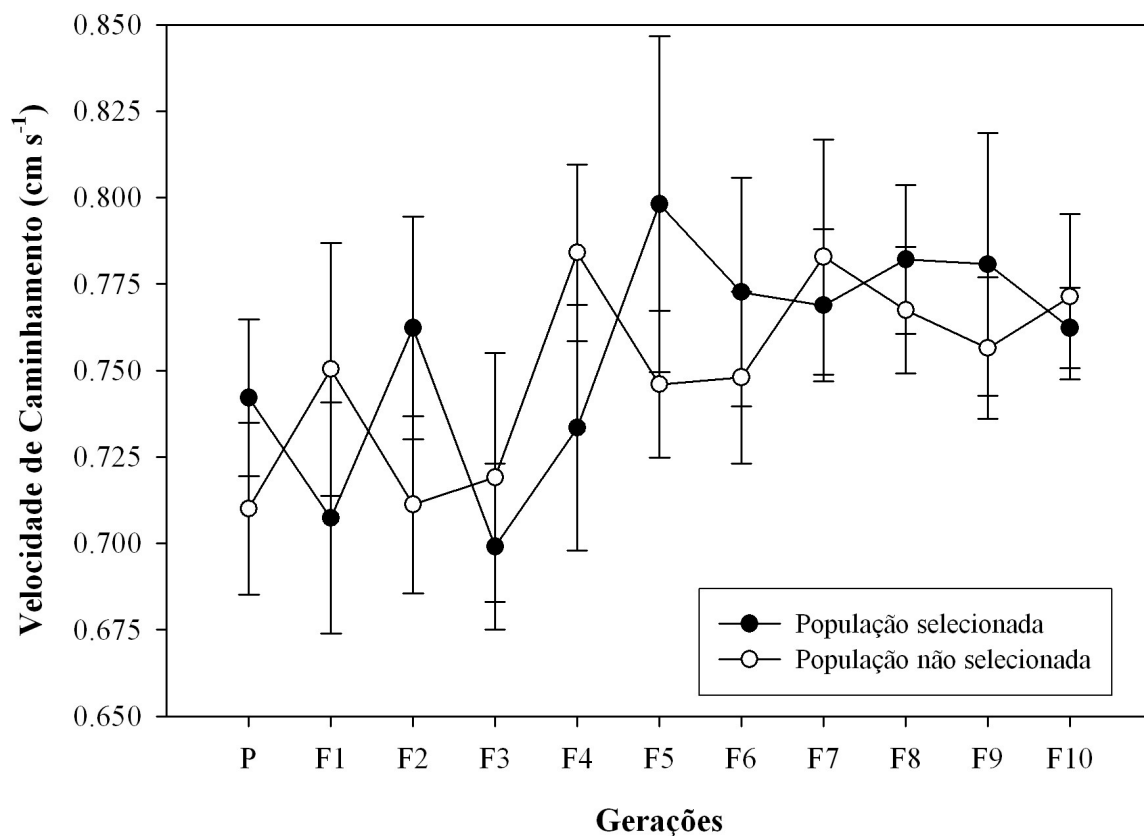


Figura 7. Velocidade de caminhada (cm s^{-1}) (\pm E.P.M.) de insetos adultos de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), durante 10 gerações de seleção para resistência à fosfina (população selecionada) e para população mantida sem exposição à fosfina (população não selecionada). Os símbolos representam médias de vinte repetições independentes.

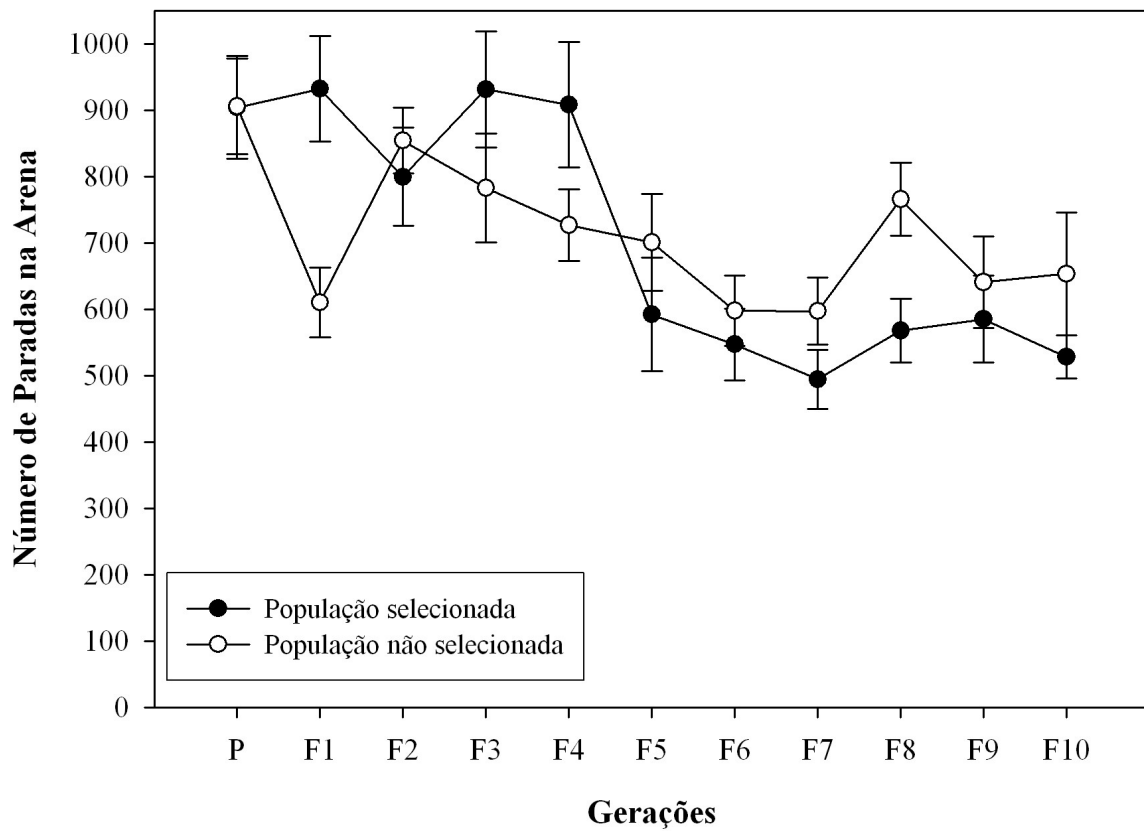


Figura 8. Número de paradas na arena (\pm E.P.M.) de insetos adultos de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae), durante 10 gerações sob seleção para resistência à fosfina (população selecionada) e para população mantida sem exposição à fosfina (população não selecionada). Os símbolos representam médias de vinte repetições independentes.

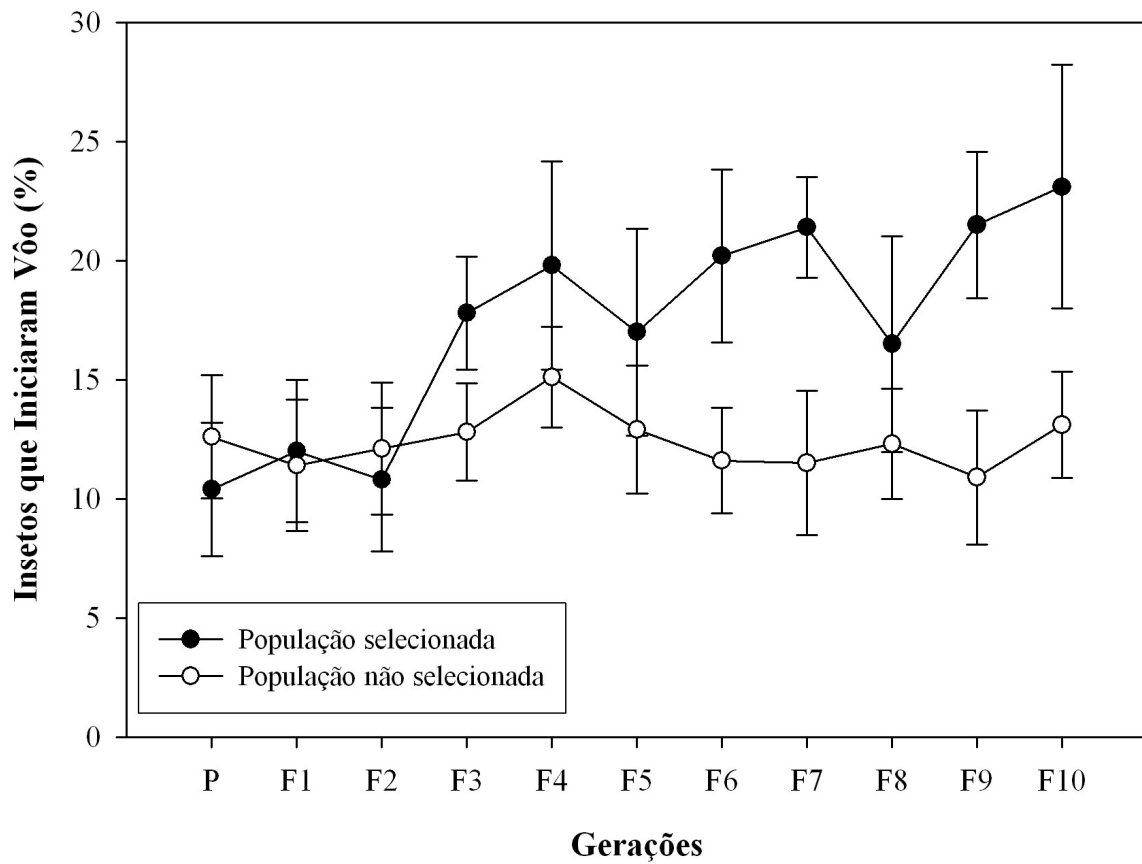


Figura 9. Percentual médio de insetos adultos de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) que iniciaram voo (decolagem) (\pm E.P.M.), durante 10 gerações sob seleção para resistência à fosfina (população selecionada) e sem exposição à fosfina (população não selecionada).

Conclusões

Os insetos adultos de *Rhyzopertha dominica*, expostos a concentrações subletais de fosfina, diminuem sua mobilidade normal, reduzindo a distância e a velocidade de caminhamento e aumentando o tempo que permanecem em repouso, assim como o número de vezes que cessam os movimentos na arena sob fumigação.

A redução da mobilidade normal dos insetos foi mais pronunciada na população com presença de custo adaptativo devido à resistência. Aparentemente, as desvantagens adaptativas (menor crescimento populacional) afetam a mobilidade dos insetos desta população. Contudo, este padrão comportamental pode ser atribuído também aos altos níveis de resistência. Assim, esforços futuros deverão responder se apenas estes custos adaptativos são responsáveis pela mobilidade reduzida ou se este é um efeito devido à elevada resistência dos insetos desta população à fosfina.

A evolução da resistência à fosfina é rápida atingindo níveis elevados de resistência à fosfina (≈ 69 vezes) até a décima geração. Em aproximadamente cinco gerações, podem-se obter valores de CL_{50} dez vezes maiores que os observados na geração parental. A variabilidade genética da população selecionada pode ser considerada alta devido ao elevado valor obtido para a herdabilidade realizada. A resistência à fosfina mostra-se estável em população mantida sem pressão de seleção, com pequena variação ($\approx 1,2$ vezes) da razão de resistência entre as gerações.

A ausência de pressão de seleção ocasiona aumento da taxa respiratória e alterações não significativas na taxa de desenvolvimento populacional, massa corpórea dos insetos, consumo alimentar e iniciação de voo. O desenvolvimento da resistência à fosfina acarreta redução da taxa respiratória dos insetos e incremento na taxa de crescimento populacional e

na iniciação de voo dos insetos selecionados. Aparentemente a evolução da resistência á fosfina não acarreta aumento da massa corpórea (reservas energéticas) dos insetos selecionados, tampouco incremento significativo na alimentação ou consumo dos grãos de trigo.

O desenvolvimento da resistência à fosfina reduz a mobilidade normal dos insetos selecionados. Esta mudança no comportamento locomotor dos insetos pode diminuir a eficiência da fumigação e provocar superestimação de doses ou mesmo de tempo de exposição à fosfina.

ANEXOS
(Artigos 1 e 2)

Artigo 1

Tabela 1. Mortalidade média (%) observada dos insetos adultos das três populações de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) que foram submetidos aos bioensaios comportamentais sob concentrações subletais de fosfina

Populações	N ^a	Concentrações de fosfina (mg L ⁻¹)	*Mortalidade (%) ± E.P.M. ^b
Suscetível	20	0,000	1,85 ± 0,78 b
	21	0,010	4,93 ± 0,91 b
	20	0,067	10,77 ± 1,22 a
	20	0,180	12,25 ± 0,71 a
	20	0,760	12,75 ± 0,36 a
	22	2,000	12,47 ± 2,58 a
Resistente sem Custo	20	0,00	2,51 ± 1,05 c
	19	0,66	5,00 ± 1,41 c
	20	2,00	10,31 ± 2,27 b
	21	2,73	11,37 ± 1,36 b
	20	5,76	13,00 ± 1,41 ab
	20	16,89	16,15 ± 2,62 a
Resistente com Custo	20	0,00	0,50 ± 0,71 d
	22	2,00	4,13 ± 0,60 d
	21	3,74	16,88 ± 2,65 c
	21	5,72	30,50 ± 1,13 b
	20	7,15	36,25 ± 2,47 a
	19	9,87	38,81 ± 1,37 a

* A mortalidade dos insetos observada após os bioensaios de comportamento locomotor sob fumigação variou significativamente para as três populações; suscetível ($F_{5,119} = 25,16$; $P < 0,0006$), e as populações resistentes, sem custo ($F_{5,119} = 16,36$; $P < 0,0019$) e com custo ($F_{5,119} = 190,25$; $P < 0,0001$). As avaliações de mortalidade foram realizadas 14 dias após o fim dos ensaios comportamentais.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, $P < 0,05$, pelo teste de Duncan.

^aN = Número total de insetos por bioensaio; ^bEPM = Erro padrão da média



Figura 1. Sistema de rastreamento utilizado nos bioensaios comportamentais composto por uma câmera de vídeo acoplada a um computador. Sistema utilizado nos dois artigos da tese.

Foto: Marco Aurélio Guerra Pimentel (Junho-2009).

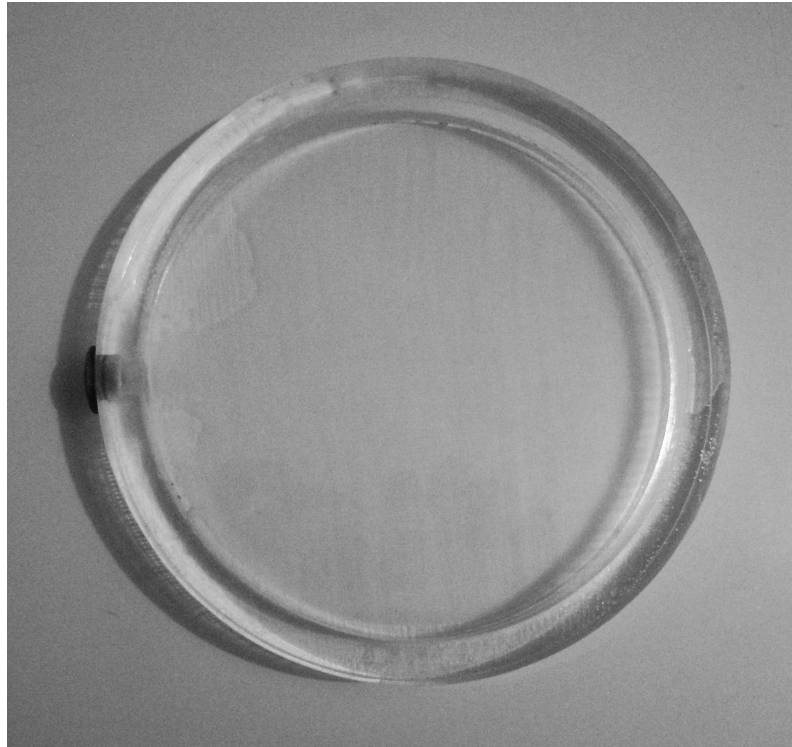


Figura 2. Arena em acrílico utilizada nos bioensaios comportamentais com adultos de *R. dominica*. Arena utilizada nos dois artigos da tese. Foto: Marco Aurélio Guerra Pimentel (Fevereiro-2010).

Artigo 2

Tabela 2. Taxa respiratória (produção de CO₂), taxa de crescimento populacional (r_i) e perda de massa dos grãos para as gerações (P–F₁₀) das populações resistente (não selecionada) e suscetível (selecionada) de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae)

Gerações	Taxa respiratória		Taxa instantânea de crescimento		Perda de massa dos grãos (%)	
	(μ mol CO ₂ h ⁻¹ inseto ⁻¹)		populacional (r_i)		População selecionada	População não selecionada
	População selecionada	População não selecionada	População selecionada	População não selecionada		
Parental	0,0395 ± 0,0057 a	0,0290 ± 0,0057 cd	0,0234 ± 0,0070 de	0,0253 ± 0,0045 <i>n.s.</i>	10,38 ± 3,01 b	10,87 ± 1,95 bcd
F ₁	0,0361 ± 0,0068 b	0,0304 ± 0,0063 cd	0,0206 ± 0,0086 e	0,0234 ± 0,0042	9,89 ± 2,31 b	11,42 ± 1,23 bc
F ₂	0,0340 ± 0,0050 b	0,0333 ± 0,0119 bc	0,0266 ± 0,0073 cde	0,0203 ± 0,0073	14,19 ± 3,53	9,81 ± 2,53 cd
F ₃	0,0301 ± 0,0044 c	0,0371 ± 0,0147 b	0,0235 ± 0,0041 de	0,0180 ± 0,0034	10,85 ± 1,66 ab	9,10 ± 1,49 d
F ₄	0,0291 ± 0,0046 cd	0,0247 ± 0,0031 d	0,0296 ± 0,0043 bcd	0,0216 ± 0,0015	11,99 ± 3,19 ab	7,16 ± 0,65 e
F ₅	0,0292 ± 0,0065 cd	0,0429 ± 0,0176 a	0,0339 ± 0,0155 abc	0,0220 ± 0,0085	14,21 ± 5,71 a	9,91 ± 1,09 cd
F ₆	0,0272 ± 0,0027 cd	0,0430 ± 0,0099 a	0,0332 ± 0,0077 bc	0,0246 ± 0,0050	9,47 ± 2,29 b	13,37 ± 2,37 a
F ₇	0,0288 ± 0,0070 cd	0,0490 ± 0,0089 a	0,0420 ± 0,0044 a	0,0219 ± 0,0020	11,56 ± 1,45 ab	12,09 ± 1,66 ab
F ₈	0,0274 ± 0,0067 cd	0,0474 ± 0,0071 a	0,0349 ± 0,0046 abc	0,0225 ± 0,0075	12,64 ± 3,17 ab	9,80 ± 0,61 cd
F ₉	0,0265 ± 0,0068 cd	0,0458 ± 0,0050 a	0,0419 ± 0,0038 a	0,0251 ± 0,0037	10,58 ± 1,47 ab	9,22 ± 1,09 d
F ₁₀	0,0259 ± 0,0053 d	0,0478 ± 0,0070 a	0,0375 ± 0,0031 ab	0,0270 ± 0,0064	10,82 ± 1,66 ab	9,97 ± 1,70 cd

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, $P < 0,05$, pelo teste de Duncan. *n.s.* = Não significativo

Tabela 3. Massa corpórea dos insetos, distância caminhada e tempo de caminhada para as gerações (P–F₁₀) das populações resistente (não selecionada) e suscetível (selecionada) de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae)

Gerações	Massa corpórea dos insetos (mg)		Distância caminhada (cm)		Tempo de aminhamento (s)	
	População	População não	População	População não	População	População não
	selecionada	selecionada	selecionada	selecionada	selecionada	selecionada
Parental	1,29 ± 0,06 bc	1,41 ± 0,07 a	306,64 ± 33,50 a	285,30 ± 33,71 b	407,05 ± 59,94 ab	403,36 ± 51,59 d
F ₁	1,37 ± 0,21 a	1,37 ± 0,06 ab	298,06 ± 42,94 a	281,07 ± 68,17 b	422,11 ± 58,22 a	344,60 ± 129,60 e
F ₂	1,37 ± 0,13 a	1,42 ± 0,17 a	310,12 ± 46,68 a	298,68 ± 38,14 b	408,50 ± 63,73 ab	422,18 ± 55,63 cd
F ₃	1,23 ± 0,03 cde	1,29 ± 0,04 bcd	291,64 ± 56,46 a	300,83 ± 50,03 b	417,87 ± 76,90 a	419,57 ± 69,08 cd
F ₄	1,20 ± 0,03 e	1,27 ± 0,15 cd	268,94 ± 54,19 ab	297,89 ± 80,35 b	367,53 ± 73,34 b	382,21 ± 101,52 de
F ₅	1,30 ± 0,05 b	1,35 ± 0,05 abc	218,03 ± 72,09 cd	322,07 ± 63,53 ab	274,95 ± 90,16 c	431,26 ± 74,29 bcd
F ₆	1,26 ± 0,05 cde	1,44 ± 0,08 a	249,38 ± 97,36 bc	366,35 ± 44,61 ab	298,03 ± 84,73 c	491,10 ± 43,78 a
F ₇	1,23 ± 0,04 de	1,25 ± 0,15 d	200,42 ± 99,55 d	371,13 ± 73,02 ab	261,81 ± 115,77 c	479,20 ± 93,09 ab
F ₈	1,28 ± 0,03 bcd	1,36 ± 0,04 ab	218,08 ± 66,34 cd	428,08 ± 35,94 a	261,00 ± 79,26 c	433,44 ± 69,85 bcd
F ₉	1,30 ± 0,03 b	1,41 ± 0,08 a	245,37 ± 71,70 bc	375,45 ± 38,59 ab	277,71 ± 61,79 c	511,85 ± 43,31 a
F ₁₀	1,23 ± 0,06 de	1,36 ± 0,10 ab	214,64 ± 97,07 cd	391,10 ± 40,50 ab	282,39 ± 115,45 c	471,17 ± 79,07 abc

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, $P < 0,05$, pelo teste de Duncan.

Tabela 4. Velocidade de caminhada, número de paradas na arena e percentual de insetos que iniciaram voo para as gerações (P–F₁₀) das populações resistente (não selecionada) e suscetível (selecionada) de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae)

Gerações	Velocidade de caminhada (cm s ⁻¹)		Número de paradas na arena		Iniciação de voo (%)	
	População	População não	População	População não	População	População não
	selecionada	selecionada	selecionada	selecionada	selecionada	selecionada
Parental	0,742 ± 0,073 bc	0,710 ± 0,055 c	904,0 ± 177,8 ab	906,0 ± 171,9 a	10,4 ± 2,8 d	12,6 ± 2,6 n.s.
F ₁	0,707 ± 0,053 c	0,750 ± 0,067 abc	932,4 ± 179,5 a	610,0 ± 232,5 e	12,0 ± 3,0 d	11,4 ± 2,8
F ₂	0,762 ± 0,062 ab	0,711 ± 0,066 c	799,5 ± 174,3 b	854,3 ± 219,1 ab	10,8 ± 3,0 d	12,1 ± 2,8
F ₃	0,699 ± 0,054 c	0,719 ± 0,056 bc	931,3 ± 227,8 a	782,7 ± 181,8 abc	17,8 ± 5,4 bc	12,8 ± 3,0
F ₄	0,733 ± 0,066 bc	0,784 ± 0,075 a	908,4 ± 194,6 ab	726,9 ± 224,3 bcde	19,8 ± 4,4 abc	15,1 ± 3,1
F ₅	0,798 ± 0,089 a	0,746 ± 0,061 abc	592,0 ± 205,2 c	700,8 ± 172,6 cde	17,0 ± 4,3 bc	12,9 ± 2,7
F ₆	0,773 ± 0,053 ab	0,748 ± 0,075 abc	547,0 ± 154,1 c	597,9 ± 213,0 e	20,2 ± 6,6 abc	11,6 ± 4,2
F ₇	0,769 ± 0,119 ab	0,783 ± 0,084 a	494,4 ± 244,5 c	597,2 ± 220,3 e	21,4 ± 6,1 ab	11,5 ± 3,0
F ₈	0,782 ± 0,052 ab	0,767 ± 0,048 a	567,7 ± 148,0 c	765,8 ± 155,0 bcd	16,5 ± 4,5 c	12,3 ± 2,3
F ₉	0,781 ± 0,048 ab	0,756 ± 0,060 ab	584,9 ± 165,4 c	640,5 ± 208,8 de	21,5 ± 6,1 ab	10,9 ± 2,8
F ₁₀	0,762 ± 0,116 ab	0,771 ± 0,074 a	527,9 ± 232,4 c	653,2 ± 192,1 cde	23,1 ± 5,1 a	13,1 ± 2,2

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, $P < 0,05$, pelo teste de Duncan. n.s. = Não significativo