

EUGÊNIO EDUARDO OLIVEIRA

**Competição entre populações de *Sitophilus zeamais* Motschulsky
(Coleoptera: Curculionidae) resistente e susceptível a piretróides**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2005**

EUGÊNIO EDUARDO OLIVEIRA

**Competição entre populações de *Sitophilus zeamais* Motschulsky
(Coleoptera: Curculionidae) resistente e susceptível a piretróides**

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

Prof. Marcos Rogério Tótola
(Conselheiro)

Dr. Edilberto Pozo Velázquez

Prof^a Leda Rita D’Antonino Faroni

Dr. Jamilton Pereira dos Santos

Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes
(Orientador)

Dedicatória

Aos meus pais, Terezinha de Jesus Oliveira e Sebastião Ferreira de Oliveira

A todos os meus irmãos e irmãs.

A todo povo brasileiro, especialmente aqueles das Minas Gerais e, principalmente, aos meus conterrâneos nordestinos e jardinenses.

Agradecimentos

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de formação nos cinco anos de Agronomia e em mais dois anos de aprofundamento científico no Mestrado em Entomologia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

A todo o povo brasileiro que ao pagar os impostos proporciona a manutenção das universidades públicas brasileiras e com isso mantém os nossos estudos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia que com sua orientação nas disciplinas me possibilitou a abertura de novos conhecimentos e horizontes científicos.

Ao professor Raul Narciso Carvalho Guedes pelo acolhimento em seu laboratório desde quando aportei na entomologia, pelo profissionalismo e amizade, pela serenidade e principalmente pela confiança depositada e orientação desde minha iniciação científica. Obrigado por tudo.

Aos conselheiros, professora Maria Goreti Almeida de Oliveira, professor Marcos Rogério Tótola e Professor Paulo De Marco Júnior .

Aos Professores Marcelo Coutinho Picanço e Angelo Pallini pela amizade e convivência desde minha iniciação científica e pelo aconselhamento durante o mestrado.

Aos amigos Leonardo Magalhães e Eduardo Hatano por terem me apresentado a entomologia e propiciado o início de toda esta empreitada.

Ao Dr. Berghem Morais Ribeiro pela ajuda e disponibilidade desde a iniciação científica até as discussões e sugestões na confecção dessa dissertação.

A todos os amigos que trabalham na entomologia, especialmente aqueles locados no porão do alojamento feminino, pela convivência, discussões científicas e até as brincadeiras do dia-a-dia.

Aos amigos Badji, Berghem, Daniel, Joelma, Sérgio, Edmar, Rubia, Nelsa, Fabio, Alberto, Bruno e Camilla pela receptividade e convivência durante todo esses anos no laboratório de Toxicologia.

A todos os amigos do alojamento POSINHO, especialmente os do apartamento 1732, com os quais convivi durante algum tempo e os mais recentes que continuo compartilhando. Vocês foram mais de que simples colegas moradores de alojamento que dividiram a mesma casa. Com vocês morei durante o período de graduação e dividimos momentos de alegria e convivência social, ficando, às vezes até altas horas da madrugada filosofando sobre os nossos sonhos e perspectivas de vida.

Aos colegas da república Dend'agua: Bacci, André, Gusmão, Jair, Tederson, Fernando, Edmar, Djalma pela convivência e amizade durante todo o mestrado.

A todos os meus irmãos e irmãs e demais familiares que acreditaram e acreditam em mim, pelo amor, ajuda, carinho, respeito e colaboração durante todo esse tempo de estudos. Obrigado pela confiança e presença em minha vida. Sem cada um de vocês eu não teria chegado até aqui.

A Ana Claudia S. da Silva, pela força, carinho e confiança durante toda esta etapa.

Ao meu pai, Sebastião Oliveira por sempre acreditar em mim. O seu amor e ajuda foram muito importantes nessa longa etapa em minha vida.

Em especial, à minha mãe, TEREZINHA DE JESUS ou simplesmente DONA TÊCA, pois mesmo nordestina, filha de uma terra sofrida, senhora de uma numerosa família, detentora de poucos recursos e estudos, não desistiu do sonho de formar ao menos um de seus filhos.

A sua coragem e bravura, me serviram e sempre servirão de ensinamentos para lutar e superar as dificuldades da vida e, principalmente, jamais desistir dos meus objetivos.

ÍNDICE

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS.....	7
RESULTADOS.....	12
DISCUSSÃO.....	39
CONCLUSÕES.....	44
LITERATURA CITADA	45

RESUMO

OLIVEIRA, Eugênio Eduardo, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2005.
Competição entre populações de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) resistente e susceptível a piretróides. Orientador: Raul Narciso Carvalho Guedes. Conselheiros: Maria Goreti Almeida de Oliveira. Marcos Rogério Tótola e Paulo de Marco Júnior.

Estudos sobre evolução da resistência a inseticidas geralmente associam esse fenômeno a um custo adaptativo ao indivíduo. O pleno conhecimento dos mecanismos que regulam estes custos, possibilita o desenvolvimento de estratégias de controle que podem vir a ser utilizadas no manejo integrado de pragas. Logo, o objetivo deste trabalho foi verificar se a resistência a inseticidas em populações de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) incorre em desfavorecimento adaptativo na ausência de inseticidas. Foram realizados dois experimentos de competição nesse estudo. Em um experimento, indivíduos resistentes e provenientes da população de Jacarezinho foram submetidos a competição com indivíduos susceptíveis por três gerações consecutivas na ausência de inseticidas. O delineamento experimental utilizado foi do tipo fatorial bivariada obtida da expansão de uma série aditiva com dois níveis de densidade inicial de insetos (baixa densidade = 50 indivíduos de uma das populações e série crescente da outra população; e alta densidade = 100 indivíduos de uma das populações e série crescente da outra população). No segundo experimento, as condições experimentais são idênticas ao primeiro experimento, apenas com uma única diferença; que era a procedência dos indivíduos resistentes. Indivíduos resistentes provenientes da população de Juiz de Fora foram utilizados no segundo experimento. O número total de indivíduos, a mortalidade ocasionada por deltametrina, massa corpórea e taxa respirométrica da população foram os parâmetros utilizados para a verificação da

existência de custo adaptativo em ambos experimentos. Os resultados de competição obtidos neste estudo, apontam para a existência de diferentes padrões populacionais de expressão da resistência a inseticidas. Indivíduos resistentes e provenientes da população de Jacarezinho contribuem semelhantemente aos indivíduos susceptíveis para a constituição da população resultante da competição. Já os indivíduos susceptíveis quando submetidos a competição com indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora, apresentaram melhor performance de desenvolvimento do que os indivíduos resistentes. Logo, a expressão da resistência a inseticidas na população de Jacarezinho, parece ser uma característica já fixada na população, onde a produção dos aparatos de defesa contra piretróides já não mais incorrem em desfavorecimento adaptativo. Entretanto, o desfavorecimento adaptativo dos indivíduos resistentes provenientes da população de Juiz de Fora, provê suporte para a hipótese de que a alocação de energia para produção dos mecanismos de defesa a inseticidas, nesta população, estaria desfavorecendo a demanda de energia necessária para os processos relacionados à manutenção e reprodução dos indivíduos. Portanto, a adoção de estratégias de manejo que se baseiem apenas na interrupção de uso de inseticidas piretróides visando o retorno de aplicações destes inseticidas no futuro, podem não surtir os efeitos esperados em determinadas populações desta praga (por exemplo, a população de Jacarezinho). Isto porque, mesmo passado um determinado período de tempo, as populações resistentes desta praga podem ainda se manter como tais.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Eugênio Eduardo, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February, 2005.
Competition among pyrethroide resistant and susceptible strains of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Adviser: Raul Narciso Carvalho Guedes. Committee members: Maria Goreti Almeida de Oliveira, Marcos Rogério Tótola and Paulo de Marco Júnior.

Studies on insecticide resistance evolution usually associate this phenomenon with an adaptative cost to the individual carrying this trait. The overall knowledge on mechanisms that regulate the expression of this adaptative costs on resistant insects contribute to development of tactics that can be used on insect pest management. Therefore, our objective was to verify if insecticide resistance in populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky incurs in fitness cost under an insecticide-free environment. Two competition experiments were carried out on this study. On the first experiment, resistant individuals and originated from population of Jacarezinho was submitted to competition condition with susceptible individuals for three consecutive generations in the absence of insecticide. A factorial bivariated derivated from an additive series was used in the experimental design with two initial density levels (lower, with 50 individuals of one population and a crescent series of individuals from 0 to 50 from the other population; and higher, with 100 individuals of a population and a crescent series of individuals from 0 to 100 from the other). On the second experiment, all the competition conditions is similar to the first experiment, except to the provenience of the resistant individuals. On this experiment, the resistant individuals used were originated from Juiz de Fora population. The total number of adult insects, mortality by deltamethrin, insect body mass and respiration rate for each treatment were recorded to verify which phenotype prevails. Based on the obtained competition results, there were different populations patterns on insecticide resistance

expression. Resistant individuals originated from Jacarezinho showed similar contribution to constitution of competition resultant population. However, the susceptible individual showed better development performance than resistant individuals originated to Juiz de Fora population when submitted to competition conditions in the absence insecticide. So, the expression of insecticide resistance on population originated to Jacarezinho seems to be a fixed characteristic without any kind of cost associated. In the other hand, the adaptative disadvantage on Juiz de Fora population give supports to the hypotheses of energetic investments on insecticides resistance mechanisms expression prejudice the investments on other important physiological process, like maintenance and reproduction. This finding brings about practical complications for insecticide resistance management in this species because management strategies based on the interruption of pyrethroid use aiming their future reintroduction may not achieve the desired effects. This may take place because even after a long period without insecticide use, some resistant populations (like Jacarezinho) may still maintain themselves as such since there is no perceptible adaptative disadvantage associated with this trait.

INTRODUÇÃO

O caruncho do milho *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) é muito semelhante morfológicamente ao *Sitophilus oryzae*, uma outra espécie de caruncho que também ataca grãos armazenados. Essa semelhança foi responsável, até o início da década de 60, por inúmeros equívocos na identificação dessas espécies (Cajueiro, 1988), até que Kurschel (1961) descobriu características na genitália desses gorgulhos, mais especificamente na morfologia do aedégos, que possibilitaram a discriminação e identificação segura das espécies em discussão.

Sitophilus zeamais apresenta um ciclo de vida de 34 dias em média e aproximadamente 2,5 a 4,0 mm de comprimento quando adulto. Apresenta quatro manchas de cor marrom nos élitros e toda a face dorsal e ventral do inseto possui pontuações (Rosseto, 1969). A fêmea, durante sua fase reprodutiva e mantida em condições ótimas de desenvolvimento, oviposita em torno de 150 ovos. Com suas mandíbulas, ela abre um orifício no grão e deposita um ovo por orifício, fechando a abertura com uma substância produzida pelo órgão ovipositor (Evans, 1981; Cotton *et al.*, 1982). Geralmente ocorre canibalismo entre as larvas (Dobie, *et al.*, 1984 ; Evans, 1981. Danho et al, 2002). As formas jovens se desenvolvem no interior do grão utilizando-o como alimento e abrigo (Evans, 1981) e esse processo, aliado à ação dos indivíduos adultos que também se alimentam do grão, leva a consideráveis perdas na quantidade e na qualidade de grãos estocados (Santos et al. 1986, Guedes et al. 1994, Ribeiro *et al.* 2003). A longevidade de *S. zeamais* em condições ótimas de desenvolvimento é, em média, de cinco meses e o número médio de gerações por ano é de sete (Teetes *et al.*, 1983). As condições ambientais ótimas de desenvolvimento desse inseto são: 70% de umidade relativa do ar e 25° C de temperatura (Rees, 1996).

Em virtude do uso indiscriminado de inseticidas no controle de pragas de grãos armazenados (Guedes *et al.* 1998), resistência a inseticidas em populações de *S. zeamais* tem sido apontada como um dos principais fatores responsáveis pelo aparecimento de falhas no controle desta espécie (Santos *et al.* 1986; Guedes *et al.* 1994; Oliveira *et al.* 2002, Ribeiro *et al.* 2003).

A resistência a inseticidas se traduz em mecanismos de resistência que são o resultado de alterações no genoma do indivíduo, capacitando-o a sobreviver em situações de exposição a doses supostamente letais de inseticidas. Os principais mecanismos de resistência, de acordo com a divisão proposta por Brattsten *et al.*, (1986), são agrupados em comportamentais, fisiológicos e bioquímicos, dentre os quais, o terceiro é de ocorrência mais frequente e que leva a níveis mais elevados de resistência .

A evolução da resistência a inseticidas está intimamente relacionada com a existência de custos adaptativos associados à expressão do fenômeno. O pleno conhecimento dos mecanismos que regulam estes custos, possibilita o desenvolvimento de estratégias de controle que podem vir a serem utilizadas no manejo integrado de pragas. Estes custos geralmente são notados na redução da performance reprodutiva dos indivíduos, ou ocasionando mal adaptações comportamentais, ou até mesmo debilitando outros processos fisiológicos importantes para manutenção dos indivíduos (Foster *et al.* 2000; Costau *et al.* 2000; Arnaud & Haubruge 2002; Fragoso *et al.* 2005).

Indivíduos resistentes geralmente apresentam redução na fecundidade e aumento no ciclo de vida, o que quase sempre os tornam piores competidores do que indivíduos susceptíveis na ausência de inseticidas. O atraso em um dia na oogênese de indivíduos de *Drosophila melagonaster* (Meigen) resistentes a metroprono, foi atribuído à baixa eficiência competitiva destes indivíduos quando submetidos a competição com indivíduos

susceptíveis na ausência do agente estressante (Minkoff & Wilson, 1992). Foster *et al* (1996) e Foster *et al* (2000) relatam que populações de *Myzus persicae* (Sulzer) que apresentavam elevadas taxas de atividade para esterases (grupo enzimático envolvido na destoxificação de diversos inseticidas) tiveram significativa redução na tolerância ao frio quando comparadas a indivíduos susceptíveis, além de apresentarem um redução na dispersão de folhas velhas antes da abscisão (importante comportamento para obtenção de alimento, mesmo nos períodos de translocação de nutrientes nas plantas).

Segundo Field *et al.* (1997), os genes que codificam as proteínas formadoras dos canais de sódio (e que conferem o mecanismo de resistência por alteração no sítio de ação de inseticidas piretróides e DDT) estão intimamente ligados ao aumento na produção de carboxilesterases em populações de *M. persicae* resistentes a piretróides. Logo, essas alterações nos canais de sódio podem estar prejudicando a sensibilidade destes canais a outros estímulos, usados pelos indivíduos de *M. persicae* susceptíveis a inseticidas para a sobrevivência (Martinez-Torres *et al.* 1999). Alterações em canais de sódio têm sido associadas a reduções na sensibilidade olfatorial de determinados estímulos em *Drosophila melanogaster* (Meigen) (Lilly *et al.*, 1994).

O fato de determinados alelos que conferem resistência a inseticidas serem dispersos facilmente na população (mesmo apresentando determinados custos adaptativos), tem sido objeto de estudos que visam o desenvolvimento de estratégias de controle de determinados vetores de doenças (Curtis & Davis 1988; Sinkins & Hastings 2004). O aperfeiçoamento da engenharia genética e a melhor compreensão da biologia populacional de linhagens resistentes, tem levado pesquisadores a pensar na modificação genômica de determinados vetores, de maneira a produzir indivíduos machos que contenham genes que governem pleiotropicamente a expressão de resistência a inseticidas e o bloqueio da

transmissão do agente causador de doenças (Sinkins & Hastings 2004). Isto tornaria compatível, em um mesmo sistema, a utilização dos indivíduos geneticamente modificados em associação com outras práticas convencionais de controle. Contudo, este tipo de estratégia somente pode ser pensada em casos onde o mecanismo que regula a expressão do gene para a resistência a inseticidas seja ligado ao sexo, pois se ocorrerem falhas nos mecanismos de bloqueio da transmissão do agente causador da doença, o controle tradicional das populações de vetores não estaria prejudicado, uma vez que; insetos machos não transmitem os agentes causadores da doença e o aumento na proporção de machos não afeta significativamente a taxa de crescimento da população (Sinkins & Hastings 2004).

Curiosamente, existem na literatura diversos estudos que também demonstram a inexistência de custos fisiológicos associados a resistência a inseticidas em algumas linhagens (Kence & Jdeidi, 1997; Baker *et al.* 1998, Oppert *et al.* 2000; Haubruge & Arnaud 2001; Fragoso *et al.*; 2005). Fragoso *et al.* (2005), utilizando estudos de crescimento populacional, relatam que em uma das suas populações de *S. zeamais* resistentes a piretróides ocorre desempenho reprodutivo semelhante ao apresentado pela população padrão de susceptibilidade, demonstrando que a resistência a inseticidas em populações desta praga pode não incorrer em custo fisiológico adicional capaz de modificar sua performance reprodutiva.

Uma maneira de se aferir a intensidade de competição entre duas espécies (ou populações da mesma espécie) de insetos é avaliar o crescimento populacional das espécies (ou populações) em várias densidades e proporções, em condições ambientais controladas (Weldem & Slausom, 1986). A intensidade de competição em níveis populacionais ou de comunidades é decorrente da soma das intensidades experimentadas pelos indivíduos (Weldem & Slausom, 1986). Segundo Snaydon (1991), estudos de

competição utilizando arranjos experimentais do tipo séries aditivas possibilitam uma interpretação confiável dos resultados, pois a densidade de cada população é mantida constante tanto nas culturas puras como nas culturas misturadas, possibilitando a análise dos efeitos de competição tanto dos intra-componentes como também dos inter-componentes das espécies (ou populações de mesma espécie).

Segundo Ferrari & Georghiou (1981), tamanho residual da população após a aplicação do inseticida, a frequência gênica e as intensidades e frequências de aplicação do inseticida são exemplos de fatores que interferem na adaptabilidade e na expressão da resistência em populações de insetos. Logo, estudos de competição entre genótipos resistentes e susceptíveis, na ausência de inseticidas e em diferentes densidades e proporções iniciais de indivíduos, são importantes para que se disponha de capacidade preditiva para a ocorrência dos processos de estabilidade e evolução da resistência (Kence & Jdeidi, 1997).

Apesar do consumo de O₂ (ou alternativamente, a produção de CO₂) representar a soma das demandas energéticas necessárias aos processos fisiológicos dos insetos (Clarke, 1993), são poucos os estudos que utilizam a taxa respiratória média (consumo de O₂) para demonstrar a adaptabilidade do organismo (Marais & Chow, 2003). A maior síntese de enzimas detoxificadoras pode incorrer em uma maior taxa metabólica (consumo de O₂) em fenótipos resistentes, o que pode ocasionar em desbalanço nas trocas gasosas, propiciando desvantagens adaptativas por alterar outros importantes processos fisiológicos em insetos (Hostetler et al., 1994; Harak, et al., 1999, Chown & Gaston, 1999).

Populações de *S. zeamais* que apresentavam maior capacidade detoxificativa por glutathione-S-transferase (GST) e fosfotriesterase, além de insensibilidade de sítio de ação, como mecanismos de resistência a inseticidas, foram utilizadas em estudos de crescimento

populacional desenvolvidos por Fragoso *et al* (2005). Segundo estes autores, as populações de Jacarezinho (resistente) e Sete Lagoas (susceptível) apresentaram performances reprodutivas semelhantes, ao passo que; a performance de desenvolvimento apresentada pela população de Juiz de Fora (outra população resistente) ocorreu em taxas bem inferiores às das demais populações. Guedes *et al* (2005) observaram que indivíduos provenientes da população Jacarezinho apresentavam maiores valores de taxa respirométrica e de massa corpórea do que os apresentados pelas populações de Sete Lagoas e Juiz de Fora. Esta maior atividade respirométrica estaria propiciando aos indivíduos provenientes de Jacarezinho maior eficiência no acúmulo e mobilização de suas moléculas de reservas, o que lhes possibilitavam a produção dos seus aparatos de defesa contra inseticidas, sem que isto ocasionasse em prejuízo para a sua performance reprodutiva.

Portanto, estudos detalhados sobre habilidades competitivas e existência de custos adaptativos em populações de *S. zeamais* resistentes a inseticidas, na ausência destes compostos, contribuem para nortear ações que podem ser utilizadas em programas de manejo de resistência. Por estas razões, buscou-se, com a realização deste trabalho, aferir se populações de *S. zeamais* resistentes a piretróides são desfavorecidas adaptativamente, em relação a população susceptível, quando submetidas a competição na ausência de inseticidas.

MATERIAL E MÉTODOS

Populações de *S. zeamais*

Três populações de *Sitophilus zeamais* foram utilizadas neste estudo. A população padrão de susceptibilidade utilizada é proveniente do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (EMBRAPA Milho e Sorgo - CNPMS), localizado na cidade de Sete Lagoas-MG. Esta população é considerada como padrão de susceptibilidade a inseticidas piretróides e vem sendo mantida em condições de laboratório por aproximadamente vinte anos (Guedes et al. 1994, 1995, Ribeiro et al. 2003). A segunda população, coletada originalmente em unidades armazenadoras de sementes de milho em Jacarezinho (PR), no final da década de 80, é altamente resistente a piretróides e DDT, com sobrevivência de 100% sob concentrações discriminatórias (Guedes et al. 1994, 1995). A última população, coletada em moinho de grãos na cidade de Juiz de Fora (MG), no ano de 1999, é altamente resistente a piretróides (60 a 100% de sobrevivência sob concentrações discriminatórias) e também ao malatiom (Ribeiro et al. 2003, Fragoso et al. 2003).

As populações de Jacarezinho e de Juiz de Fora apresentam maior capacidade destoxificativa por glutathione-S-transferase e fosfotriesterase, além de insensibilidade de sítio de ação, como mecanismos de resistência a inseticidas (Guedes *et al* 1995, Ribeiro *et al.* 2003, Fragoso *et al.* 2003, 2005, Guedes *et al.* 2005). Contudo, a taxa respirométrica, bem como a massa corpórea apresentada pela população de Jacarezinho, são significativamente superiores às apresentadas pela população de Juiz de Fora (Guedes *et al.* 2005). Em estudos de crescimento populacional, sob condições ótimas de desenvolvimento, Fragoso *et al* (2005) constataram que as populações de Sete Lagoas e Jacarezinho apresentavam performance de desenvolvimento semelhantes; entretanto, a performance de

desenvolvimento apresentada pela população de Juiz de Fora foi inferior às das demais populações. Todas as populações foram criadas em grãos de milho isentos de inseticidas e mantidas em condições controladas de temperatura ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade ($70 \pm 5\%$).

Ensaio de competição

Foram realizados dois experimentos de competição nesse estudo. Em um dos experimentos, indivíduos provenientes das populações de Sete Lagoas (susceptível a piretróides) e de Jacarezinho (altamente resistente a piretróides) foram submetidas a condições de competição por três gerações consecutivas (aproximadamente dezoito semanas) na ausência de inseticidas. Cada população teve sua proporção variada em relação a proporção da outra em ambas densidades iniciais de insetos, o que constituiu duas séries aditivas para cada densidade, determinando um arranjo fatorial bivariado (Snaydon 1991). Quando uma população teve sua proporção variada em relação à da outra, ela foi então denominada de população variante. Para cada proporção de insetos, em ambas densidades, foram utilizadas três repetições. No segundo experimento, as condições experimentais são idênticas ao primeiro experimento, apenas com uma única diferença, que era a proveniência dos indivíduos resistentes. No segundo experimento foram utilizados indivíduos resistentes provenientes da população de Juiz de Fora.

Insetos adultos e não sexados foram acondicionados em jarros de vidro de 1,5 L de capacidade e que continham uma massa de grãos de milho (isenta de inseticidas) de 200 g. O delineamento experimental utilizado foi um fatorial bivariado com dois níveis de densidade e cinco proporções iniciais de insetos (baixa densidade = 50:0; 50:10; 50:20; 50:30 e 50:50 e alta densidade = 100:0; 100:20; 100:40; 100:60 e 100:100 insetos de cada população por frasco).

A cada geração (aproximadamente seis semanas), realizava-se a contagem do número total de insetos adultos existentes em cada jarro e, em seguida, duas amostras de 16 indivíduos por cada jarro foram retiradas para serem utilizadas nos bioensaios de diagnose da resistência a deltametrina e nos estudos de respirometria. A amostra que era submetida aos estudos de respirometria, tinha primeiramente mensurada a massa corpórea dos indivíduos.

Bioensaios diagnósticos da resistência

Inicialmente, estabeleceu-se a concentração discriminatória para deltametrina utilizando metodologia descrita por Ribeiro *et al.* (2003). Para a obtenção da CL₉₅, foram utilizados indivíduos provenientes da população padrão de susceptibilidade a piretróides. Após o período de competição, 16 insetos adultos e não sexados de cada frasco foram acondicionados em recipientes de vidro de 20 mL de capacidade e que tiveram toda a sua superfície interna previamente impregnada com resíduo seco de deltametrina na concentração discriminatória (CL₉₅ = 0,53 µg de i. a. /cm²). O tratamento testemunha foi constituído por recipientes impregnados somente por acetona (solvente usado para veiculação de deltametrina). O período de exposição dos insetos ao inseticida foi de 24 h e após este período, procedeu-se a contabilização da mortalidade.

Ensaio respirométrico

Ensaio de respirometria foram realizados em condições de laboratório utilizando-se um respirômetro do tipo CO₂ Analiser TR 2 (Sable System International, Las Vegas EUA), e metodologia adaptada de Daniel & Smith (1994) e Guedes *et al.* (2003). Para mensuração da taxa respiratória média (produção de CO₂) foram utilizados grupos de dezesseis insetos adultos e não sexados devidamente acondicionados em câmaras com capacidade

volumétrica de 25 mL conectadas a um sistema completamente fechado. As câmaras eram mantidas conectadas ao sistema por um período de 2,2 horas antes da mensuração da quantidade de CO₂ produzido pelos insetos. Para realizar a varredura de todo o CO₂ produzido no interior de cada câmara, fazia-se a passagem de ar isento de CO₂ a um fluxo de 600 mL. Min⁻¹ por um período de dois minutos. Essa corrente de ar arrastava todas as moléculas de CO₂ produzidas até um leitor de infravermelho acoplado ao sistema e que prontamente mensurava (em µmol/hora) o CO₂ produzido pelos insetos e contido no interior de cada câmara.

Análises estatísticas

Na determinação da concentração discriminatória (CL₉₅) de deltametrina foi utilizada análise de PROBIT utilizando o procedimento PROC PROBIT do SAS (SAS Institute, 1989). Os resultados obtidos nos ensaios de competição foram submetidos análise de covariância utilizando o procedimento PROC GLM (SAS Institute, 1989). A densidade inicial de insetos e a população cuja proporção foi variada (população variante), bem como a proporção inicial de indivíduos da população variante, foram utilizadas como variáveis independentes. Em seguida, foram estabelecidas análises de regressão simples complementares utilizando o programa Sigma Plot versão 6.0 (SPSS, 2000). Adicionalmente, utilizando-se do procedimento PROC CORR do SAS (SAS Institute, 1989), realizaram-se estudos de correlações entre as seguintes características: número total de insetos, mortalidade ocasionada por deltametrina, massa corpórea média individual e taxa respiratória média. Pressuposições de normalidade e homogeneidade de variância foram testadas utilizando o procedimento PROC UNIVARIATE (SAS institute, 1989). Transformações de dados foram requeridas para a característica de número total de insetos

em ambos os experimentos de competição entre indivíduos resistentes e susceptíveis a piretróides. Neste caso, foi utilizada a transformação $\log X$.

Com a finalidade de mensurar o efeito da proporção inicial de indivíduos resistentes e dos níveis de densidades iniciais ao longo do tempo, os resultados para as principais proporções iniciais de indivíduos resistentes foram submetidos à análise de variância por medidas repetidas no tempo. Este tipo de análise é recomendada por evitar o problema da pseudo-repetição no tempo (Hurlbert, 1984; Stewart-Oater et al., 1986; Green, 1993; Paine, 1996). Essas análises foram feitas usando o procedimento PROC ANOVA do SAS com a especificação PROFILE, como sugerido por von Ende (1993). Segundo von Ende (1993), é possível a análise de três hipóteses gerais para cada característica avaliada ao longo do tempo: paralelismo, horizontalidade e níveis. Para a análise do paralelismo, o que se observou foi a significância das interações que envolviam o tempo (tempo *vs* densidade, tempo *vs* proporção e tempo *vs* densidade *vs* proporção). Se as interações com o tempo não fossem significativas, as inclinações dos efeitos principais (proporção e densidade) seriam paralelas. A horizontalidade foi testada com base na significância do efeito do tempo, indicando se a característica testada era ou não influenciada pelo tempo. Já para a análise do efeito dos níveis principais (proporção e densidade), foram testados os efeitos individuais dos níveis. Contudo, se a interação tempo *vs* densidade *vs* proporção fosse significativa, as análises de horizontalidade e dos níveis principais tornar-se-iam irrelevantes.

RESULTADOS

Ensaio de competição entre susceptível vs Jacarezinho

A quantidade final de insetos em cada jarro, após o período de competição, não foi afetada pela procedência dos indivíduos utilizados na constituição das populações iniciais e nem pelos níveis de densidade inicial dos insetos. Entretanto, variações nas proporções iniciais dos indivíduos provenientes de uma população, em relação aos da outra, foram suficientes para ocasionar variações significativas no tamanho da população após o período de competição (por três gerações e na ausência de inseticidas) (Tabela 1).

Já quando se utilizou a análise de variância multivariada com medidas repetidas no tempo, o que se evidencia é que a quantidade final de indivíduos da população resultante é significativamente influenciada (na amostra) pelas interações entre tempo vs proporção inicial e tempo vs densidade inicial de insetos, além do tempo isoladamente (Tabela 2, Figura 1). Quando se procedeu a análise do efeito dos níveis, ainda pôde-se constatar que tanto a proporção como a densidade inicial de insetos são capazes de interferir significativamente no tamanho da população resultante, mas a interação entre estas fontes não foram significativas (Tabela 2, Figura 1). Quando se compara o efeito de desenvolvimento reprodutivo ao longo do tempo, a população de Jacarezinho apresenta performance significativamente superior (Figura 1).

Tabela 1. Análises de covariância para o número total de insetos, mortalidade ocasionada por deltametrina (%), massa corpórea (mg), taxa respirométrica (nmol de CO₂/inseto/hora) em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição (por três gerações consecutivas) entre indivíduos provenientes da população de Jacarezinho (resistentes) e susceptíveis a piretróides.

Fontes de variação	gl	Nº total de insetos		Mortalidade por deltametrina (%)		Massa corpórea (mg)		Produção de CO ₂ (nmol/inseto/hora)	
		F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Modelo	7	3,52	0,004*	17,09	< 0,001*	6,62	< 0,001*	1,22	0,30
Erro	52	-	-	-	-	-	-	-	-
População variante (PV)	1	2,26	0,14	98,64	< 0,001*	41,96	< 0,001*	5,46	0,02
Densidade (D)	1	1,34	0,25	0,69	0,41	0,06	0,80	0,02	0,95
Proporção (P)	1	5,12	0,03*	0,06	0,80	0,12	0,73	1,07	0,30
PV x P	1	1,37	0,25	36,78	< 0,001*	18,97	< 0,001*	5,83	0,02
PV x D	1	2,75	0,10	0,90	0,35	0,10	0,75	0,18	0,67
P x D	1	0,97	0,33	1,99	0,16	0,17	0,68	0,14	0,70
PV x D x P	1	3,00	0,09	0,62	0,43	0,03	0,86	0,01	0,98

* significativo a 5 % de probabilidade

Tabela 2. Análise de variância multivariada com medidas repetidas no tempo para o número total de insetos e taxa respirométrica (nmol de CO₂/inseto/dia), em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos resistentes (provenientes da população de Jacarezinho) e susceptíveis a piretróides.

		Nº total de indivíduos				
Fontes de Variação		Gl	F	<i>p</i>		
<i>Entre amostras</i>						
Proporção (P)		2	6,61	0,01*		
Densidade (D)		1	9,14	0,01*		
P x D		2	1,15	0,18		
Erro		12	-	-		
Fontes de Variação	Wilks-Lambda	F	gl denominador	gl numerador	<i>p</i>	
<i>Na amostra</i>						
Tempo (T)		0,0214	251,79	2	11	<0,0001*
T x P		0,3039	4,47	4	22	<0,001*
T x D		0,4017	8,19	2	11	<0,001*
Tx D x P		0,5035	2,25	4	22	0,09
		Taxa respirométrica (nmol/inseto/hora)				
Fontes de Variação		Gl	F	<i>p</i>		
<i>Entre amostras</i>						
Proporção (P)		2	1,77	0,21		
Densidade (D)		1	2,59	0,13		
P x D		2	0,11	0,89		
Erro		12	-	-		
Fontes de Variação	Wilks-Lambda	F	gl denominador	gl numerador	<i>p</i>	
<i>Na amostra</i>						
Tempo (T)		0,1214	39,79	2	11	<0,0001*
T x P		0,4932	2,33	4	22	0,08
T x D		0,9091	0,54	2	11	0,59
Tx D x P		0,8827	0,35	4	22	0,83

* significativo a 5 % de probabilidade

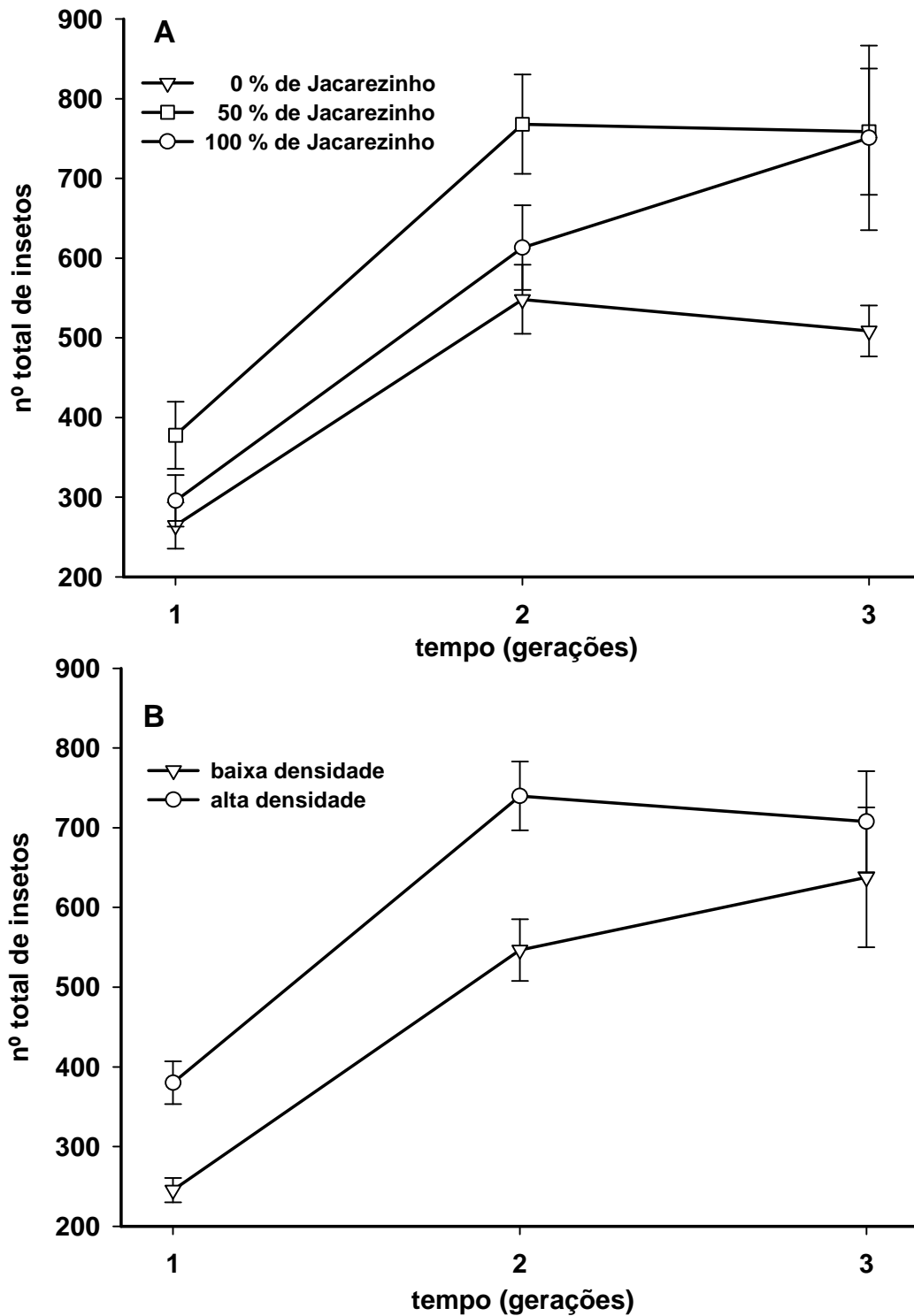


Figura 1. Variações no número total de insetos em populações de *Sitophilus zeamais* em função da proporção inicial de indivíduos provenientes de Jacarezinho (A) e da densidade inicial de *S. zeamais* (B). Em (A) cada ponto representa a média \pm erro padrão de seis repetições, enquanto que em (B), cada ponto representa a média \pm erro padrão de nove repetições.

Os resultados de mortalidade proporcionadas por exposição a deltametrina e de massa corpórea média individual revelam os efeitos tanto da população variante quanto de sua interação com as proporções iniciais de insetos (Tabela 1). Em ambas as densidades iniciais de insetos, ocorre uma redução significativa na percentagem de mortalidade proporcionada por exposição a deltametrina na medida em que ocorre aumentos na proporção inicial da população resistente. Já quando ocorreu variação na proporção inicial de indivíduos da população susceptível em relação a resistente, somente pôde-se constatar variações significativas na percentagem média de mortalidade em condições de baixa densidade inicial de insetos (Figura 2). Porém, a inexistência de significância do efeito da densidade inicial de insetos (Tabela 1), indica que as populações variantes proporcionaram incrementos similares na mortalidade ocasionada por deltametrina em ambas condições de densidade.

A percentagem média de mortalidade ocasionada por deltametrina nas populações em competição, não foi influenciada pelo fator tempo (e de suas interações com densidade e proporções iniciais de insetos) (Tabela 3), o que sinaliza que as proporções de indivíduos resistentes e susceptíveis encontradas após o período de competição, já se encontravam em níveis semelhantes, a partir da primeira descendência dos indivíduos que constituíram as populações iniciais (Figura 3). Na verdade, desde a primeira geração, o fator proporção inicial de insetos já propiciava modificações significativas na mortalidade ocasionada por deltametrina.

A população de Jacarezinho, quando utilizada como população variante, proporcionou aumentos significativos na massa corpórea média individual das populações resultantes, em ambos os níveis de densidade inicial de insetos (Tabela 1, Figura 4).

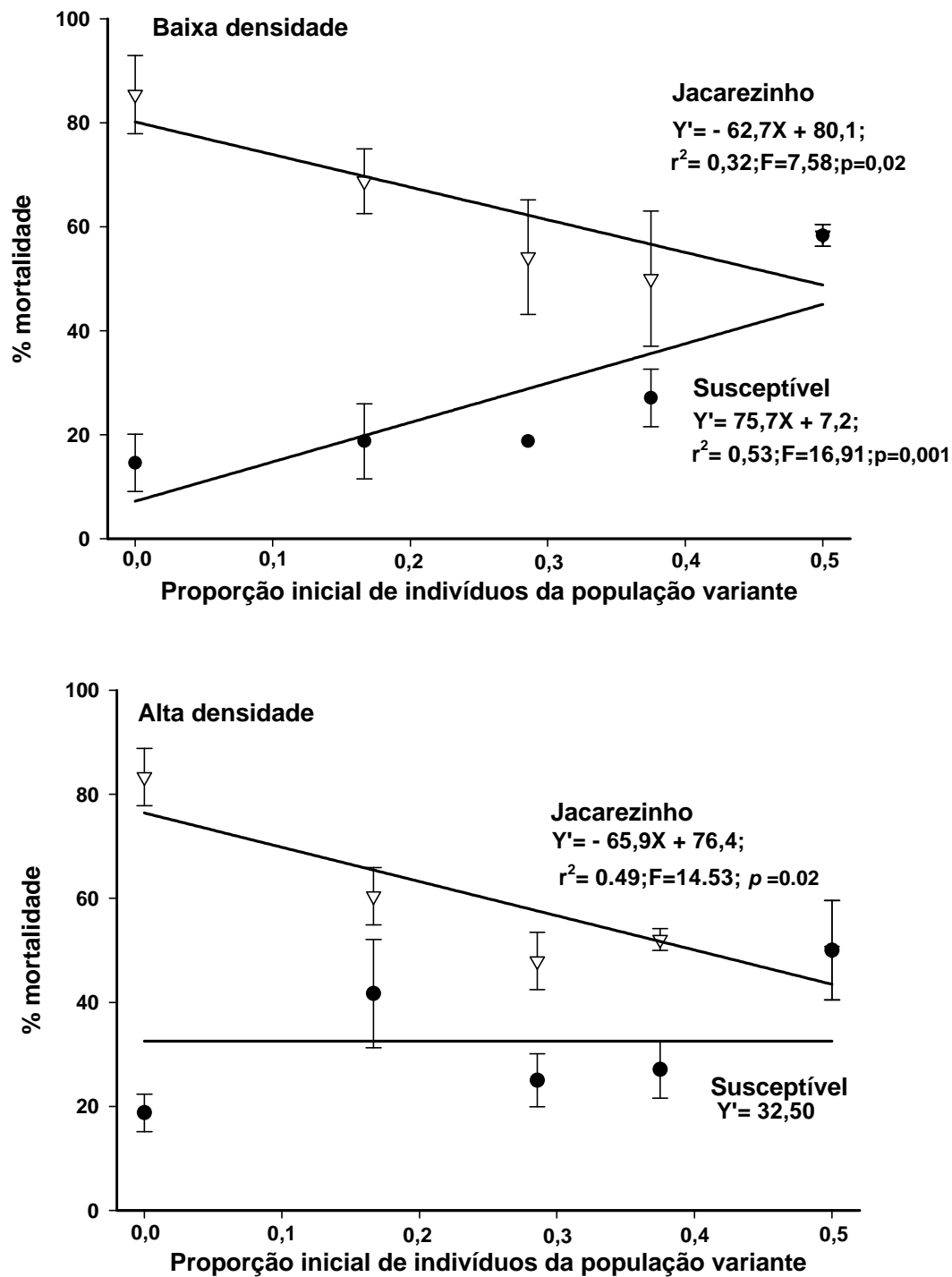


Figura 2. Percentagem de mortalidade proporcionada pela CL₉₅ em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos provenientes da população de Jacarezinho (resistentes) e susceptíveis a piretróides. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições. A população indicada em cada curva é a que teve sua proporção variada.

Tabela 3. Análise de variância multivariada com medidas repetidas no tempo para mortalidade ocasionada por deltametrina(%) e massa corpórea (mg), em populações *Sitophilus zeamais*; resultantes da competição entre indivíduos resistentes (provenientes da população de Jacarezinho) e susceptíveis a piretróides.

Mortalidade ocasionada por deltametrina (%)						
Fontes de Variação		Gl	F	p		
<i>Entre amostras</i>						
Proporção (P)		2	185,37	<0,0001*		
Densidade (D)		1	4,11	0,06		
P x D		2	0,24	0,79		
Erro		12	-	-		
Fontes de Variação	Wilks-Lambda	F	gl denominador	gl numerador	P	
<i>Na amostra</i>						
Tempo (T)		0,7850	1,50	2	11	0,27
T x P		0,6511	1,32	4	22	0,29
T x D		0,9404	0,35	2	11	0,71
Tx D x P		0,8156	0,59	4	22	0,67

Massa corpórea						
Fontes de Variação		Gl	F	P		
<i>Entre amostras</i>						
Proporção (P)		2	6,61	0,01*		
Densidade (D)		1	9,14	0,01*		
P x D		2	1,15	0,18		
Erro		12	-	-		
Fontes de Variação	Wilks-Lambda	F	gl denominador	gl numerador	p	
<i>Na amostra</i>						
Tempo (T)		0,9153	0,50	2	11	0,61
T x P		0,9346	0,19	4	22	0,94
T x D		0,9274	0,43	2	11	0,66
Tx D x P		0,8515	0,49	4	22	0,76

* significativo a 5 % de probabilidade

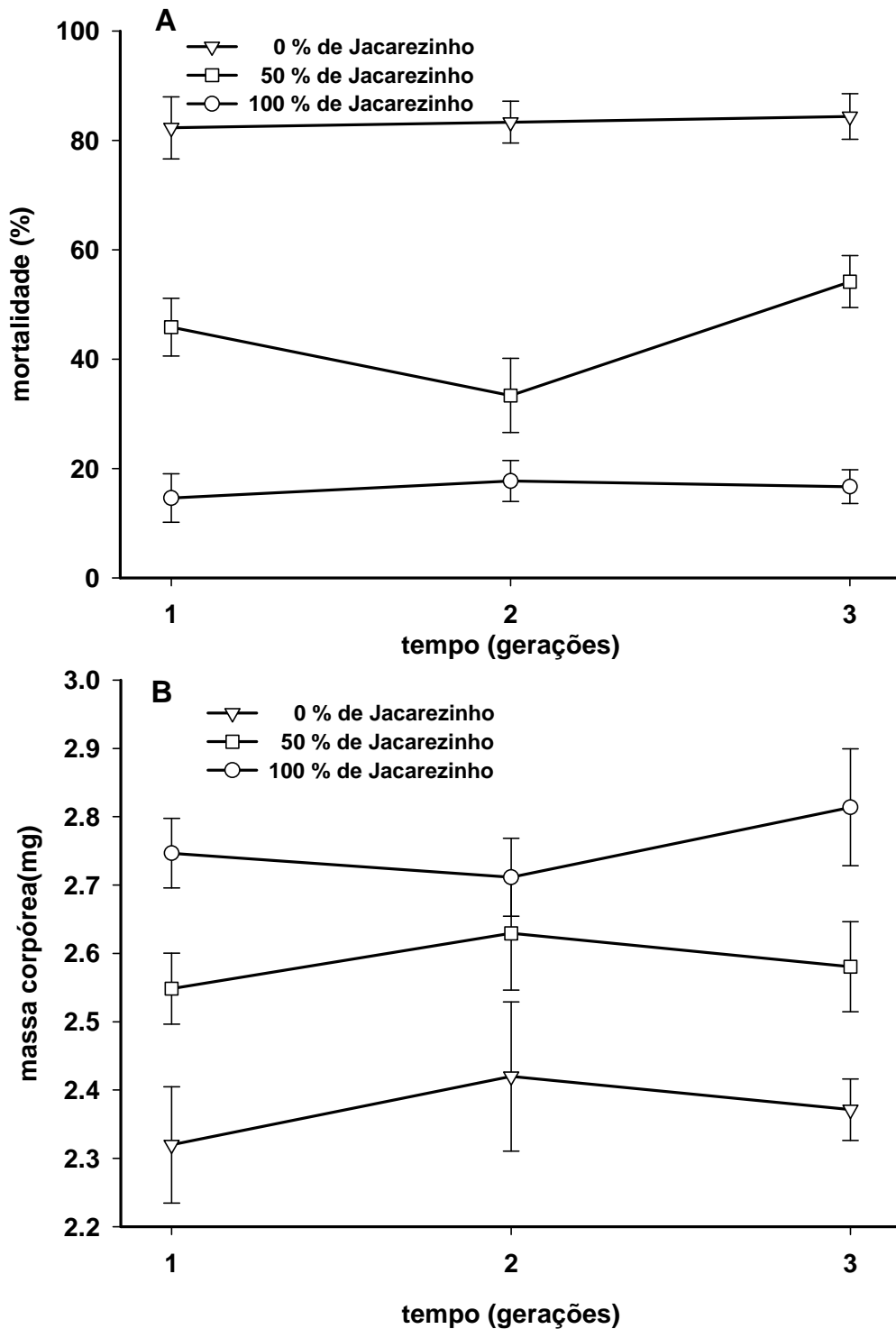


Figura 3. (A) Variações na percentagem de mortalidade ocasionada por deltametrina em populações de *Sitophilus zeamais* em função da proporção inicial de indivíduos provenientes população de Jacarezinho. (B) Variações na massa corpórea média em populações de *S. zeamais* em função da proporção inicial de indivíduos provenientes população de Jacarezinho. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições.

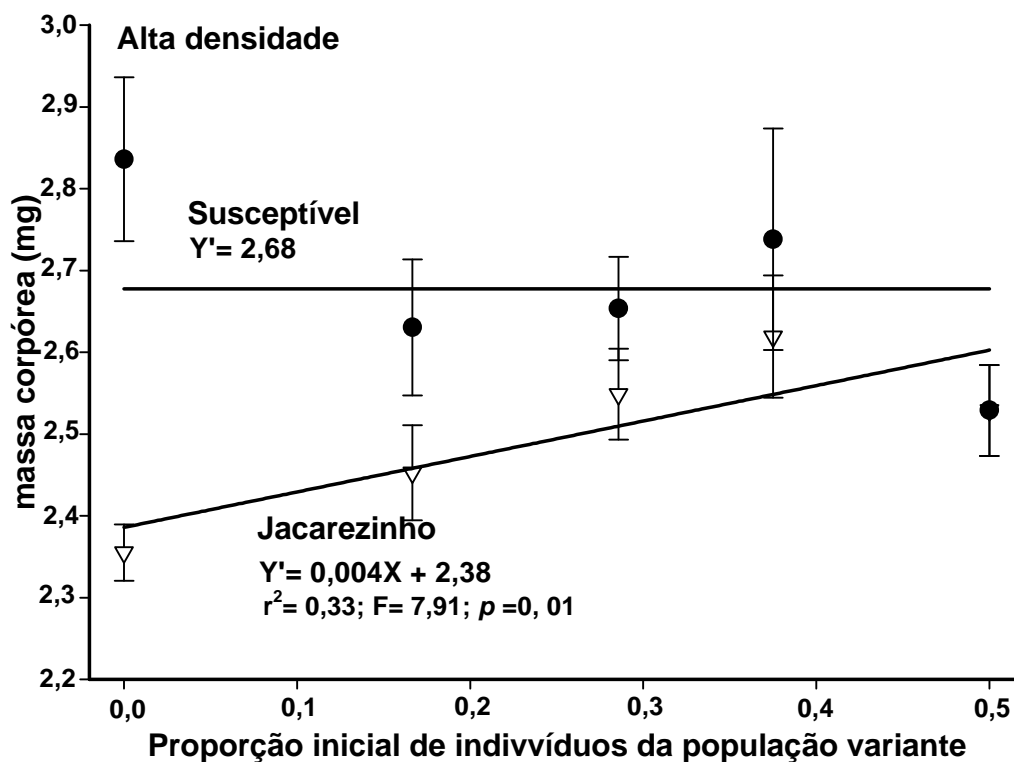
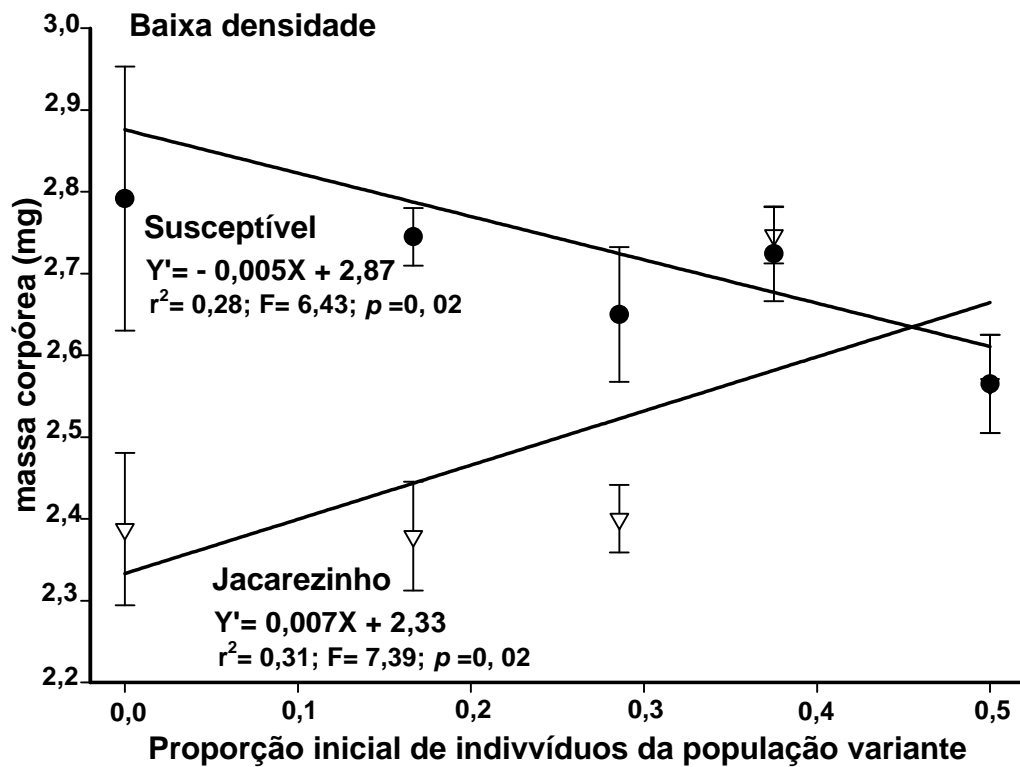


Figura 4. Massa corpórea individual em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos provenientes da população de Jacarezinho (resistentes) e susceptíveis a piretróides. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições. A população indicada em cada curva é a que teve sua proporção variada.

Contudo, o efeito da variação da proporção inicial de indivíduos susceptíveis, só pode ser observado na condição de baixa densidade inicial de insetos, fato este que se assemelha ao ocorrido para mortalidade ocasionada por deltametrina. Na condição de baixa densidade inicial de insetos, incrementos na proporção inicial de indivíduos susceptíveis incorre em diminuição significativa da massa corpórea média individual das gerações seguintes. Este fato é comprovado quando observamos os efeitos dos níveis isolados (entre amostras) ao longo do tempo (Tabela 3). Além disto, ainda fica evidenciado o efeito da proporção inicial de insetos nos valores de massa corpórea individual média das populações resultantes (Figura 3). A avaliação do fator tempo (e suas interações), também demonstra que os resultados obtidos para os níveis de massa corpórea individual média, encontrados após o período de competição, também já são expressos na primeira descendência das populações iniciais (Tabela 3). Análises de correlação, revelou ainda uma robusta correlação negativa entre a mortalidade causada por deltametrina com a massa corpórea média da população resultante, bem como (Tabela 4).

Não se constatou qualquer variação significativa na quantidade média de CO₂ produzida pelas populações resultantes, mesmo promovendo-se variações na quantidade e proporção iniciais de indivíduos resistentes em relação aos susceptíveis a piretróides (Tabela 1, Figura 5). Esta característica também não foi influenciada pela proporção e densidade iniciais de indivíduos resistentes ao longo do tempo, apesar do tempo ter propiciado elevação na quantidade de CO₂ produzida pelas populações ao longo das gerações (Tabela 2, Figura 6).

Tabela 4. Correlações entre total de insetos, mortalidade ocasionada por deltametrina (%), massa corpórea individual (mg) e produção de CO₂ (nmol CO₂/inseto/h), de populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos provenientes da população de Jacarezinho (resistentes) e susceptíveis a piretróides (n = 52).

Correlações	Total de insetos adultos		Mortalidade por deltametrina (%)		Produção de CO ₂ (nmol CO ₂ /inseto/h)	
	r	p	R	P	r	p
Mortalidade por deltametrina (%)	- 0,20	0,11	-	-	-	-
Produção de CO ₂ (nmol CO ₂ /inseto/h)	- 0,14	0,28	- 0,22	0,08	-	-
Massa corpórea (mg)	0,09	0,45	- 0,68	<0,001*	0,26	0,05*

* significativo a 5% de probabilidade

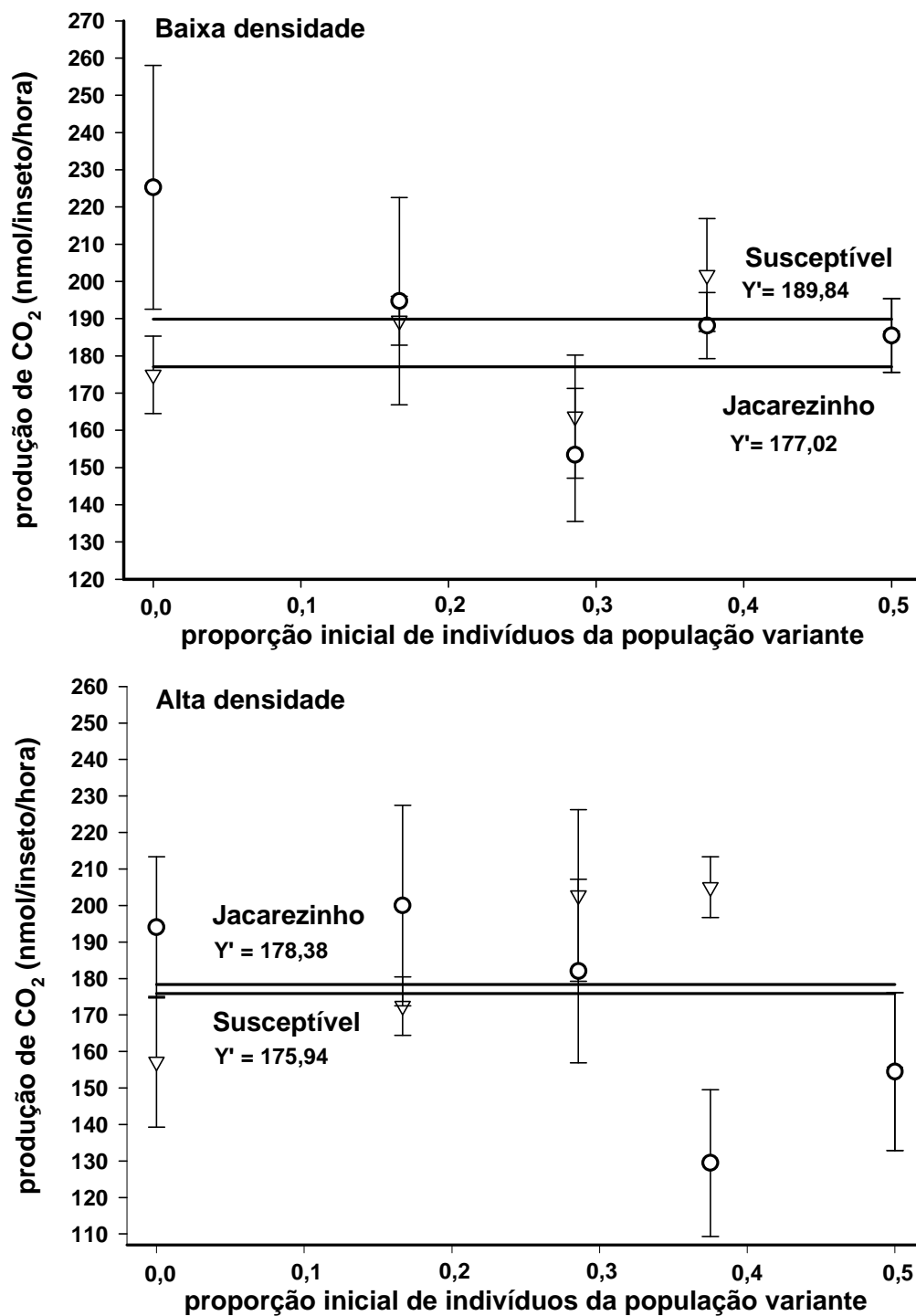


Figura 5. Taxa respirométrica média (produção de CO₂) em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos provenientes da população de Jacarezinho (resistentes) e susceptíveis a piretróides. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições. A população indicada em cada curva é a que teve sua proporção variada.

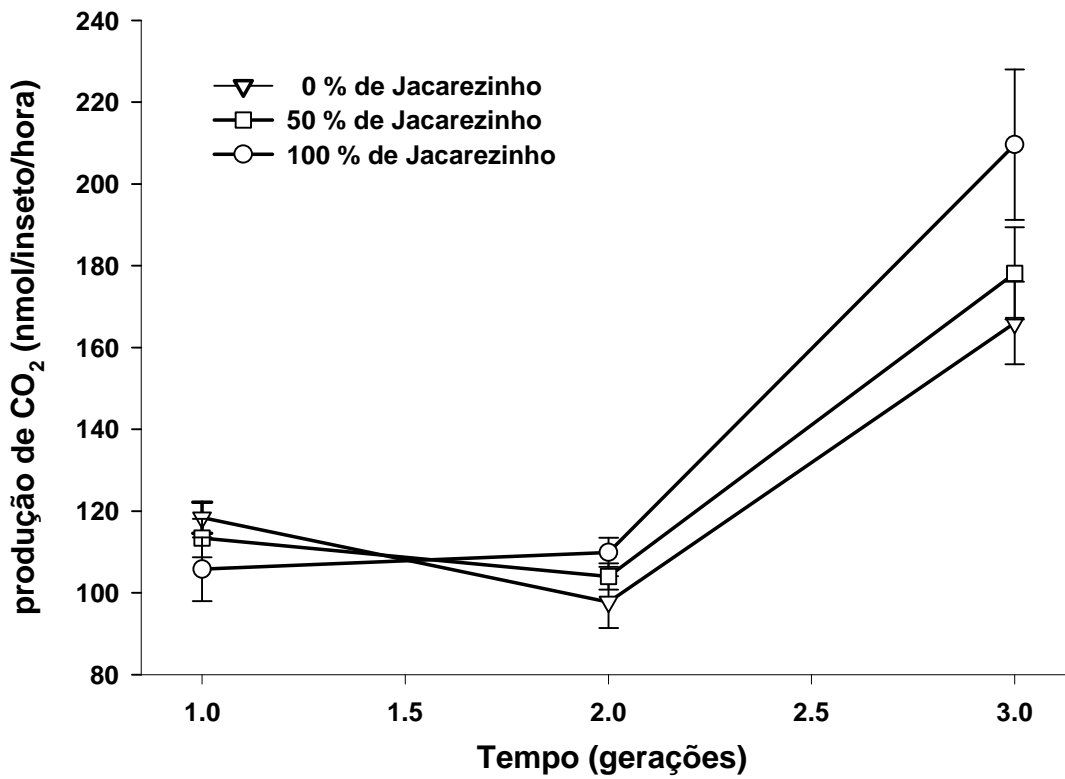


Figura 6. Variações na taxa respiratória média em populações de *Sitophilus zeamais* em função da proporção inicial de indivíduos provenientes população de Jacarezinho. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições.

Entretanto, a constatação de correlação positiva (embora que marginal) entre a massa corpórea média e a taxa respirométrica média apresentadas pelas populações resultantes da competição, indica que indivíduos da população de Jacarezinho proporcionaram performances de desenvolvimento semelhantes aos indivíduos susceptíveis (Tabela 4., Figura 6).

Ensaio de competição entre Juiz de Fora vs susceptível

O número total de insetos nas populações resultantes da competição entre indivíduos resistentes (provenientes da população de Juiz de Fora) e susceptíveis a piretróides variou significativamente em função da interação entre população variante e sua proporção (Tabela 5). Variações na quantidade inicial de insetos da população variante não incorreu em qualquer efeito na quantidade final de indivíduos nas populações resultantes em condições de baixa densidade inicial, independentemente da população utilizada como população variante (Figura 7). Já para a condição de alta densidade inicial de insetos, somente a população susceptível, quando utilizada como população variante, foi capaz de proporcionar variações significativas no número total de indivíduos das populações resultantes.

Tabela 5. Análises de covariância para o número total de insetos, mortalidade ocasionada por deltametrina (%), massa corpórea (mg), taxa respirométrica (nmol de CO₂/inseto/hora) em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição (por três gerações consecutivas) entre indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora (resistentes) e susceptíveis a piretróides.

Fontes de variação	gl	Nº total de insetos		Mortalidade por deltametrina (%)		Massa corpórea (mg)		Produção de CO ₂ (nmol/inseto/hora)	
		F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Modelo	7	2,96	0,01*	11,57	< 0,001*	4,52	< 0,001*	0,44	0,87
Erro	52	-	-	-	-	-	-	-	-
População variante (PV)	1	7,74	0,007*	57,83	< 0,001*	21,93	< 0,001*	0,01	0,95
Densidade (D)	1	2,29	0,08	0,02	0,89	0,12	0,73	0,32	0,57
Proporção (P)	1	5,71	0,02*	14,04	< 0,001*	7,49	0,008*	0,04	0,84
PV x P	1	4,64	0,04*	25,34	< 0,001*	11,14	< 0,001*	0,13	0,72
PV x D	1	0,90	0,90	0,29	0,59	0,36	0,54	0,29	0,59
P x D	1	5,91	0,02	0,04	0,84	0,36	0,54	1,08	0,30
PV x D x P	1	0,61	0,43	0,18	0,67	0,07	0,79	0,36	0,55

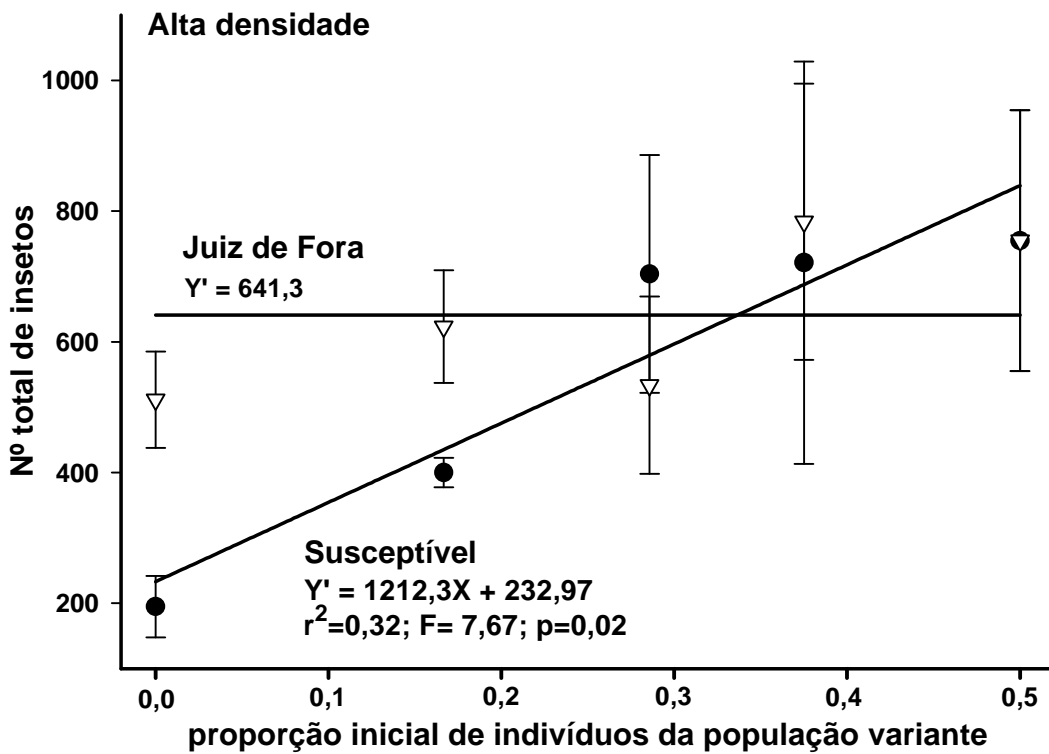
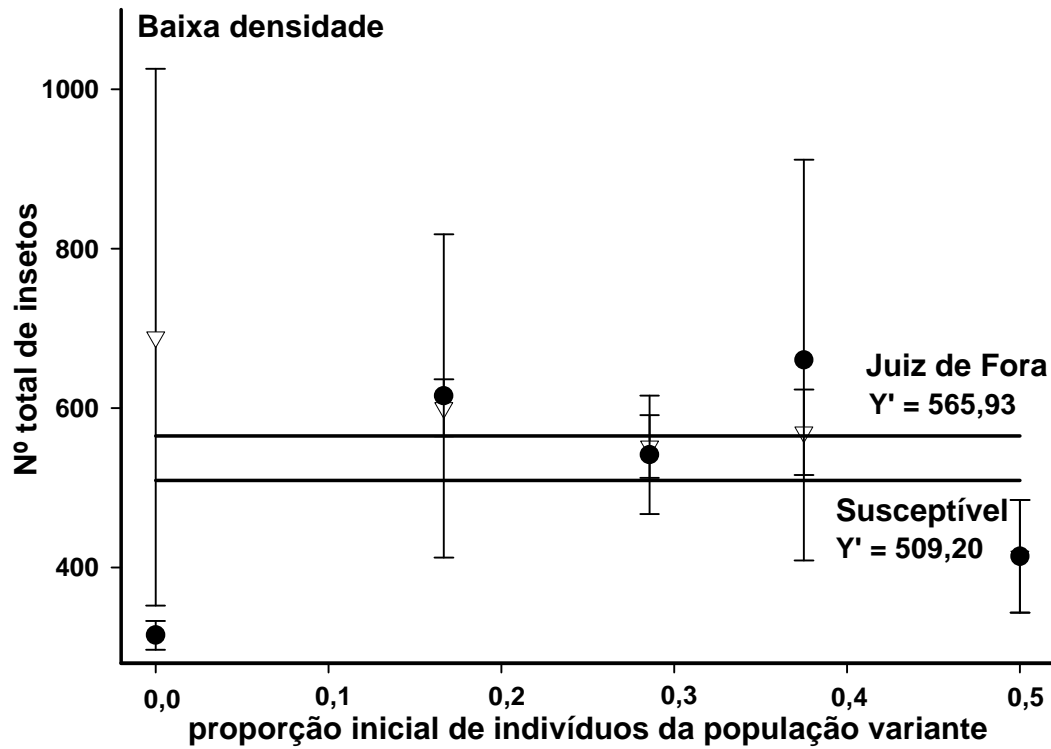


Figura 7. Número total de indivíduos vivos em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora (resistentes) e susceptíveis a piretróides. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições. A população indicada em cada curva é a que teve sua proporção variada.

A constatação do efeito isolado da proporção inicial de insetos e da população variante, como também das interações entre a população variante e densidade inicial de insetos, além de proporção inicial de insetos com a e densidade inicial de insetos (Tabela 5, Figura 7), evidencia que os indivíduos susceptíveis obtiveram taxas de sucesso adaptativo superiores aos indivíduos resistentes, uma vez que na condição de alta densidade inicial de insetos, o aumento da proporção de indivíduos susceptíveis resultou em incrementos significativos na quantidade final de insetos na população resultante. A existência de correlação positiva entre o número total de insetos com a mortalidade ocasionada por deltametrina (Tabela 6), indica uma elevação na quantidade de indivíduos susceptíveis na medida em que se aumenta o tamanho da população resultante.

A análise de variância multivariada com medidas repetidas no tempo vem reforçar a hipótese de que os indivíduos susceptíveis possuem uma performance de desenvolvimento superior aos indivíduos provenientes de Juiz de Fora (Tabela 7). Com base nesta análise, tanto o fator tempo como a interação tempo vs proporção inicial de indivíduos são capazes de modificar significativamente (na amostra) a quantidade final de indivíduos das populações resultantes. A análise dos níveis isolados ainda confirma a influência (entre amostras) da proporção inicial de indivíduos para a constituição das populações resultantes (Tabela 7, Figura 8).

A percentagem de mortalidade ocasionada por deltametrina na população resultante da competição, aumenta significativamente com o aumento da proporção inicial de indivíduos susceptíveis em ambos os níveis de densidade inicial de insetos (Tabela 5, Figura 9). Já quando utilizou-se a população de Juiz de Fora como população variante, não

Tabela 6. Correlações entre total de insetos, mortalidade ocasionada por deltametrina (%), massa corpórea de insetos adultos (mg) e produção de CO₂ (nmol CO₂/inseto/h), de populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora (resistentes) e susceptíveis a piretróides. (n = 52)

Correlações	Total de insetos adultos		Mortalidade por deltametrina (%)		Produção de CO ₂ (nmol CO ₂ /inseto/h)	
	r	p	r	P	r	p
Mortalidade por deltametrina (%)	0,27	0,03*	-	-	-	-
Produção de CO ₂ (nmol CO ₂ /inseto/h)	0,08	0,54	0,06	0,61	-	-
Massa corpórea (mg)	0,03	0,80	0,34	<0,01*	0,07	0,60

* significativo a 5% de probabilidade

Tabela 7. Análise de variância multivariada com medidas repetidas no tempo para o número total de insetos e taxa respirométrica (nmol de CO₂/inseto/dia), em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos resistentes (provenientes da população de Juiz de Fora) e susceptíveis a piretróides.

		Nº total de indivíduos			
Fontes de Variação		Gl	F	<i>p</i>	
<i>Entre amostras</i>					
Proporção (P)		2	8,87	0,004*	
Densidade (D)		1	1,82	0,20	
P x D		2	3,75	0,05	
Erro		12	-	-	
Fontes de Variação	Wilks-Lambda	F	gl denominador	gl numerador	<i>p</i>
<i>Na amostra</i>					
Tempo (T)	0,1240	38,82	2	11	< 0,0001*
T x P	0,3997	3,20	4	22	0,03*
T x D	0,8153	1,64	2	11	0,32
Tx D x P	0,5984	2,61	4	22	0,20

		Taxa respirométrica (nmol/inseto/hora)			
Fontes de Variação		Gl	F	<i>p</i>	
<i>Entre amostras</i>					
Proporção (P)		2	1,54	0,25	
Densidade (D)		1	1,12	0,31	
P x D		2	0,77	0,48	
Erro		12	-	-	
Fontes de Variação	Wilks-Lambda	F	gl denominador	gl numerador	<i>p</i>
<i>Na amostra</i>					
Tempo (T)	0,1259	38,16	2	11	< 0,0001*
T x P	0,7528	0,83	4	22	0,51
T x D	0,9370	0,36	2	11	0,69
Tx D x P	0,8471	0,47	4	22	0,75

* significativo a 5% de probabilidade

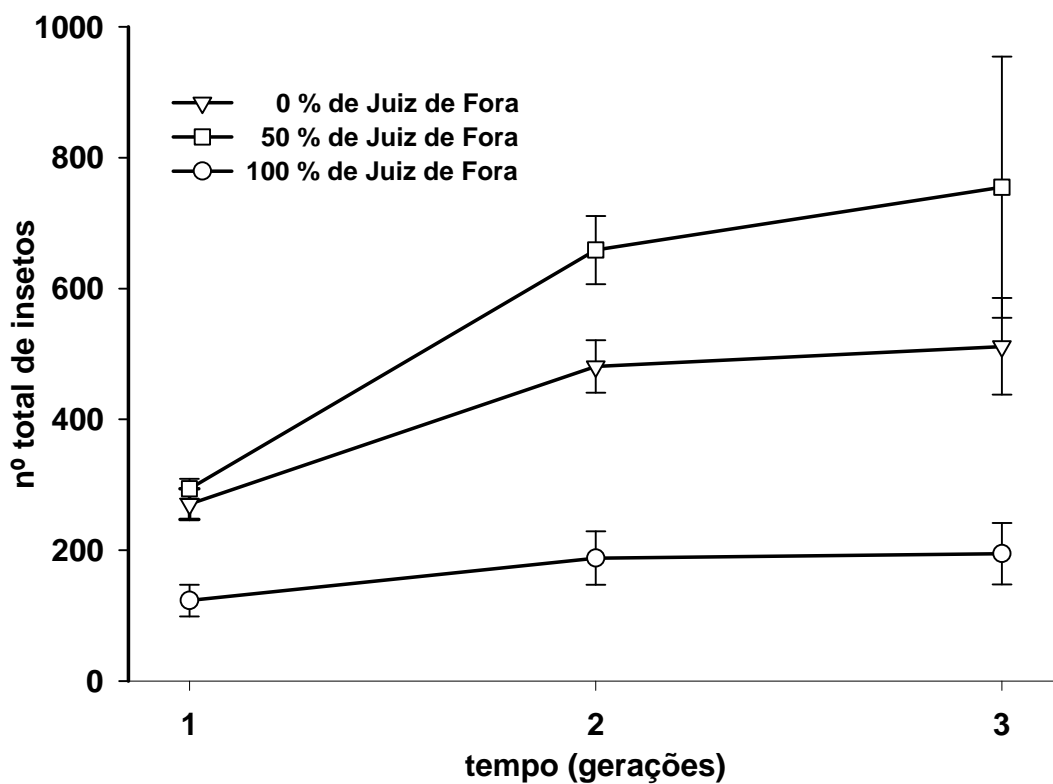


Figura 8. Variações no número total de insetos em populações de *Sitophilus zeamais* em função da proporção inicial de indivíduos provenientes população de Juiz de Fora. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições.

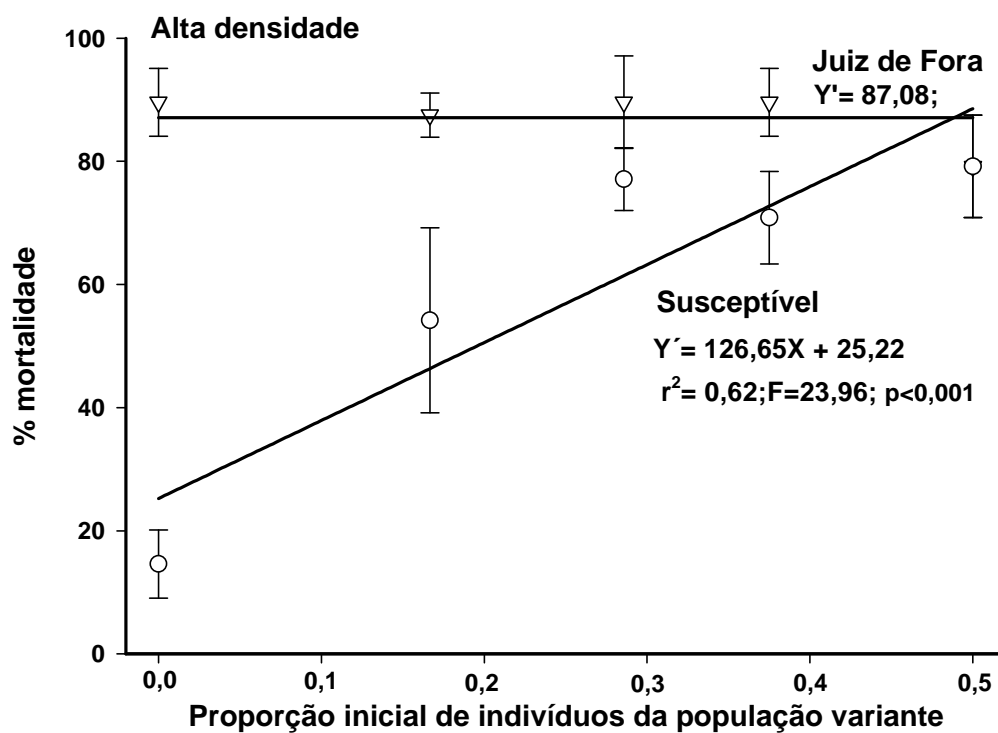
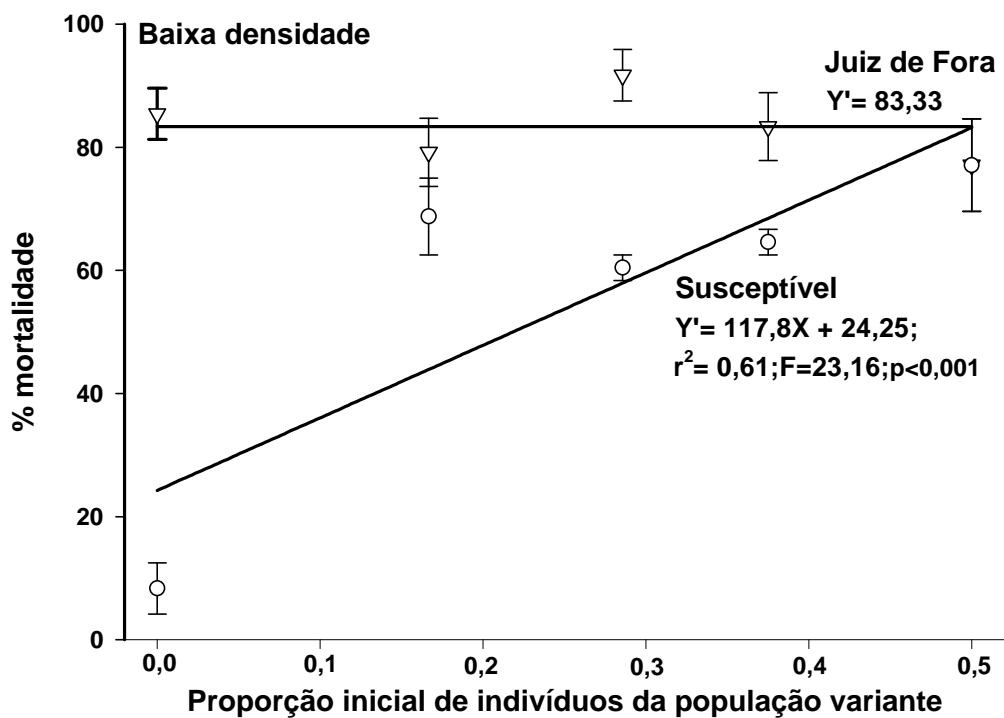


Figura 9. Percentagem de mortalidade proporcionada pela CL_{95} em populações de *S. zeamais* resultantes da competição entre indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora (resistentes) e susceptíveis a piretróides. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições. A população indicada em cada curva é a que teve sua proporção variada.

se constatou nenhuma variação significativa na percentagem de mortalidade ocasionada por deltametrina em ambos os níveis de densidade inicial de insetos (Figura 9). Entretanto, a inexistência do efeito da densidade inicial de insetos ao longo do tempo (Tabela 8, Figura 10) evidencia a similaridade entre as taxas de desenvolvimento proporcionadas pela população susceptível (quando utilizada como população variante) para os níveis de alta e baixa densidade inicial de insetos. Incrementos na quantidade inicial de insetos susceptíveis promove aumentos significativos na mortalidade ocasionada por deltametrina já na primeira descendência das populações iniciais, e estas diferenças se mantêm em taxas similares ao longo do tempo (Figura 10).

Para a característica de massa corpórea média individual, o que se constatou é que o aumento na quantidade inicial de indivíduos susceptíveis incorre em incrementos significativos na massa corpórea média individual da geração resultante, independentemente do nível de densidade inicial de insetos (Tabela 5, Figura 11). Em contraste, não se constata qualquer variação significativa nesta característica quando se proporcionou variações nas proporções iniciais de indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora (Tabela 5, Figura 11). Porém, o efeito da população susceptível como população variante, novamente não difere em termos de níveis de densidade inicial de insetos, uma vez que utilizando-se da análise de variância multivariada com medidas repetidas no tempo, não se evidenciou o efeito da densidade inicial de insetos (Tabela 8, Figura 10). O fato da mortalidade ocasionada por deltametrina apresentar correlação positiva com a característica de massa corpórea (Tabela 6), reforça ainda mais a hipótese de que os fenótipos susceptíveis estariam dando maiores contribuições para a constituição das populações resultantes.

Tabela 8. Análise de variância multivariada com medidas repetidas no tempo para mortalidade ocasionada por deltametrina(%) e massa corpórea (mg), em populações de *Sitophilus zeamais*; resultantes da competição entre indivíduos resistentes (provenientes da população de Juiz de Fora) e susceptíveis a piretróides.

Mortalidade ocasionada por deltametrina (%)					
Fontes de Variação		Gl	F	<i>p</i>	
<i>Entre amostras</i>					
Proporção (P)		2	162,49	<0,0001	
Densidade (D)		1	0,48	0,50	
P x D		2	0,67	0,53	
Erro		12	-	-	
Fontes de Variação	Wilks-Lambda	F	gl denominador	gl numerador	<i>p</i>
<i>Na amostra</i>					
Tempo (T)	0,4422	6,93	2	11	0,01*
T x P	0,6257	1,45	4	22	0,25
T x D	0,7322	2,01	2	11	0,18
Tx D x P	0,8855	0,34	4	22	0,84

Massa corpórea (mg)					
Fontes de Variação		gl	F	<i>p</i>	
<i>Entre amostras</i>					
Proporção (P)		2	36,64	<0,0001*	
Densidade (D)		1	0,13	0,72	
P x D		2	0,25	0,78	
Erro		12	-	-	
Fontes de Variação	Wilks-Lambda	F	gl denominador	gl numerador	<i>p</i>
<i>Na amostra</i>					
Tempo (T)	0,3645	9,59	2	11	0,004*
T x P	0,6527	1,28	4	22	0,25
T x D	0,9254	0,46	2	11	0,18
Tx D x P	0,6750	1,19	4	22	0,84

*significativo a 5% de probabilidade

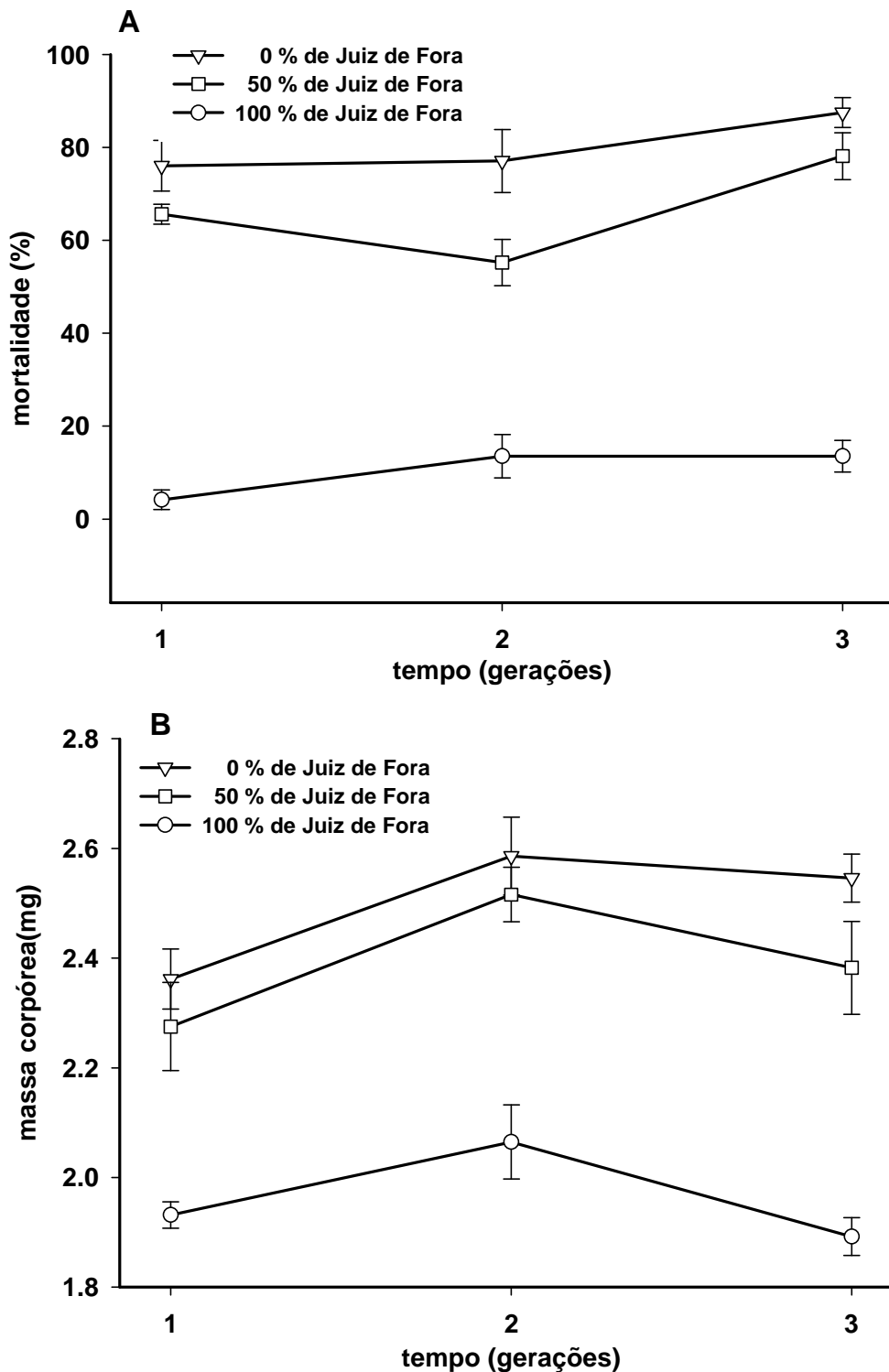


Figura 10. (A) Variações na massa corpórea média em populações de *Sitophilus zeamais* em função da proporção inicial de indivíduos provenientes população de Juiz de Fora. (B) Variações na percentagem de mortalidade ocasionada por deltametrina em populações de *S. zeamais* em função da proporção inicial de indivíduos provenientes população de Juiz de Fora. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições.

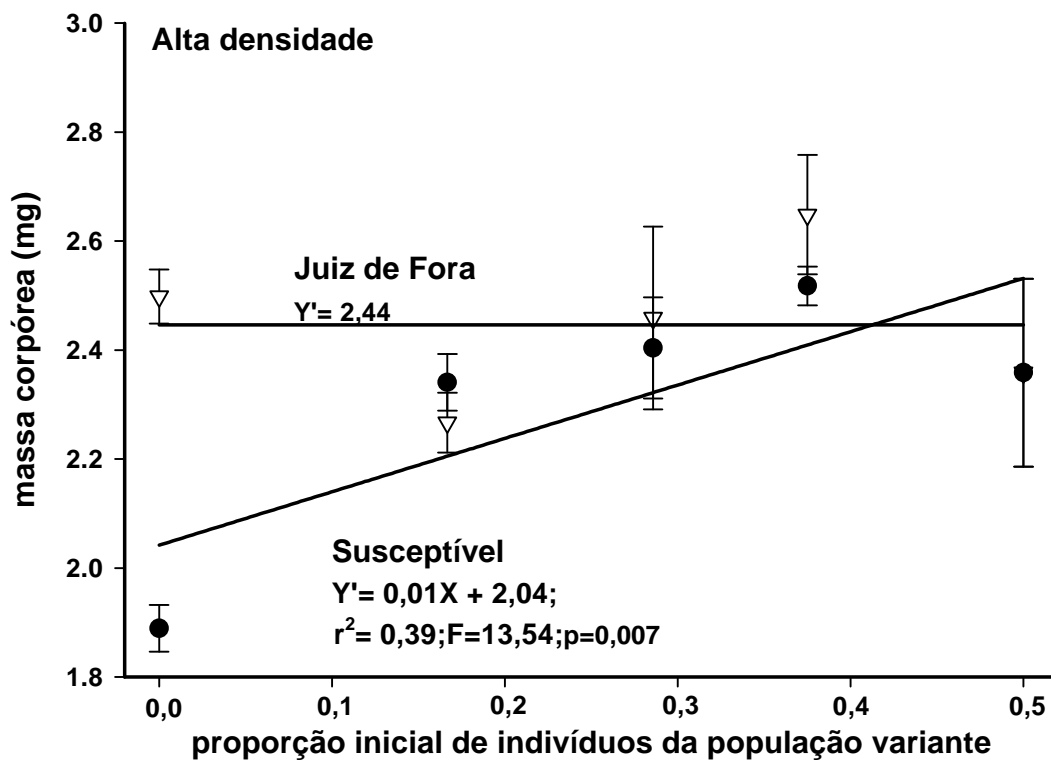
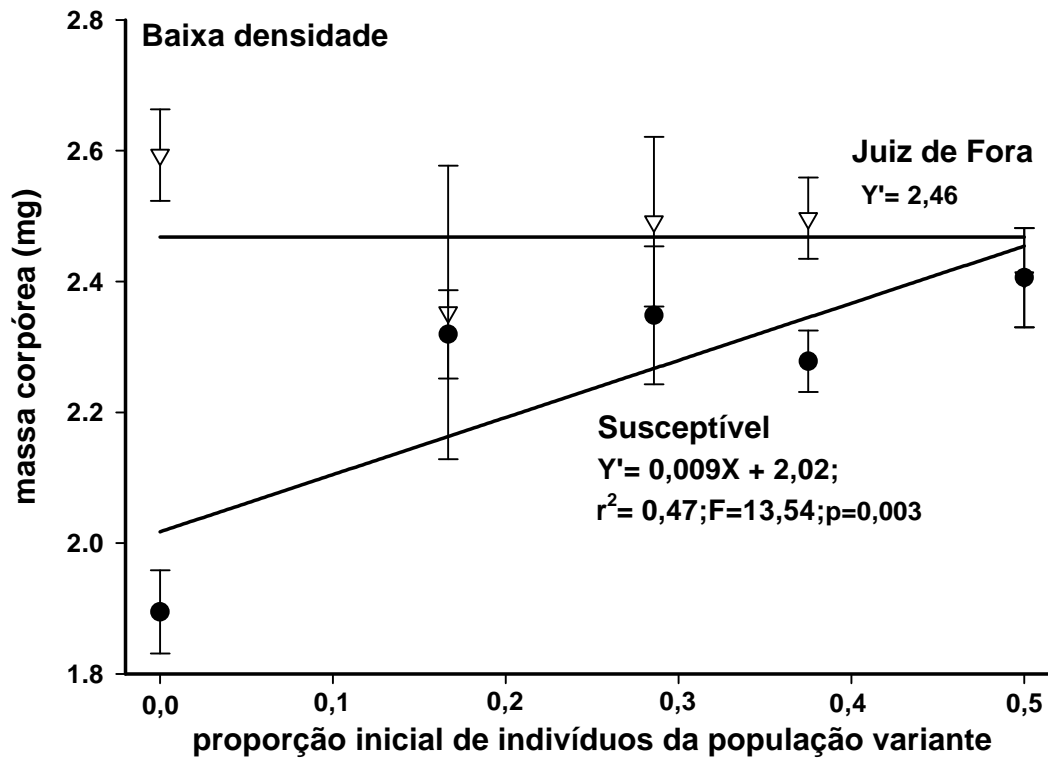


Figura 11. Massa corpórea individual em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora (resistentes) e susceptíveis a piretróides. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições. A população indicada em cada curva é a que teve sua proporção variada.

Os resultados obtidos para a taxa respirométrica média (produção de CO₂) das populações resultantes não sofreram qualquer variação significativa com os incrementos proporcionados nas proporções iniciais de insetos, independentemente da população usada como população variante (Tabela 5, Figura 12). Esta característica também não foi influenciada pela proporção e densidade iniciais de indivíduos resistentes ao longo do tempo, apesar do tempo ter propiciado elevação na quantidade de CO₂ produzido pelas populações ao longo das gerações (Tabela 6). O que parece mais provável é que esta característica não possui qualquer ligação com a expressão do fenômeno da resistência em indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora.

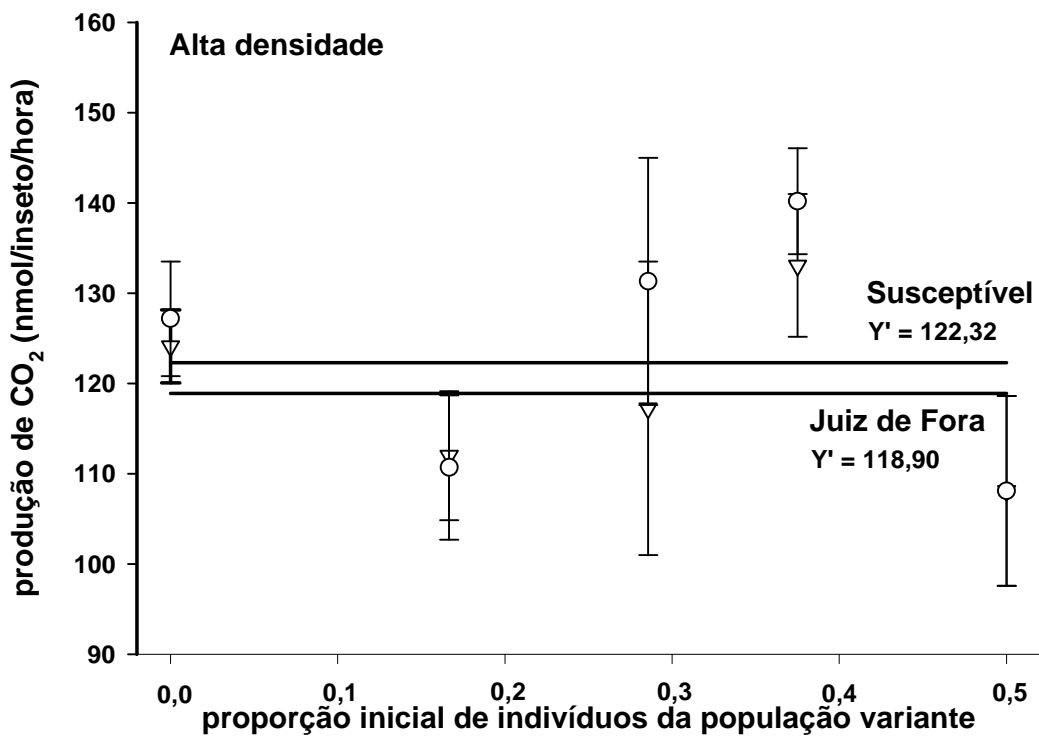
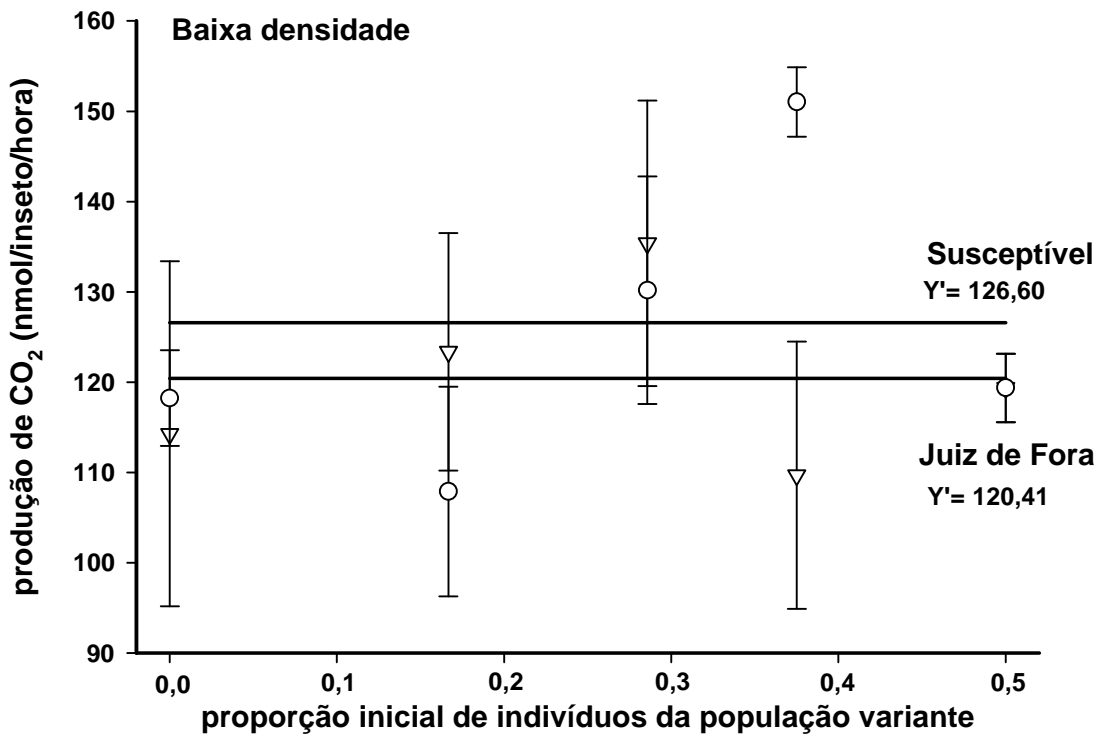


Figura 12. Massa corpórea individual em populações de *Sitophilus zeamais* resultantes da competição entre indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora (resistentes) e susceptíveis a piretróides. Cada ponto representa a média \pm erro padrão de três repetições.

DISCUSSÃO

A constatação de populações de *S. zeamais* resistentes a DDT e piretróides foi inicialmente reportada no início da década de 90 (Guedes *et al.* 1994). Naquela época, estudos de herança do fenômeno já aventavam a possibilidade de existência de resistência cruzada em populações desta praga que possuíam altos níveis de resistência a piretróides. Esta teoria foi recentemente confirmada em trabalhos desenvolvidos por Ribeiro *et al.* (2003) e Fragoso *et al.* (2003), onde foi evidenciado que o aumento da atividade destoxificativa estaria propiciando aumentos nas defesas dos organismos contra a ação de piretróides em *S. zeamais*.

Os resultados de competição (entre populações resistentes e susceptíveis) obtidos neste estudo, apontam para a existência de diferentes padrões populacionais para a expressão do fenômeno da resistência. Nos estudos de competição entre indivíduos resistentes de Jacarezinho e os susceptíveis, a constituição das gerações subsequentes indica que a contribuição de indivíduos resistentes se deu em taxas similares às apresentadas por indivíduos susceptíveis. Ambas as populações foram utilizadas em proporções iniciais variadas e foram submetidas a condições semelhantes de competição por um mesmo período de tempo. Avaliando-se a quantidade de insetos adultos produzida durante o período e ao final do período de competição, não se constatou qualquer evidência de custo fisiológico associado à expressão da resistência na população de Jacarezinho. Já quando se submeteu indivíduos resistentes provenientes da população de Juiz de Fora à competição (nas mesmas condições descritas acima) com indivíduos susceptíveis, fica evidenciado um maior sucesso adaptativo dos indivíduos susceptíveis, uma vez que, na condição de alta densidade inicial de insetos, a quantidade de insetos produzida durante e ao final do período

de competição, eleva-se significativamente somente com o aumento da proporção inicial de indivíduos susceptíveis.

Diversos estudos sobre evolução da resistência associam esse fenômeno a um custo adaptativo ao indivíduo (Ferrari & Georghiou 1981; Cook 1981, Muggleton 1982, 1983, Roush & McKenzie 1987, Kence & Kence, 1993; McKenzie & Betterham 1994, Peck & Ellner 1997, Georghiou & Taylor 1997ab; Guillemaud *et al.* 1998; Haubruge & Arnaud 2001, Raymond *et al.* 2001, Berticat *et al.* 2002, Li *et al.* 2002, Sinkins & Hastings 2004). Essa idéia se baseia em três premissas e parece estar relacionada aos mecanismos de resistência envolvidos, a saber: o aparecimento de adaptações a novos ambientes requer grandes mudanças fenotípicas; os genes que conferem resistência quase sempre não se fixam em populações naturais; e, por fim, a existência de correlação entre mecanismos de resistência a inseticidas e alteração na função de proteínas associadas (french-Constant, 1994, Feyereisen 1995, Zhu *et al.* 1996, french-Constant 1999, Cousteau *et al.* 2000). A segunda premissa parece ser uma explicação plausível para os resultados de performance reprodutiva produzidos pelos indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora.

A população de Juiz de Fora foi recentemente coletada a campo em uma unidade armazenadora de grãos e o fenômeno da expressão da resistência parece ser uma característica instável nesta população. A constatação de correlações positivas significativas entre massa corpórea média da população e mortalidade ocasionada por deltametrina no estudo de competição entre indivíduos susceptíveis e da população de Juiz de Fora, provê suporte para a hipótese de que a alocação de energia para a produção dos mecanismos de defesa contra inseticidas nos indivíduos resistentes estariam prejudicando suas performances de desenvolvimento. Estudos com enzimas detoxificadoras demonstram que o aumento na produção destas, geralmente incorre em aumentos na demanda energética da

população (Soderland & Bloomquist 1990; Chevillon *et al.* 1997; Boivin *et al.* 2001, 2003). Fragoso *et al.* (2005), utilizando estudos de crescimento populacional, também constataram que, mesmo em isolamento e sob condições ótimas de desenvolvimento, a população de Juiz de Fora possuía pior performance de desenvolvimento, quando comparada com a performance apresentada pela população susceptível.

Considerando-se que genes resistentes causam realmente desvantagens adaptativas na ausência de inseticidas, a frequência de alelos resistentes deveria ser baixa (ou ausente) em áreas não tratadas ou que tiveram o uso de inseticidas interrompido, o que nem sempre é constatado na prática (Wood & Bishop, 1981; Whittehead *et al.* 1985; Parrela & Trumble, 1989; White & Bell, 1989). Segundo Whittehead *et al.* (1985), para que uma população de insetos resistentes a inseticidas seja desfavorecida adaptativamente na ausência de inseticidas, é necessário que a magnitude do custo associado seja suficientemente capaz de alterar a performance de desenvolvimento da população, especialmente nos genótipos heterozigóticos quando a resistência é dominante.

A população de Jacarezinho apresentou desenvolvimento populacional semelhante à da população susceptível. Esta população já vem sendo mantida por mais de uma década na ausência de inseticidas, sem que haja com isto a redução da expressão da resistência. Isto sugere que a resistência a inseticidas já se encontra fixada nesta população e que a expressão dos genes responsáveis por esta característica, já não mais incorre em desfavorecimento adaptativo. Segundo White & Bell (1989), em um primeiro momento, populações de moscas da espécie *Lucilia cuprina* (Weidemann) resistentes a diazinom apresentavam alguma desvantagem adaptativa em relação aos indivíduos susceptíveis, mas passado um período de dez anos, outros genes de resistência foram selecionados e compensaram esta menor adaptabilidade destas populações.

A explicação para esta redução no custo adaptativo associado a expressão da resistência passa por dois possíveis mecanismos. O primeiro mecanismo é a seleção de genes modificados que possuam menores custos e o segundo seria a substituição desses genes de elevado custo fisiológico por genes de custos reduzidos (Guillemaud *et al.* 1998; Chevilon *et al.* 1997, 1999; Boivin *et al.* 2001, 2003). Bourguet *et al.* (1997) observaram que o gene responsável pela produção de esterases em populações de *Culex pipiens* (Linnaeus) sofreu modificações ao longo dos anos, possibilitando a produção de enzimas que tivessem maior eficiência de destoxificação e que incorressem em menores custos associados. Os alelos A1 e A4-B4 conferem resistência a organofosforados em *C. pipiens* em virtude do aumento na produção de proteínas por diferentes processos regulatórios (Chevilon *et al.*; 1999). Eritja & Chevilon (1999) relatam que a tendência observada nos países mediterrâneos é de substituição do alelo A1 pelo A4-b4 nas populações de *C. pipiens* resistentes a organofosforados. Isto demonstra que A1 (que utiliza-se de auto regulação gênica) implica em um custo associado superior ao apresentado pelo A4-B4, que utiliza-se de gene-amplificação para o aumento na produção de proteínas (Chevilon *et al.*; 1999).

Quando os indivíduos resistentes utilizados na competição eram provenientes da população de Jacarezinho, os resultados obtidos para as características de massa corpórea média da população e mortalidade ocasionada por deltametrina, apresentaram um efeito correlativo negativa, o que provê suporte adicional para a hipótese de que os indivíduos resistentes provenientes de Jacarezinho estariam utilizando de seu maior peso para competir em condições de igualdade com indivíduos susceptíveis. Guedes *et al.* (2005) observaram que a quantidade de moléculas de reserva armazenadas em células trofócíticas de indivíduos provenientes da população de Jacarezinho eram significativamente superior as das demais populações utilizadas em seus estudos. Logo, a maior quantidade de substancias

de reservas estocadas no corpo gorduroso de indivíduos provenientes de Jacarezinho, garante que a alocação de energia para a produção dos aparatos destoxificativos ocorra sem que haja comprometimento de seu potencial reprodutivo. Outros estudos demonstram que resistência a inseticidas não necessariamente incorre em custos adaptativos e revelam genótipos resistentes com potencial de adaptação igual ou superior aos dos susceptíveis (Kence & Jdeidi, 1997; Baker *et al.* 1998; Haubruge & Arnaud 2000).

A análise das taxas respirométricas apresentadas pelas populações, nos dois experimentos de competição entre indivíduos susceptíveis e resistentes, não evidenciam qualquer alteração significativa na produção de CO₂, em decorrência das alterações promovidas na densidade e/ou proporção iniciais de insetos, e nem tão pouco na proveniência dos indivíduos resistentes. Isto sugere que a atividade respirométrica não está relacionada diretamente à expressão da resistência nas populações utilizadas neste estudo, pois mesmo na população de Juiz de Fora, onde há evidências claras de custos adaptativos associados ao fenômeno, não se observam alterações na produção de CO₂ pelos indivíduos provenientes desta população. Hostetler *et al.* (1994), também não conseguiram evidenciar diferenças significativas na taxa respirométrica de populações de *Blattella germanica* (Linnaeus) resistentes e susceptíveis a organofosforados e piretróides.

Para os indivíduos provenientes da população de Jacarezinho, os possíveis incrementos na taxa respirométrica decorrentes da produção dos aparatos destoxificativos, podem estar sendo compensados por aumento na eficiência de utilização da energia demandada nos demais processos fisiológicos. Já no caso dos indivíduos provenientes da população de Juiz de Fora, a energia parece ser alocada preferencialmente nos processos fisiológicos responsáveis pela expressão da resistência, debilitando a quantidade de energia disponibilizada para a manutenção e reprodução do indivíduo. Park & Keeley (1998)

concluíram que uma possível causa da mortalidade de baratas *Blaberus discoidalis* (Serville) após a aplicação do inseticida dimetilclordimiforme (DCDM), um inseticida do grupo das formamidinas, seria a diminuição das reservas de energia armazenadas no corpo gorduroso, comprometendo processos fisiológicos fundamentais à manutenção do inseto.

CONCLUSÕES

Portanto, pode-se concluir com esse estudo que a expressão da resistência a piretróides na população de Jacarezinho não impõe um custo fisiológico adicional capaz de influenciar o seu desenvolvimento reprodutivo quando confrontado com a população de Sete Lagoas, tornando-a eficiente competidora frente a populações susceptíveis. Isto acarreta complicações práticas para o manejo da resistência nesta espécie, uma vez que a aplicação de estratégias de manejo que se baseiem exclusivamente na interrupção de uso de inseticidas piretróides visando o retorno de aplicações destes inseticidas no futuro, podem não surtir os efeitos esperados, pois mesmo passado um determinado período de tempo, as populações resistentes desta praga ainda se manterão como tais. Já para a população de Juiz de Fora, a resistência a inseticidas apresenta um custo adaptativo capaz de prejudicar a performance competitiva dos indivíduos desta população, frente a indivíduos susceptíveis na ausência de inseticidas.

Novos estudos que busquem elucidar os processos genético-moleculares que governam a expressão do fenômeno nas diferentes populações desta praga, poderão auxiliar no entendimento dos possíveis custos adaptativos existentes nas populações resistentes, facilitando o desenvolvimento de estratégias de controle que poderão vir a ser usadas no manejo da resistência a inseticidas.

LITERATURA CITADA

- Baker, J. E., J. Perez-Mendonça, R. W. Beeman & J. E. Throne. 1998.** Fitness of a malathion-resistant strain of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: pteromalidae). J. Econ. Entomol. 91: 50-55.
- Berticat, C., G. Boquien, M. Raymond & C. Chevillon. 2002.** Insecticide resistance genes induce a mating competition cost in *Culex pipiens* mosquitoes. Genet. Res. 72: 41-47.
- Boivin, T., C. C. D'Hières, J. C. Bouvier, D. Beslay & B. Sauphanor. 2001.** Pleiotropism of insecticide resistance in the codling moth *Cydia pomonella*. Entomol. Exp. Appl. 99: 381-386.
- Boivin, T., J. C. Bouvier, D. Beslay & B. Sauphanor. 2003.** Phenological segregation of insecticide resistance alleles in the codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae): a case study of ecological divergences associated with adaptive changes in populations. Genet. Res. 81: 169-177.
- Bourguet, D.; T. Lenormand; T. Guillemaud; V. Marcel & M. Raymond. 1997.** Variant of dominance newly arisen adaptive gene. Genetics 147: 1225-1234.
- Brattsten, L. B.; J. R. Holyoke; L. W. Leeper; J. R. Raffa & K. F. 1986.** Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. Science 231: 1255- 1260.
- Cajueiro, I. V. de M. 1988.** Controle químico de *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1855 (Coleoptera: Curculionidae), em grãos de sorgo, *sorghum bicolor* (L.) Moench, em laboratório. Piracicaba, ESALQ, 99p. (Tese M. S.).

- Chevillon, C., D. Bourguet, F. Rousset, N. Pasteur & M. Raymond. 1997.** Pleiotropy of adaptative change in population: comparisons among insecticide resistance genes in *Culex pipiens*. *Genet. Res.* 68:195-203.
- Chevillon, C., M. Raymond, T. Guillemaud, T. Lenormand, & N. Pasteur. 1999.** Population genetics of insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*. *Biol. J. Linn. Soc.* 68: 147-157.
- Clarke, A. 1993.** Seasonal acclimatization and latitudinal compensation in metabolism: do they exist ? *Func. Ecol.* 7:139-149.
- Cook, L.M. 1981.** The ecological factors in assessment of resistance in pest populations. *Pestic. Sci.* 12; 582-586.
- Cotton, R.T. & D. A. Wilbur. 1982.** Insects. In: **Christensen C. M.** Stored of ceral grains and their products. St. Paul. Minnesota, A. O. C. S., p. 281-318.
- Coustau, C., C. Chevillon & R. H. ffrench-Constant. 2000.** Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? *Trends Ecol. Evol.* 15: 378-383.
- Curtis, C. F & P. M. Graves. 1988.** Methods for replacement of malaria vector populactions. *J. Trop. Med. Hyg.* 91:43-48.
- Danho, M.; C. Gaspar & E. Haubruge. 2002.** The impact of grain quality on the biology of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae): oviposition, distribution of eggs, adult emergence, body weight and sex ratio. *J. Stored Prod. Res.* 38: 259-266.
- Daniel, S. H. & R. H. Smith. 1994.** Functional anatomy of the egg pore in *Callosobruchus maculatus*: a trade-off between gas-exchange and protective functions? *Physiol. Entomol.* 19: 30-38.

- Dobie, P.; C. P Haines; R. J. Hodges & P. F. Prevett. 1984.** Insects and arachnids of tropical Stored products, their biology and identification: a training manual. UK, Tropical Development and Research Institute, 273p.
- Eritja R. & C. Chevillon. 1999.** Interruption of chemical control and evolution of insecticide genes in *Culex pipiens*. J. Med. Entomol 36: 41-49.
- Evans, D. E. 1981.** The biology of stored products Coleoptera. In: **Proc. Aust. Dev. Asst.** Course on Preservation of Stored cereals, p. 145-85.
- Ferrari, J. A. & G. P. Georghiou. 1981.** Effects on insecticidal selection and treatment on reproductive potential of resistant, susceptible and heterozygous strains of the southern house mosquitoes. J. Econ. Entomol. 74: 323-327.
- Feyereisen, R. 1995.** Molecular biology of insecticide resistance. Toxicol. Letters 82: 83-90.
- French-Constant, R. H. 1994.** The molecular and population genetics of cyclodiene insecticide resistance. Ins. Bioch. Mol. Biol. 24: 335-345.
- French-Constant, R. H. 1999.** Target site mediated insecticide resistance: what questions remain. Mini-review. Ins. Bioch. Mol. Biol. 29: 397-403.
- Field, L. M.; A. P. Anderson; I. Denholm; S. P. Foster; Z. K. Harling; N. Javed; D. Martinez-Torres; G. D. Moores; M. S. Williamson & A. L. Devonshire. 1997.** Use of biochemical and DNA diagnostics for characterising multiple mechanisms of insecticide resistance in the peach-potato aphid (*Myzus persicae*) (Sulzer). Pestic. Sci. 51: 283-289.
- Foster, S. P.; I. Denholm & A. L. Devonshire. 2000.** The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the U.K. Crop Prot. 19: 873-879.
- Foster, S.P.; R. Harrington; A. L. Devonshire; I. Denholm; G. J. Devine; M. G. Kenward M.G. J. S. Bale. 1996.** Comparative survival of insecticide-susceptible and

resistant peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), in low temperature field trials. Bull. Entomol. Res. 86: 17-27.

Foster, S.P.; R. Harrington; A. L. Devonshire; I. Denholm; S. J. Clark & M. A. Mugglestone. 1997. Evidence for a possible fitness trade-off between insecticide resistance and the low temperature movement that is essential for survival of UK populations of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). Bull. Entomol. Res. 87: 573-579.

Fragoso, D. B., R. N. C. Guedes & L. A. Peternelli. 2005. Developmental rates and population growth of insecticide-resistant and susceptible populations of *Sitophilus zeamais* J. Stored Prod. Res. (no prelo)

Fragoso, D. B., R. N. C. Guedes & S. T. Rezende. 2003. Biochemical mechanisms of insecticides resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Entomol. Exp. Appl. 109: 21-29.

Georghiou, G. P & C. E. Taylor. 1977 a. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. J. Econ. Entomol. 70: 319-323.

Georghiou, G. P & C. E. Taylor. 1977 b. Operational influences in the evolution of insecticide resistance. J. Econ. Entomol. 70: 653-658.

Green, R. H. 1993. Application of repeated measures designs in environmental impact and monitoring studies. Austral. J. Ecol. 18: 81-98.

Guedes, R. N. C. ; E. E. Oliveira; N. M. P Guedes; B. M. Ribeiro & J. E. Serrão. 2005. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Physiol. Entomol. (no prelo)

Guedes R.N.C., R. H. Smith & Guedes N. M. P. 2003. Host suitability, respiration rate and the outcome of larval competition in strains of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. Physiol. Entomol. 28: 1-9.

- Guedes, R. N. C. & E. E. Oliveira. 2002.** Resistência a Inseticidas em Insetos-Pragas do Cafeeiro: Situação & Perspectivas, p. 471-498. In: **Zambolim, L.** O estado da arte de tecnologias na produção de Café, 568 p.
- Guedes, R. N. C. & K.Y. Zhu. 1998.** Characterization of malathion resistance in Mexican population of *Rhyzopertha dominica*. Pestic. Sci. 53: 15-20.
- Guedes, R. N. C., J. O. L. Lima, J. P. Santos & C. D. Cruz. 1994.** Inheritance of deltamethrin resistance in a Brazilian strain of maize weevil (*Sitophilus zeamais* Mots.). Int. J. Pest Manag 40: 103-106.
- Guedes, R.N.C., J.O. L. Lima, J. P. Santos & C. D. Cruz. 1995.** Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res 31: 145-150.
- Guillemaud, T., T. Lenormand, D. Bourguet, C. Chevillon, N. Pasteur & M. Raymond. 1998.** Evolution of resistance in *Culex pipiens*: Allele replacement and changing environment. Evolution. 52: 443-453.
- Harak, M; I. Lamprecht; A. Kuusik; K. Hiiesaar; L. Metspalu & U. Tartes. 1999.** Calorimetric investigations of insect metabolism and development under the influence of a toxic plant extract. Thermochim. Acta 333: 39-48.
- Haubruge, E. & A. Arnaud. 2001.** Fitness consequences malathion-specific resistance in red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) and selection for resistance in the absence of malathion. J. Econ. Entomol. 94: 552-557.
- Hostetler, M. E., J. F. Anderson & C. Lanciani. 1994.** Pesticide resistance and metabolic rate in german cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). Florida Entomol. 77: 288-290.
- Hurlbert, S.H. 1984.** Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. Ecol. Monogr. 54, 187-211.

- Kence, M. & A. Kence. 1993.** Control of insecticide resistance in laboratory populations of house fly (Diptera: Muscidae) by introduction of susceptible genes. *J. Econ. Entomol.* 86: 189-194.
- Kence, M. & T. Jdeidi. 1997.** Effect of malathion on larval competition in house fly (Diptera: Muscidae) populations. *J. Econ. Entomol.* 90: 59-65.
- Kuschel, G. 1961.** On problems of synonymy in the *Sitophilus oryzae* complex (30 th contribution. Coleoptera, Curculionidae). *Ann. Mag. Nat. Hist.* 13: 241-244.
- Li, X., L. Ma, L. Sun & C. Zhu. 2002.** Biotic characteristics in deltamethrin-susceptible and resistant strains of *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae) in China. *Appl. Entomol. Zool.* 37: 305-308.
- Lilly, M.; R. Kreber; B. Ganetzky & J. R. Carlson. 1994.** Evidence that the *Drosophila* olfactory mutants *smellblind* defines a novel class of sodium channel mutation. *Genetics* 136: 1087-1096.
- Marais, E. & S. L. Chow. 1993.** Repeatability of standard metabolic rate and gas exchange characteristics in a highly variable cockroach, *Perisphaeria sp.* *J. Exp. Biol.* 206: 4565-4574.
- Martinez-Torres, D.; S. P. Foster; L. M. Field; A. L. Devonshire & M. S. Williamson. 1999.** A sodium channel point mutation is associated with resistance to DDT and pyrethroids insecticides in peach-potato aphid (*Myzus persicae*) (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Insect Mol. Biol.* 8:1-8.
- Mckenzie, J. A. & P. Betterham. 1994.** The genetic, molecular and phenotypic consequences of selection for insecticide resistance. *Trends Ecol. Evol.* 9: 166-169.
- Muggleton, J . 1982.** A model for the elimination of insecticide resistance using heterozygous disadvantage. *Heredity* 49: 247-251.

- Muggleton, J. 1983.** Adaptative fitness of malathion-resistant phenotypes of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae). *J. Appl. Ecol.* 20: 245-254.
- Oliveira, E. E., R. W. A. Souza, R. A. Sarmiento, E. S. Tuelher R. N. C. Guedes. 2002.** Seletividade de inseticidas a *Theocolax elegans* parasitóide de *Sitophilus zeamais*. *Biosci. J.* 18: 11-16.
- Oppert, B.; R. Hammel; J. E. Throne & K. J. Kramer. 2000.** Fitness cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* in the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella*. *Entomol. Exp. Appl.* 96: 281-287.
- Paine, M. D. 1996.** Repeated measures designs. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 1439-1441.
- Park, J. H. & L. L. Keeley. 1998.** The Effect of biogenic amines and their analogs on carbohydrate metabolism in the fat body of the cockroach *Blaberus discoidalis*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 110: 88-95.
- Parrella, M. P. & J. Trumble. 1989.** Decline of resistance in *Liriomyza trifoli* (Diptera: Agomyzidae) in the absence of insecticide selection pressure. *J. Econ. Entomol.* 82: 365-368.
- Peck, S. L. & S. P. Ellner. 1997.** The effect of economic thersholds and life-history parameters on the evolution of pesticide resistance in a regional setting. *Am. Nat.* 149: 43-63.
- Raymond, M.; C. Berticat; M. Weill; N. Pasteur & C. Chevillon 2001.** Insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*: what we have learned about? In: **Henry A. P. & M. T. Kinisso.** Comteporary microevolution: rate, patttern and process. *Genetica.* (no prelo).
- Rees, D.P. 1996.** Coleoptera. In **Subramanyam, B.H. & D. W. Hagstrum.** Integrated mangement of insects in stored products. New York: Marcel Dekker, p. 1-39

- Ribeiro, B. M., R. N. C. Guedes, E. E. Oliveira, J. P. Santos. 2003.** Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored. Prod. Res. 39: 21-31.
- Rosseto, C. J. 1969.** O complexo de *Sitophilus* spp. (Coleoptera: Curculionidae) no Estado de São Paulo. Bragantia, 28: 127-48.
- Roush, R.T. & J. A. McKenzie. 1987.** Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. Ann. Rev. Entomol. 32: 361-380.
- SAS Institute. 1989.** SAS/STAT User's Guide, version 6. 1989. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Sinkins, S. P. & I. M. Hastings. 2004.** Male-specific insecticide resistance and mosquito transgene dispersal. Trends Parasitol. 20: 413-416.
- Snaydon, R. W. 1991.** Replacement or additive series for competition studies? J. Appl. Ecol. 28: 930-946.
- Sonderlund, D. M. & J. R. Bloomquist. 1990.** Molecular mechanisms of insecticide resistance. In: **Roush, R. T. & B. E. Tabashink.** Pesticide Resistance in Arthropods. New York, Chapman & Hall. p. 58-96.
- SPSS Inc. 2000.** Sigma Plot user's guide version 7.0 (Revised Edition). **SPSS Inc.**, Chicago, USA.
- Stewart-Oaten, A.; W. W. Murdoch & K. R. Parker. 1986.** Environmental impact assessment: "pseudoreplication" in time. Ecology 67, 929-940.
- Teetes, G. L.; K. W. Seshu-Reddy; K. Leuschener & L. R. House. 1983.** Sorghum Insect Identification Hand book. ICRISAT Inform. Bull. 12: 106-107.

- von Ende, C. N. 1993.** Repeated-measures analysis: growth and other time-dependent measures. In: **Scheiner, S. & J. Gurevitch.** Design and Analysis of Ecological Experiments. Chapman & Hall, New York, p. 113-137.
- Weldem, C. W. & W. L. Slausom. 1986.** The intensidade of competition versus importance : an overlooked distinction and some implications. *Qatl. Rev. Biol.*, 61: 23-44.
- White, N. D. G. & R. J. Bell. 1989.** Relative fitness of a malathion-resistant strain of *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae) when development and oviposition occur in malathion-treated and untreated wheat kernels. *J. Stored. Prod. Res.* 26: 23-27.
- Whitehead, J., R. T. Roush & B. R. Norment. 1985.** Resistance stability and coadaptation in diazino-resistant house flies (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 78: 25-29.
- Wood, R. J. & J. A. Bishop. 1981.** Insecticide resistance: populations and evolutions,. *In* J. Am. Bishop & L. M. Cook (eds.), Genetics consequences of man-made change. London, Academic Press, pp. 97-128.
- Zhu, K. Y., S. H. Lee & J. M. Clark. 1996.** A point mutation of acetylcholinesterase associated with azinphosmethyl resistance and reduced fitness in Colorado potato beetle. *Pestic. Biochem. Physiol.* 55: 100-108.
- Santos, J.P., I. V. M. Cajueiro & R. A. Fontes. 1986.** Controle de pragas no milho armazenado em paióis. In: **EMBRAPA, Relatório técnico anual do Centro Nacional de pesquisa de Milho e Sorgo 1980/1984.** Sete Lagoas: CNPMS/EMBRAPA, p.66-67.