

MARCO AURÉLIO GUERRA PIMENTEL

**RESISTÊNCIA A FOSFINA: MAGNITUDE, MECANISMO E
CUSTO ADAPTATIVO**

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**

2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

P644r
2006

Pimentel, Marco Aurélio Guerra, 1979-
Resistência a fosfina : magnitude, mecanismo e custo
adaptativo / Marco Aurélio Guerra Pimentel.
– Viçosa : UFV, 2006.
xi, 67f. : il. ; 29cm.

Orientador: Lêda Rita D'Antonino Faroni.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 52-67.

1. Resistência a inseticidas. 2. Fosfina - Toxicologia.
3. Inseto - População. 4. Adaptação (Fisiologia).
5. *Tribolium castaneum*. 6. *Rhyzopertha dominica*.
7. *Oryzaephilus surinamensis*. 8. Grãos - Armazena-
mento - Doenças e danos. I. Universidade Federal de
Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 632.95042

MARCO AURÉLIO GUERRA PIMENTEL

**RESISTÊNCIA A FOSFINA: MAGNITUDE, MECANISMO E
CUSTO ADAPTATIVO**

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*.

APROVADA: 17/02/2006

**Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes
(Conselheiro)**

**Prof. Marcos Rogério Tótola
(Conselheiro)**

Prof. Marcelo Coutinho Picanço

Dr. Jamilton Pereira dos Santos

**Prof^a. Lêda Rita D'Antonino Faroni
(Orientadora)**

BIOGRAFIA

MARCO AURÉLIO GUERRA PIMENTEL, filho de José Aurélio de Andrade Pimentel (“in memorian”) e Helena Guerra Pimentel, nasceu em Belo Horizonte - MG em 22 de fevereiro de 1979.

Em abril de 1999 iniciou o curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, onde foi bolsista de iniciação científica pelo CNPq de fevereiro de 2000 a dezembro de 2003, graduando-se Engenheiro Agrônomo em janeiro de 2004.

Em março de 2004 iniciou o curso de mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, sob a orientação da Profª. Lêda Rita D’Antonino Faroni, submetendo-se a defesa de tese em 17 de fevereiro de 2006, já estando aprovado para o Doutorado no mesmo programa.

Aos meus pais, José Aurélio e Helena;
À Carina e a Clara meus amores;
Aos meus sobrinhos (as): Daniel, Ana Carolina,
Lucas, Guilherme, Gustavo, Bárbara, Igor e Ana Luíza;
Às minhas irmãs: Joselene, Luciana, Lucília e Josélia;
Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de formação nos cinco anos do curso de Agronomia e dois anos de aperfeiçoamento no Mestrado em Entomologia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos professores e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

À professora Lêda Rita D'Antonino Faroni, pelos ensinamentos e oportunidades e principalmente pela orientação e confiança depositada desde a iniciação científica quando fui acolhido em seu laboratório. Obrigado por tudo.

Ao professor Raul Narciso Carvalho Guedes, pela amizade, aprendizado, estímulo, críticas, orientação e confiança desde os tempos de estagiário no porão da Entomologia.

Ao professor Marcelo Coutinho Picanço por ter me iniciado na Entomologia, pelos ensinamentos, estímulo.

Ao professor Marcos Rogério Tótola e Dr. Jamilton Pereira dos Santos pelas sugestões e disponibilidade para participação na banca avaliadora.

À minha companheira, Carina, pelo amor, companheirismo, paciência, amizade, carinho, ajuda, enfim, por tudo que vivemos e vamos viver juntos. Obrigado por tudo! A nossa filha Clara, que amamos muito e que é muito importante.

Aos meus pais, José Aurélio e Helena e a toda minha família que são de fundamental importância na minha vida. Muito obrigado!

Aos amigos e colegas de curso, pela amizade e companheirismo, e em especial à turma da Taxonomia (2004/I), Carina Mews, Vinícius, Lucimar, Simone, Ézio, Edmar, Júnior, Fernando, Teresa, Alexandre, Marcy, etc.

Ao pessoal do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas de Grãos Armazenados (MIP-Grãos), José Roberto, Carlos Romero, Adalberto e Silma e as estagiárias, Ana Paula e Flávia pela ajuda na execução dos experimentos.

Ao pessoal da Engenharia Agrícola, Ari, Wederson, Adriano, Flávio, aos funcionários, Catitu, Inhame, Edson, José Eustáquio, Zé Baixinho, Geraldinho, Silas, Marcos e ao pessoal da Fábrica de Ração.

A todas as pessoas e entidades que nos auxiliaram na coleta das populações de insetos que foram utilizadas nesta dissertação: Eng. Agr. Ms. Adriano Rozado, Cooperativa Regional de Cafeicultores em Guaxupé Ltda (COOXUPÉ), pelas populações de Alfenas-MG, Guaxupé-MG e Carmo do Rio Claro-MG. Ao Prof. Valter Arthur, Dep. de Entomologia-CENA, pela população de Piracicaba-SP. A Sra. Maria Elizabete Bizinoto Gerônimo, UA-CASEMG em Sacramento-MG e ao Sr. Luís Carlos da Silva, UA-CASEMG em Uberlândia-MG. Ao colega Leandro Juen, pela população de Água Boa-MT. Ao Sr. Célio Luiz Cardoso e ao Técnico em Agropecuária, Daniel Pimentel Cardoso, Fazenda Palmeiras, Aguanil-MG. A Sra. Maria Salete de Oliveira Gomes, CEAGESP, pela população de Palmital-SP. A Cooperativa Agroindustrial dos Produtores Rurais do Sudoeste Goiano (COMIGO) pela população de Rio Verde-GO. Muito obrigado a todos pelo pronto atendimento e disponibilidade em ceder populações destas localidades para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos e colegas da “República do 26”, alojamento Pós-graduando, apto. 1912, Hallen, Márcio (Takaka), Reinaldo (Cubano), Ronaldo, Ítalo, Gutierre, Lessando (Bokinha), Júnio, Rodrigo, Alexandre, Leonardo, Rodrigo (Cabelo).

Aos “novos” e “velhos” amigos de Viçosa: Marcel, Ézio, João, Claudinei, Carla, Juvenal, Rodney, Osvaldo (Pônes), Custódio (Toddy), Tiziu, Saci e ao pessoal do “Lá em Casa”.

ÍNDICE

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. <i>Tribolium castaneum</i> , <i>Rhyzopertha dominica</i> e <i>Oryzaephilus surinamensis</i> ...	5
2.2. Fosfina.....	7
2.3. Resistência a inseticidas.....	9
2.4. Mecanismos de resistência.....	10
2.5. Mecanismos de ação da fosfina.....	12
2.6. Custos adaptativos.....	15
2.7. Respirimetria	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Populações de insetos.....	18
3.2. Bioensaios de detecção e magnitude de resistência	21
3.3. Massa corpórea.....	25

3.4. Ensaaios respirométricos	25
3.5. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)	26
3.6. Análises estatísticas.....	27
4. RESULTADOS.....	28
4.1. Detecção e magnitude de resistência à fosfina (PH_3).....	28
4.2. Massa corpórea.....	30
4.3. Produção de CO_2	31
4.4. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)	32
5. DISCUSSÃO	42
6. CONCLUSÕES	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

RESUMO

PIMENTEL, Marco Aurélio Guerra, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2006. **Resistência a fosfina: magnitude, mecanismo e custo adaptativo.** Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Conselheiros: Raul Narciso Carvalho Guedes e Marcos Rogério Tótola.

A resistência a inseticidas fumigantes em insetos-praga de grãos armazenados tem sido freqüentemente registrada e, atualmente, tem se tornado um dos grandes obstáculos aos programas de controle envolvendo o uso de produtos químicos. Com isso, objetivou-se neste estudo detectar populações de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis* resistentes à fosfina, além de aferir a existência de desvantagens adaptativas destas, na ausência da fosfina, correlacionando-se produção de CO₂, massa corpórea e taxa instantânea de crescimento populacional (r_t), com os níveis de resistência observados nas diferentes populações das três espécies em estudo. Foram utilizadas 12 populações distintas de *T. castaneum*, 10 de *R. dominica* e oito populações de *O. surinamensis*, coletadas nos Estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo. Os bioensaios para detecção de resistência foram conduzidos conforme método-padrão, recomendado pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), que é baseado na exposição de 50 insetos adultos, em quatro repetições, por um período de 20 horas à concentração discriminante (CD) do gás fumigante. Posteriormente, foram conduzidos bioensaios de concentração-resposta gerando, assim, as curvas de concentração-mortalidade que foram utilizados para estimar as CL₅₀ e CL₉₅ das populações das três espécies. As CL₅₀, por sua vez, foram utilizadas para discriminar a população padrão de suscetibilidade de cada espécie e o nível de resistência das demais populações. A mensuração da massa corpórea, produção de CO₂ e taxa

instantânea de crescimento (r_i) de cada população, das três espécies avaliadas, foram correlacionados à razão de resistência para CL_{50} . A razão de resistência para CL_{50} em *T. castaneum* variou de 1,0 a 186,2 vezes, enquanto em *R. dominica* foi de 2,0 a 71,0 vezes e em *O. surinamensis* observou-se a menor variação, de 1,9 a 32,2 vezes. Os resultados obtidos nos bioensaios de detecção de resistência indicaram 10 populações de *T. castaneum*, nove de *R. dominica* e sete de *O. surinamensis* resistentes a fosfina. A relação entre massa corpórea e produção de CO_2 foi significativa, indicando aumento na produção de CO_2 com o incremento da massa corpórea dos indivíduos, nas três espécies avaliadas. O mesmo efeito é observado na interação entre taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) e a massa corpórea. As populações com menor produção de CO_2 apresentaram maior razão de resistência (RR) para CL_{50} , para as três espécies avaliadas, fato que está relacionado ao mecanismo de resistência dos insetos à fosfina. As populações com maiores valores médios de r_i apresentaram menor razão de resistência (RR) para CL_{50} , nas três espécies avaliadas. Este resultado indica pior desempenho reprodutivo das populações resistentes, em relação às populações suscetíveis na ausência do fumigante. Portanto, estratégias de manejo da resistência que são baseadas na interrupção da fumigação com fosfina, por determinado tempo visando o restabelecimento da suscetibilidade e eventual reintrodução do fumigante apresentam boa perspectiva de sucesso. Isto porque, as populações resistentes avaliadas neste estudo apresentaram desvantagens adaptativas, em relação às suscetíveis, na ausência da fosfina.

ABSTRACT

PIMENTEL, Marco Aurélio Guerra, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February 2006. **Phosphine resistance: magnitude, mechanism and adaptative cost.** Adviser: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Committee members: Raul Narciso Carvalho Guedes and Marcos Rogério Tótola.

The resistance of the insect-pests to fumigants has been frequently reported in stored grains and a present is one of the great obstacles to the control programs involving the use of chemical pesticides. This study was therefore carried out to detect phosphine resistance in populations of *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* and *Oryzaephilus surinamensis* and to recognize the existence of adaptative disadvantages of these insects in the absence of phosphine, by correlating the instantaneous rate of population growth (r_i) with the resistance levels observed in different populations of the species under study. Twelve distinct populations of *T. castaneum*, ten of *R. dominica*, and eight of *O. surinamensis* collected in the states of Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais and São Paulo were surveyed. The bioassays for the detection of phosphine resistance were carried out following the standard method recommended by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), which it is based on the exposure of 50 non-sexed adult insects, in four replicates, to the discriminating concentration (DC) of the fumigant for a 20 hour-period. Later, the concentration-response bioassays were carried out generating the concentration-mortality curves that were used to estimate LC_{50} and LC_{95} of the populations pertaining to those three species. The LC_{50} were used to discriminate the standard population for susceptibility in each species. The measurements of the body mass, CO_2 production, and instantaneous rate of population increase (r_i) in each population of each species were correlated to the resistance ratio at the LD_{50} . The

resistance ratio in *T. castaneum* ranged from 1,0 to 186,2-fold, whereas in *R. dominica* it ranged from 2,0 to 71,0-fold, and the lowest one from 1,9 to 32,2-fold for *O. surinamensis*. The results obtained in the resistance detection bioassays pointed out ten populations of *T. castaneum*, nine of *R. dominica* and seven of *O. surinamensis* that were resistant to phosphine. The relationship between the body mass and CO₂ production was positive and significant indicating an increase in CO₂ production with the individual body mass. The same effect is observed in the interaction between the instantaneous rate of population increase (r_i) and body mass. In addition, the populations with lower CO₂ production showed higher resistance ratio (RR) for all species, what is related to the phosphine resistance mechanism. The populations with higher r_i showed lower resistance ratio (RR). This result indicates a worse reproductive performance of the resistant populations compared with the susceptible ones. Thus, the management strategies that are based on the interruption of the phosphine fumigation over determined time for the reestablishment of the susceptibility and eventual reintroduction of the fumigant shows a good perspective as a management tactic since the resistant populations under study showed adaptative disadvantage in relation to the susceptible ones in the absence of phosphine.

1. INTRODUÇÃO

A evolução da resistência de pragas a pesticidas tem se tornado um dos grandes obstáculos aos programas de controle envolvendo o uso de produtos químicos. O primeiro caso de resistência de uma praga a um pesticida foi documentado em piolho-de-São José (*Quadraspidotus perniciosus*) resistente ao enxofre nos Estados Unidos em 1908 (Roush & Tabashnik 1990). Os casos reportados de resistência se intensificaram com a introdução dos inseticidas e acaricidas organo-sintéticos ao redor de 1940. Até a década de 90, mais de 540 espécies de insetos e ácaros resistentes a pelo menos uma classe de composto químico já foram documentadas (Michigan State University 2005). A resistência já foi detectada para praticamente todos os grupos de pesticidas, incluindo produtos mais recentes do grupo dos reguladores de crescimento de insetos e de origem microbiana, como *Bacillus thuringiensis* e *Baculovirus anticarsia* (Subramanyan & Hagstrum 1996; Trisyono & Whalon 1997; Alyokhin & Ferro 1999).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), resistência é a capacidade de uma população de suportar o efeito de doses de substâncias tóxicas

que seriam letais para a maioria dos indivíduos de uma população normal da mesma espécie. A resistência a inseticidas é uma característica hereditária, intra-específica e relativa. A resistência a inseticidas se traduz no desenvolvimento de mecanismos que são o resultado de alterações no genoma do indivíduo, capacitando-o a sobreviver em uma situação desfavorável (Brattsten *et al.* 1986; Tabashnik 1990; Subramanyan & Hagstrum 1996).

A resistência a inseticidas fumigantes em insetos-praga de grãos armazenados tem sido freqüentemente registrada em diversos países como Arábia Saudita, Argentina, Austrália, Brasil, Canadá, Chile, China, Estados Unidos, Grécia, Índia, Itália, Japão, México, Nepal, Nigéria e Síria (Champ & Dyte 1976; Bell *et al.* 1977; Tyler *et al.* 1983; Dyte & Halliday 1985; Pacheco *et al.* 1990; Zettler & Cuperus 1990; Bell & Wilson 1995; Subramanyan & Hagstrum 1996; Athié *et al.* 1998; Wallbank & Farrel 2000; Emery *et al.* 2003; Benhalima *et al.* 2004; Collins *et al.* 2005).

Resistência a fosfina foi detectada em 13 espécies de insetos-praga de produtos armazenados em 45 países. Dentre todas as espécies relatadas, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae) e *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus) (Coleoptera: Silvanidae), destacam-se entre as mais resistentes, principalmente em países da Ásia e da África (Subramanyan & Hagstrum 1996; Chaudhry 2000). Isto se deve principalmente ao uso indiscriminado de inseticidas fumigantes, o que tem apontado a resistência como um dos principais fatores responsáveis pelo aparecimento de falhas no controle (Hagstrum & Flinn 1996; Guedes *et al.* 1998; Adler *et al.* 2000; Bell 2000; Donahaye 2000; Benhalima *et al.* 2004). Aliado a este fato, técnicas de aplicação inadequadas como fumigação sob condições inadequadas de vedação,

permitindo escape de gás, períodos de exposição insuficientes, dosagens inferiores ou muito superiores às necessárias e condições de sanitização inadequadas das unidades armazenadoras, também têm sido apontadas como condições básicas para o aumento de falhas de controle. O aumento repetitivo de falhas de controle e conseqüente intensificação de fumigação indicam que, nas linhagens sobreviventes, está ocorrendo maior pressão de seleção para a resistência à fosfina (Dyde & Halliday 1985; Taylor 1989; Hagstrum & Flinn 1996; Adler *et al.* 2000; Bell 2000; Donahaye 2000; Benhalima *et al.*, 2004).

No Brasil existem poucos trabalhos de detecção de resistência à fosfina em insetos de grãos armazenados, com exceção do levantamento mundial efetuado pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), no período de 1972/1973, que se restringe apenas a testes de detecção (Champ & Dyde 1976). Outros trabalhos, como o de Pacheco *et al.* (1990) e Sartori *et al.* (1990), também se dedicaram a testes de detecção de resistência. O levantamento e o monitoramento para verificação de alterações na suscetibilidade dos insetos são fundamentais para o manejo da resistência a inseticidas. Por meio desse tipo de trabalho, é possível avaliar a eficiência das estratégias de manejo adotadas para retardar a evolução da resistência (Subramanyam & Hagstrum 1996; ffrench-Constant 1999).

Em trabalhos de monitoramento, o primeiro passo é o estabelecimento da resposta natural de populações geograficamente distintas ao inseticida em estudo. Assim, são estabelecidas as linhas básicas de suscetibilidade aos inseticidas em diferentes populações, mediante realização de bioensaios toxicológicos, para posterior acompanhamento sistemático da suscetibilidade dos insetos nessas regiões (ffrench-Constant 1999).

No Brasil, os estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo foram responsáveis por 46,4% da produção nacional de grãos. Estes estados participaram com 47% da produção de milho, 21% da produção de arroz, 74,4% da produção de sorgo e 3,2% da produção de trigo, na safra 2004/2005 (CONAB 2005). Apesar da representatividade destes estados na produção nacional de grãos, há grande carência de monitoramento e de informações atualizadas a respeito da resistência à fosfina em populações dos principais insetos-praga de produtos armazenados destas regiões. Dados sobre mecanismos e magnitude de resistência deverão contribuir para nortear ações que possam ser acrescentadas aos programas de manejo de pragas que, por sua vez, também dependem de estudos detalhados sobre detecção e existência de custos adaptativos na ausência do fumigante, que estão intimamente relacionados com a evolução da resistência a inseticidas.

Frente a estas questões, os objetivos do presente trabalho são: (i) detectar e determinar a magnitude de resistência à fosfina em populações de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis*; (ii) aferir a existência de desvantagens adaptativas destas, na ausência da fosfina, correlacionando-se taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), com os níveis de resistência observados nas diferentes populações das três espécies em estudo; e (iii) determinar o possível mecanismo de resistência à fosfina envolvendo a existência de correlação entre produção de CO₂ e níveis de resistência observados nas diferentes populações das três espécies avaliadas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*

Em condições tropicais, os insetos assumem particular importância como pragas de produtos armazenados. A importância relativa das diferentes espécies varia entre regiões e depende do produto armazenado (Champ & Dyte 1976). No Brasil, algumas espécies merecem destaque pela alta capacidade de reprodução, distribuição e alto nível de resistência adquirida aos inseticidas fumigantes (Pacheco *et al.* 1990; Sartori *et al.* 1990; Guedes *et al.* 1996; Lorini & Galley, 1999).

O besouro das farinhas, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), é um inseto-praga cosmopolita de reconhecida importância econômica. É classificado como praga secundária, já que depende do ataque de outras pragas ou de danos de outra origem para se instalar, pois não conseguem romper o tegumento intacto de um grão (Faroni & Silva 2000). Entretanto, apresenta status de praga-chave em produtos armazenados, podendo infestar cereais, farinha, ração animal e outros produtos processados (Boon & Ho 1988; Rees 1996). Em

condições ótimas, por volta de 35 °C e 75% UR, pode multiplicar-se rapidamente, completando o ciclo de ovo a adulto em até 21 dias (Rees 1996).

O besourinho dos cereais, *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae), é a mais importante praga de trigo armazenado atualmente no país (Gonçalves *et al.* 2000; Martinazzo *et al.* 2000; Faroni *et al.* 2004). Tanto os adultos quanto as larvas causam danos diretos aos grãos, penetrando nestes através de perfurações no tegumento e produzindo grande quantidade de resíduos em forma de pó. Assim como *T. castaneum*, é considerada praga-chave em outros cereais como sorgo, milheto, milho e arroz, inclusive em casca (Rees 1996; Faroni *et al.* 2004). É uma espécie que apresenta ampla distribuição, desde os trópicos até regiões temperadas, e encontra condições ideais de vida em regiões com 32 °C e 80% UR. Todavia, pode sobreviver em grãos com teor de umidade menor que 8%, completando o ciclo de ovo a adulto no intervalo de 4 a 10 semanas (Rees 1996; Faroni & Silva 2000).

Oryzaephilus surinamensis (Linnaeus) (Coleoptera: Silvanidae), a terceira espécie em estudo, é praga secundária de cereais e produtos processados, muito comum nas regiões tropicais, estando presente em praticamente todas as unidades armazenadoras (Rees 1996). Em regiões temperadas é considerada uma das mais importantes pragas de armazenamento, pela habilidade de sobreviver em condições adversas, como no inverno, sem proteção ou refúgio (Howe 1956; Rees 1996). Em condições ótimas de desenvolvimento, 30-35 °C e 70-90% UR, seu ciclo de vida é de aproximadamente 22 dias (Rees 1996).

2.2. Fosfina

Diante dos prejuízos causados por estes insetos-praga, o uso de inseticidas é uma prática comum no setor de armazenamento de grãos (Guedes 1990/1991), o que conseqüentemente tem levado ao desenvolvimento de resistência (Bell *et al.* 1977; Dyte & Halliday 1985; Pacheco *et al.* 1990; Zettler & Cuperus 1990; Emery *et al.* 2003; Collins *et al.* 2005). Os inseticidas registrados para produtos armazenados estão divididos em dois grupos: os protetores, que apresentam efeito preventivo e atividade residual, e os fumigantes, que possuem efeito curativo e não exibem atividade residual (Guedes 1990/1991; White & Leesch 1996).

Os inseticidas fumigantes são amplamente utilizados no Brasil para a proteção dos grãos armazenados através da fumigação ou expurgo (Guedes 1990/1991). White & Leesch (1996) definem o processo de fumigação ou expurgo como a técnica empregada para eliminar infestações de insetos pela exposição destes a um gás ou a uma mistura de gases. Os fumigantes utilizados atualmente no controle de insetos em produtos armazenados são a fosfina (PH_3) e o brometo de metila (CH_3Br) (White and Leesch 1996; Bell 2000; Zettler & Arthur 2000; Pratt 2003; Collins *et al.* 2005; SIA 2005). O brometo de metila, que é um agente depletor da camada de ozônio, está sendo banido mundialmente para expurgo de cereais e grãos armazenados (UNEP 1995), e até 2015, no Brasil, terá uso restrito a tratamentos quarentenários e fitossanitários para fins de importação e exportação (BRASIL 2002).

A fosfina, ou fosfeto de hidrogênio (PH_3), é o produto gerado da reação entre o fosfeto de alumínio (AIP) ou de magnésio (Mg_3P_2) e a umidade do ar. Desta reação resultam o PH_3 , que é o princípio ativo que exerce atividade inseticida, e o hidróxido de alumínio, $\text{Al}(\text{OH}_3)$, ou de magnésio, $\text{Mg}(\text{OH})_2$, que constitui o resíduo

inerte da reação, contendo pequeno resíduo de fosfeto. O PH_3 possui molécula apolar, de baixo peso molecular e densidade similar à densidade do ar (1,13:1,00) (Andrei 2003; SIA 2005). Dadas as suas características químicas, a fosfina apresenta elevada capacidade de difusão na massa de grãos e em algumas embalagens plásticas (USDA 1987; White and Leesch 1996; Chaudhry 1997).

Além da alta capacidade de difusão, algumas vantagens da fosfina podem ser destacadas, entre elas: a falta de resíduos tóxicos detectáveis nos alimentos, eficiência a baixas concentrações, facilidade de aplicação, transporte e manuseio (Chaudhry 2000; Pratt 2005). Entretanto, o maior entrave ao uso da fosfina é o elevado período de exposição requerido, que varia de 96 a 288 horas (Andrei 2003; SIA 2005). Além disso, a falta de estruturas com vedação ideal para a fumigação, a alta toxicidade para mamíferos e o desenvolvimento de resistência pelas principais espécies-praga, são outros obstáculos ao uso do PH_3 como fumigante (Guedes 1990/1991; Chaudhry 2000; Pratt 2005).

Desde a década de 80, a fosfina tem se tornado o fumigante mais utilizado no mundo (Bengston *et al.* 1999; Collins *et al.* 2005), sendo utilizado há mais de 35 anos para tratamento de arroz, milho, sorgo, trigo, cevada, sementes e plumas de algodão, amendoim, cacau, café, farinha, farelo de soja, feijão, fumo e alimentos elaborados (SIA 2005; Andrei 2003). Segundo Winks & Waterford (1986) a toxicidade da fosfina aos insetos é influenciada pela temperatura, que atua sobre os processos metabólicos, e pelo período de exposição. A relação entre o período de exposição versus concentração, sob condições herméticas, é condição fundamental para o sucesso de qualquer expurgo (Winks 1984; Winks & Waterford 1986; Bell 2000; Chaudhry 2000; Collins *et al.* 2000; Donahaye 2000).

No Brasil, entretanto, condições ideais de utilização da fosfina não são encontradas na maioria dos armazéns e unidades armazenadoras em operação (Pacheco *et al.* 1990). A situação que perdura há anos no país é a falta de estruturas adequadas à fumigação, onde freqüentemente se observam condições inadequadas de vedação, que permitem escape de gás. Soma-se a isso a falta de treinamento dos operadores, que carecem de técnicas de aplicação adequadas, períodos de exposição insuficientes, dosagens inferiores ou muito superiores às necessárias e condições de sanitização deficitárias das unidades armazenadoras podem ser apontadas como condições básicas para o aumento das falhas de controle, que podem levar ao aumento da freqüência de aplicações e conseqüentemente aumento da pressão de seleção para a resistência a fosfina (Dyte & Halliday 1985; Taylor 1989; Pacheco *et al.* 1990; Hagstrum & Flinn 1996; Herron *et al.* 1996; Adler *et al.* 2000; Bell 2000; Donahaye 2000; Benhalima *et al.*, 2004). Todos estes fatos, aliados ao uso indiscriminado de inseticidas, principalmente os fumigantes, têm apontado a resistência como uma das principais causas do aparecimento de falhas no controle de insetos-praga de produtos armazenados (Chaudhry & Price 1990a; Hagstrum & Flinn 1996; Guedes *et al.* 1998; Adler *et al.* 2000; Bell 2000; Donahaye 2000; Benhalima *et al.* 2004). Benhalima *et al.* (2004) sugerem também o movimento de insetos por comércio internacional de commodities como outro fator provável que contribui para a expansão de resistência a inseticidas fumigantes.

2.3. Resistência a inseticidas

A resistência a inseticidas se traduz no desenvolvimento de mecanismos que são o resultado de alterações no genoma do indivíduo capacitando-o a sobreviver em uma situação desfavorável. A resistência a inseticidas, em determinado organismo,

pode ser manifestada para dois ou mais compostos químicos distintos através da resistência cruzada ou resistência múltipla. A resistência cruzada refere-se aos casos em que um único mecanismo de resistência confere resistência a dois ou mais compostos químicos. Já a resistência múltipla ocorre quando pelo menos dois diferentes mecanismos de resistência coexistentes conferem resistência a dois ou mais compostos químicos. Esses conceitos são de grande importância na determinação de possíveis mecanismos de resistência e na escolha de inseticidas adequados para o controle de populações resistentes (Guedes *et al.* 1995).

2.4. Mecanismos de resistência

De acordo com a divisão proposta por Brattsten *et al.* (1986), os principais mecanismos de resistência a inseticidas são agrupados em comportamentais, fisiológicos e bioquímicos. Este último, de ocorrência mais frequente, provoca níveis mais elevados de resistência.

Os mecanismos comportamentais se resumem a alterações nos órgãos sensoriais e na capacidade de aprendizado do indivíduo, que tem como consequência uma maior habilidade em evitar os efeitos letais de uma substância tóxica (Lockwood 1984; Brattsten *et al.* 1986).

Dentre os mecanismos fisiológicos existem três possibilidades: (i) aumento na excreção dos compostos tóxicos do organismo; (ii) aumento da dificuldade de penetração do inseticida no organismo, que é dependente da estrutura do tegumento, da fase de desenvolvimento do inseto e das características químicas da molécula inseticida (Oppenoorth & Welling 1976; Brattsten *et al.* 1986); e (iii) o isolamento das moléculas inseticidas em estruturas insensíveis ou quimicamente inertes no interior do corpo do inseto (Brattsten *et al.* 1986).

O terceiro mecanismo de resistência a inseticidas é o bioquímico. Segundo Sawicki (1979), este é o mecanismo mais comum de resistência, que ocorre através de dois processos. O primeiro consiste no aumento da destoxificação metabólica por meio da ação de grupos enzimáticos, que têm a função de aumentar a polaridade da molécula inseticida, acarretando uma maior excreção pelo organismo. Os principais grupos enzimáticos destoxificadores são as esterases, as glutathione-S-transferases e o complexo das oxidases microsossomais (Scott 1999). O segundo processo dos mecanismos bioquímicos de resistência corresponde à alteração no sítio de ação da molécula inseticida. Um exemplo são alterações na enzima acetilcolinesterase (AChE), que podem ser responsáveis pela redução de sensibilidade da AChE às substâncias inibidoras da sua ação, conferindo resistência aos inseticidas organofosforados e carbamatos (Guedes *et al.* 1997). Estes dois mecanismos, destoxificação enzimática e alteração do sítio de ação, são os mecanismos mais comuns de resistência a inseticidas em insetos (Scott 1999).

O mecanismo global de resistência à fosfina, em insetos-praga de produtos armazenados, envolve a exclusão de gás via sistema respiratório, processo designado como exclusão ativa (Price 1984). Este mecanismo não age isoladamente; o processo de destoxificação capaz de converter a fosfina em oxiradicais não-tóxicos, antes de atingirem o sítio de ação, é o segundo mecanismo de resistência nestes insetos (Pratt 2003). Estudos genéticos em diferentes espécies-praga de produtos armazenados têm indicado que dois ou mais genes estariam envolvidos com a resistência à fosfina nestas espécies (Chaudhry 1997; Bengston *et al.* 1999; Collins *et al.* 2002).

A indução de narcose pela fosfina é proposta por Winks (1985), Winks & Waterford (1986) e descrita por Chaudhry (1997), como outro mecanismo de resistência dos insetos a altas concentrações deste gás. A observação do efeito

narcótico da fosfina foi descrito por Nakakita (1987), que propôs um modelo para este mecanismo de resistência. Este modelo sugere que, em altas concentrações de fosfina, a narcose é provocada pelo decréscimo da captação de oxigênio, onde a enzima citocromo c oxidase deixa o estado reduzido, tornando-se insensível à redução pela fosfina. Todavia, em baixas concentrações a citocromo c oxidase permanece oxidada pela respiração mitocondrial, o que provoca a redução do PH₃ tornando-o tóxico aos insetos. Ainda segundo Nakakita (1987), formas reativas de oxigênio podem induzir hipoxia, que é uma redução no teor de oxigênio no corpo do inseto, fenômeno que pode responder pela toxicidade da fosfina nestes organismos.

2.5. Mecanismos de ação da fosfina

Ao contrário destas adaptações que levaram os insetos a desenvolverem diferentes mecanismos de resistência, o mecanismo de ação da fosfina sobre estes organismos é uma questão que ainda não é totalmente esclarecida. Hipóteses a respeito desses mecanismos de ação indicam a existência de múltiplos sítios de ação (Price 1980a, b; Chaudhry 1997; Pratt 2005).

Embora a intoxicação pela fosfina leve à produção de uma variedade de respostas fisiológicas em humanos, em cobaias e em insetos, a característica predominante em todos os casos é a inibição de respiração aeróbia (Price 1980a). Qureshi *et al.* (1965) identificaram o sistema respiratório celular como sítio de ação da fosfina, e Bond *et al.* (1967) observaram que o oxigênio é necessário para o fumigante exercer toxicidade sobre os insetos. Bond *et al.* (1969) observaram que baratas expostas a fosfina mantinham seus espiráculos fechados em atmosfera com nitrogênio, afetando a atividade do fumigante e não resultando em mortalidade. Porém, quando as baratas foram expostas à atmosfera com oxigênio, onde os

espiráculos mantiveram-se abertos, observou-se mortalidade. Isto indica claramente que o oxigênio é essencial à toxicidade da fosfina nos insetos, demonstrando que a fosfina não é absorvida pelos insetos na ausência de oxigênio e, conseqüentemente, não exerce atividade inseticida nessa situação.

A interação da fosfina com diferentes complexos enzimáticos, principalmente com as hemeproteínas, incluindo a citocromo c oxidase e as catalases, foram descritas por Chefurka *et al.* (1976), Price (1980a, b); Chaudhry & Price (1990b) e Chaudhry (1997). Nestas enzimas, a fosfina tem ação sobre o oxigênio que está ligado ao grupo heme (Fe^{+2}). Estas hemeproteínas formam um íon-gradiente com uma série de potenciais redox que, através de oxidações reversíveis e reduções, transportam elétrons para uma enzima terminal, a citocromo c oxidase, que catalisa a redução do oxigênio. Este processo é vital para todo organismo aeróbio, que em conjunto com a fosforilação oxidativa, é o processo gerador de energia química, que converte ADP a ATP.

A inibição da fosforilação oxidativa pela fosfina foi descrita por Nakakita *et al.* (1971) com mitocôndrias livres isoladas de ratos, caracterizando-a como um inibidor específico não-competidor de apenas um sítio da cadeia respiratória, a enzima citocromo c oxidase. Posteriormente, estudos respiratórios e espectrais com mitocôndrias isoladas de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae) confirmaram a inibição da cadeia de transporte de elétrons (Nakakita 1976). Esta observação corrobora com a conclusão de Chefurka *et al.* (1976) de que a enzima citocromo c oxidase é o sítio de ação da fosfina.

A redução da atividade das catalases e das peroxidases, que são enzimas antioxidantes defensivas com função de proteção às células aeróbias da toxicidade do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), foi comprovada após o tratamento de *Sitophilus*

granarius (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Curculionidae) (Bond 1963; Bolter & Chefurka 1990), *R. dominica* (Price *et al.* 1982; Price & Dance 1983) e *T. castaneum* (Hobbs & Bond 1989) com fosfina. Bond (1963) relatou que vários fumigantes inibem a atividade das catalases em insetos após exposição *in vivo*, mas o efeito é muito mais pronunciado pelo tratamento com fosfina, que com cianeto de hidrogênio. Entretanto, a inibição das catalases pela fosfina foi questionada por Kono & Fridovich (1982), que atribuem esta inibição ao efeito tóxico da fosfina e não a causa da toxicidade deste fumigante. Price & Dance (1983) sugerem que a inibição *in vivo* é um efeito secundário, ou ainda indireto, da atividade da fosfina e não a causa da redução da atividade das catalases em *R. dominica*. Na realidade, isto provavelmente é o resultado da geração de oxiradicais pela fosfina, processo que inibe a atividade das catalases e das peroxidases (Kono & Fridovich 1982).

Segundo Bolter & Chefurka (1990), o tratamento *in vitro* de mitocôndrias isoladas de insetos com fosfina resultou no incremento dos níveis de peróxido de hidrogênio. Esta evidência, aliada à elevação na atividade das superóxido dismutases (SOD) em *S. granarius*, após tratamento com dosagens consideradas sub-letais de fosfina *in vivo*, levou à hipótese de que a geração de oxiradicais está envolvida com a ação indireta da fosfina. Chaudhry & Price (1992) também observaram redução da atividade das catalases e peroxidases, além de incremento na atividade das SOD em *R. dominica* expostos a fosfina. Estes resultados indicam que a fosfina causa a geração de oxiradicais altamente reativos nos insetos, o que também explica por que o oxigênio é essencial à ação tóxica da fosfina nestes organismos (Bond & Monro 1967; Hobbs & Bond 1989; Pratt 2003).

Atualmente, a hipótese mais aceita sobre o mecanismo de toxicidade da fosfina é baseado na habilidade de geração de espécies de oxigênio reativas que

interferem com a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial. Sabe-se que o PH_3 torna-se oxidado durante a geração de espécies de oxigênio reativas (Pratt 2003).

2.6. Custos adaptativos

A evolução da resistência a inseticidas está intimamente relacionada com a existência de custos adaptativos associados à expressão deste fenômeno. O pleno conhecimento dos mecanismos que regulam estes custos contribui para o desenvolvimento de estratégias de controle que podem vir a ser utilizadas no manejo integrado de pragas. Estes custos geralmente são observados na redução do desempenho reprodutivo dos indivíduos, influenciando sua taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), ocasionando adaptações comportamentais indesejáveis, ou até mesmo debilitando outros processos fisiológicos importantes para manutenção dos indivíduos, que podem afetar até mesmo a sua massa corpórea (Foster *et al.* 2000; Costau *et al.* 2000; 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 os indivíduos susceptíveis, na ausência de inseticidas (Oliveira *et al.* 2005).

Por outro lado, existem na literatura diversos estudos que também demonstram a inexistência de custos fisiológicos associados à resistência a inseticidas em algumas linhagens (Baker *et al.* 1998, Oppert *et al.* 2000; Haubruge & Arnaud 2001; Fragoso *et al.*; 2005). Fragoso *et al.* (2005), utilizando estudos de taxa de desenvolvimento, relatam que em uma das suas populações de *S. zeamais* resistentes a piretróides, ocorre desempenho 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 seu desempenho reprodutivo.

Longstaff (1991) avaliou a fecundidade de três linhagens resistentes a deltametrina e pirimifós-metílico de *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae), e observou maior fecundidade das linhagens resistentes em relação à linhagem suscetível (controle), na presença de grãos tratados com estes inseticidas protetores. White & Bell (1990) observaram maior taxa intrínseca de crescimento de linhagens resistentes de *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae) em relação à linhagem suscetível selecionada durante seis gerações, em trigo tratado com 4, 8 e 16 ppm de malation. A maior viabilidade de ovos, comparado com estirpes suscetíveis, e a redução no custo adaptativo na ausência de *Bacillus thuringiensis* de estirpes resistentes do besouro da batata do Colorado, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae), foi observada em estudos distintos comprovando a existência de custos relacionados à evolução da resistência a inseticidas (Trisyono & Whalon 1997; Alyokhin & Ferro 1999).

2.7. Respirimetria

Apesar do consumo de O₂ (ou alternativamente, a produção de CO₂) representar a soma das demandas energéticas necessárias nos processos fisiológicos dos insetos (Clarke 1993), são poucos os estudos que utilizam a taxa respiratória para demonstrar o mecanismo de resistência a fosfina. A taxa respiratória de insetos em sistemas de armazenamento é importante, pois pode refletir o estado fisiológico destes indivíduos sob diferentes condições proporcionando melhor entendimento dos efeitos característicos de fatores ambientais (Emekci *et al.* 2004).

Alguns fatores bióticos e abióticos podem influenciar a taxa respiratória de insetos (Nation 2002). A importância da temperatura, oxigênio (O₂) e dióxido de carbono (CO₂) na respiração dos insetos e na toxicidade dos fumigantes, como a fosfina, é atualmente reconhecida (Pratt & Reuss 2004). Segundo Chaudhry (1997) e Chaudhry *et al.* (2004), o incremento na taxa metabólica e conseqüente aumento no consumo de oxigênio, ou produção de CO₂, estimulam a atividade do fumigante nos insetos, favorecendo a toxicidade do mesmo. Como a ação da fosfina está diretamente envolvida com a respiração celular, mais especificamente ligada ao desvio do metabolismo normal do oxigênio causando produção de oxirradicais altamente deletérios (Price 1980a; Chaudhry & Price 1990b; Chaudhry 1997; Chaudhry 2000), a mensuração do CO₂ produzido por linhagens suscetíveis e resistentes é um dado ainda indisponível.

Além disso, a respiração é um bom índice de resposta fisiológica dos insetos ao ambiente em que estão expostos (Damcevski *et al.* 1998; Emekci *et al.* 2002; Emekci *et al.* 2004). Guedes *et al.* (2006) observaram que indivíduos resistentes a piretróides e ao DDT, apresentam maiores valores de taxa respirométrica e de massa corpórea do que os apresentados por indivíduos de uma população suscetível. Esta maior atividade respirométrica estaria propiciando aos indivíduos resistentes maior eficiência no acúmulo e mobilização de suas moléculas de reservas, o que lhes possibilitaria a produção dos seus aparatos de defesa contra inseticidas, sem que isto ocasionasse prejuízo para a sua performance reprodutiva.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Populações de insetos

Foram utilizadas neste estudo 12 populações distintas de *T. castaneum*, 10 de *R. dominica* e oito populações de *O. surinamensis*, coletadas nos estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo (Figura 1 e Tabela 1). Estas populações foram multiplicadas a partir dos insetos contidos nas amostras coletadas, e as criações iniciadas e mantidas em laboratório, em frascos de vidro de 1,5 L, em câmaras climáticas tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura (28 ± 2 °C), umidade relativa ($70\pm 5\%$) e escotofase de 24 horas. Como substrato alimentar, foram utilizados grãos de milho semi-triturados (para *T. castaneum* e *O. surinamensis*) ou grãos de trigo inteiros (para *R. dominica*), com 13% de umidade (base úmida), previamente expurgados e mantidos sob refrigeração (-18 °C) para evitar reinfestação.

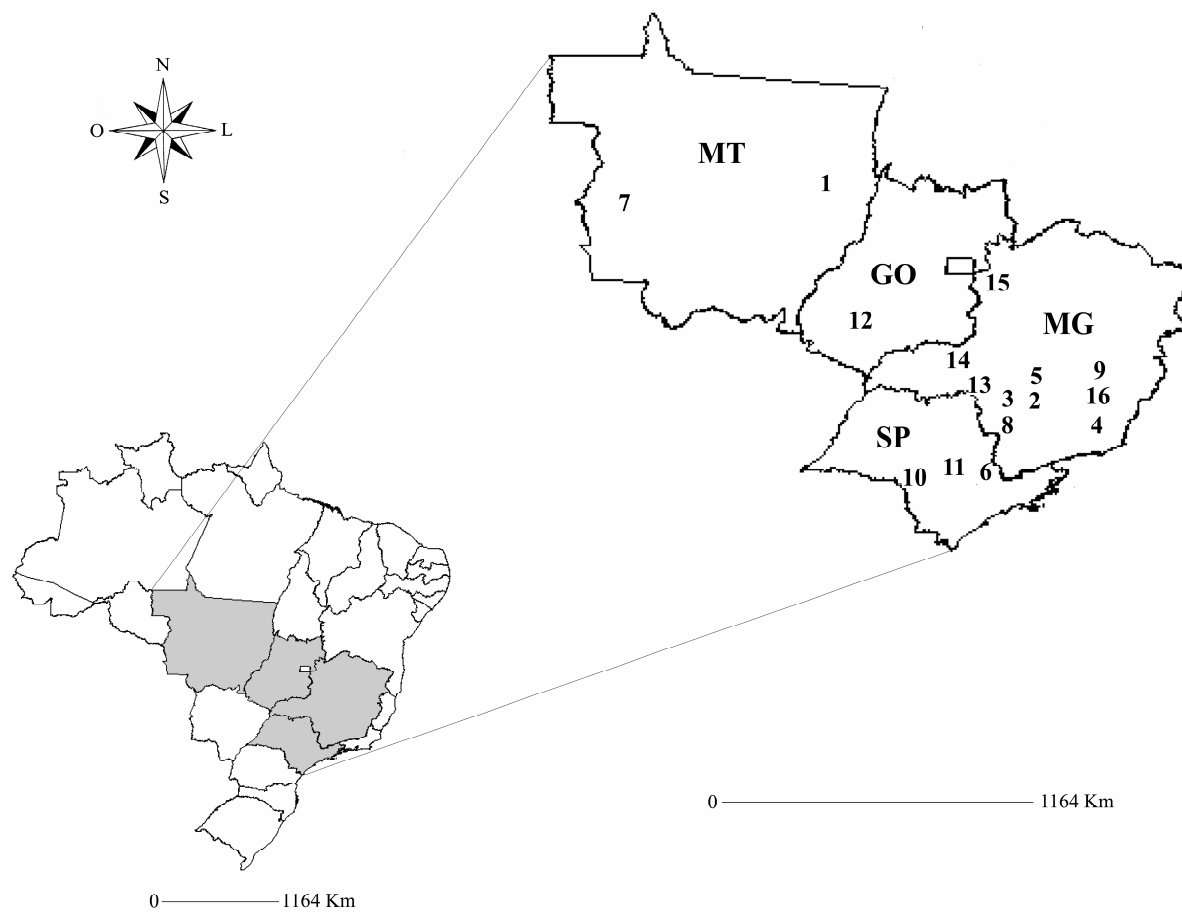


Figura 1—Locais de coleta de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*, nos estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo. Os números apresentados no mapa correspondem aos locais indicados na Tabela 1.

Tabela 1–Códigos, origem, local e época de coleta das populações de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*

Código	Cidade	Estado	Local de coleta	Produto	Mês/Ano	Espécies*
1	Água Boa	MT	Armazém convencional	Milho/Painço	Agosto/2004	T/R
2	Aguanil	MG	PaioI	Milho em Espiga	Maiο/2005	T
3	Alfenas	MG	Silo Metálico	Milho	Abril/2004	T
4	Astolfo Dutra	MG	Indústria de Alimentos	Cereais	Setembro/2005	O
5	Bom Despacho	MG	Silo Metálico/Fábrica de Ração	Milho/Impurezas	Maiο/2005	T/R/O
6	Bragança Paulista	SP	PaioI/Fábrica de Ração	Milho/Ração Suína	Março/2005	T
7	Campos de Júlio	MT	Fundo de Silo Metálico	Milho/Soja/Impurezas	Junho/2004	T/R
8	Guaxupé	MG	Fundo de Silo Metálico	Milho/Impurezas	Agosto/2005	O
9	Nova Era	MG	Armazém convencional	Milho/Impurezas	Maiο/2005	T/R
10	Palmital	SP	Silo Metálico	Milho	Março/2005	R
11	Piracicaba	SP	Laboratório	Milho/Trigo	Agosto/2004	T/R
12	Rio Verde	GO	Silo Metálico	Milho/Soja/Sorgo/Impurezas	Julho/2004	T/R
13	Sacramento	MG	Armazém graneleiro/Sacaria	Milho/Sorgo/Impurezas	Maiο/2005	O
14	Uberlândia	MG	Fundo de Silo Metálico	Milho/Soja/Sorgo/Impurezas	Agosto/2004	T/R/O
15a	Unai	MG	Silo Metálico	Milho	Agosto/2004	T/R/O
15b	Unai II	MG	Silo Metálico/Graneleiro	Milho/Impurezas	Julho/2004	O
16	Viçosa	MG	Laboratório	Milho/Trigo	Março/2004	T/R/O

*T=*Tribolium castaneum*; R=*Rhyzopertha dominica*; O=*Oryzaephilus surinamensis*.

3.2. Bioensaios de detecção e magnitude de resistência

Os bioensaios *in vivo* foram conduzidos conforme método-padrão, recomendado pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (FAO 1975). Este método se baseia na exposição de 50 insetos adultos, em quatro repetições, por um período de 20 horas à concentração discriminante (CD) do gás fumigante. Cada espécie foi exposta a CD de fosfina ($0,03 \text{ mg L}^{-1}$ para *R. dominica*, $0,04 \text{ mg L}^{-1}$ para *T. castaneum* e $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ para *O. surinamensis*) por 20 horas a 25°C , em frascos plásticos (7,0 cm de diâmetro superior e 5,5 cm de diâmetro inferior) cobertos com tela de organza na base e na tampa, com volume de 140 mL. Os insetos adultos, não-sexados, que foram utilizados nos bioensaios apresentavam entre uma e quatro semanas de emergidos.

Após o período de exposição (20 horas) os insetos foram expostos ao ar atmosférico, por cerca de 30 minutos, e transferidos para placas de Petri de 140 mm de diâmetro e 10 mm de altura, com mesma dieta utilizada nas criações. Estas placas foram mantidas por 14 dias, conforme recomendado pela FAO, sendo armazenadas em câmaras tipo B.O.D. a $25\pm 2^\circ\text{C}$. Após este período, foram realizadas as avaliações de mortalidade, contando-se os insetos mortos e vivos.

Posteriormente à exposição de cada população das três espécies à CD foram conduzidos bioensaios de concentração-resposta onde se utilizou uma bateria de cinco a oito concentrações de fosfina, tendo como linha-base a resposta das populações à CD. Após a avaliação de mortalidade, determinou-se a menor concentração onde ocorreu um número maior de mortes (extremo superior), e a maior concentração onde não ocorreram mortes (extremo inferior). Em seguida, foram traçadas novas dosagens intermediárias a estes dois extremos. Para cada bateria de cinco doses testadas e para os testes com as CD foram estabelecidos

tratamentos controle (testemunha) nas mesmas condições dos bioensaios, sem a exposição ao gás fumigante.

O gás fosfina a 86% de pureza (FAO 1975), gerado a partir da reação de uma pastilha de fosfeto de alumínio de 0,6 g (PHOSTEK[®]) com solução aquosa de ácido sulfúrico (5%), foi coletado em um tubo coletor de fosfina de 30,5 cm de comprimento e 3,3 cm de diâmetro, vedado na extremidade superior com septo de borracha e adesivo de silicone (Figura 2A). Este tubo coletor de fosfina foi inserido verticalmente em um frasco Erlenmeyer (vide Figura 2A), de volume igual a 1,0 L, adaptado com saída lateral para a solução ácida. Na parte inferior ao tubo coletor, a pastilha de fosfeto de alumínio foi acondicionada sob um funil invertido, com objetivo de direcionar o gás desprendido da pastilha ao interior do tubo coletor (Figura 2A).

Como câmaras de fumigação, foram utilizados cinco dessecadores de vidro com volume de 6,36, 6,15, 9,05, 8,55 e 8,50 L, respectivamente, adaptados com dosador central, constituído por uma mangueira de silicone de 10 cm de comprimento, vedada na extremidade distal ao dessecador (Figura 2B). A aplicação do gás a partir do gerador de fosfina nas câmaras de fumigação foi realizada por meio de seringas com vedação de gás nos volumes de 0,25, 0,50 e 25 mL (Hamilton Gastight[®] Syringes, Nevada, USA).

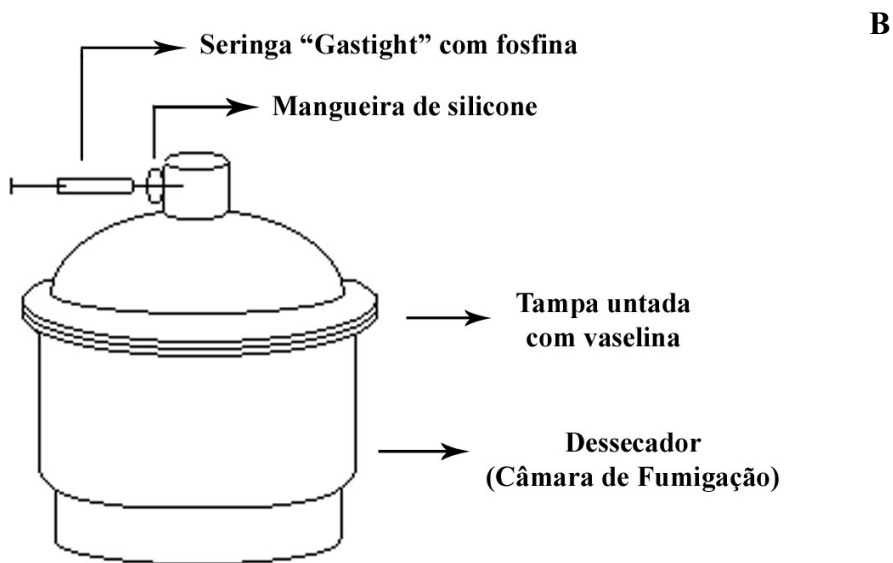
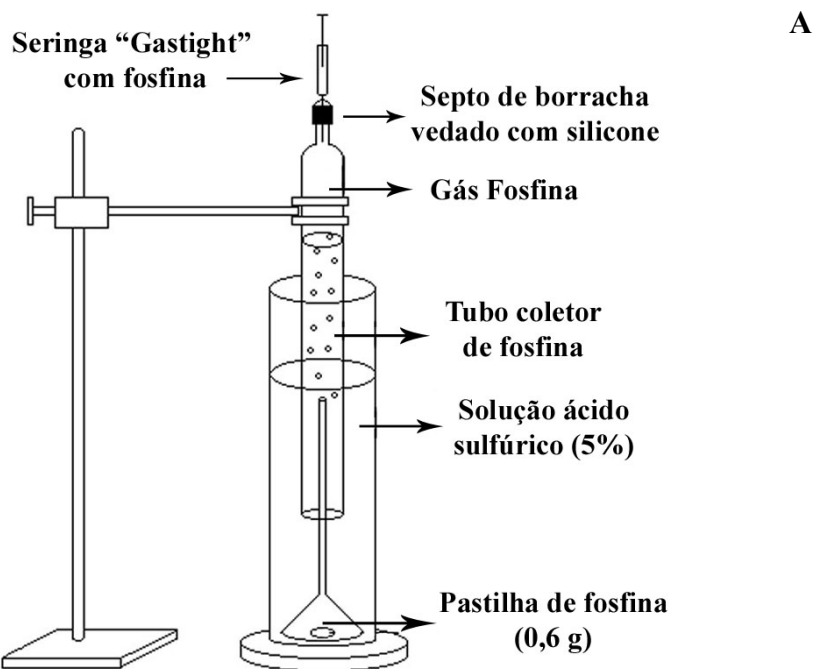


Figura 2—Esquema do gerador de fosfina, tubo coletor e demais partes do aparelho (A) e dessecador utilizado como câmara de fumigação (B).

As concentrações, em mg L^{-1} , nos bioensaios de CD e concentração-resposta, foram calculadas pela equação de Clapeyron (Equação 1).

$$P V = n R T \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

P = Pressão atmosférica, em atm;

V = Volume da mistura de gases, em litros;

n = Número de mol equivalente à relação entre massa e massa molar;

R = Constante de Clapeyron ($0,082 \text{ atm L K}^{-1}$) e;

T = Temperatura em Kelvin.

Para obter a massa de PH_3 em 1,0 L de gás, desdobrando a equação de Clapeyron ($m = PVMM/RT$), admitindo a massa molar da fosfina igual a 34 g mol^{-1} , obtém-se $1,39 \text{ g L}^{-1}$, ou ainda $1,39 \text{ mg mL}^{-1}$ de PH_3 por mL da mistura de gases gerada. Como a pastilha de fosfeto de alumínio gera uma mistura de gases com 86% de fosfina, em 1,0 mL desta mistura de gases tem-se 1,19 mg de PH_3 (fosfina).

Sabendo-se que em 1,0 mL da mistura de gases há 1,19 mg de PH_3 , foram calculadas as concentrações empregadas nos testes de CD e concentração-resposta para confecção das curvas diagnósticas de suscetibilidade a fosfina (Equação 2):

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

C_1 = Concentração de fosfina na mistura de gases gerada ($1,19 \text{ mg mL}^{-1}$);

V_1 = Volume de gás a ser aplicado na câmara de fumigação, em mL;

C_2 = Concentração utilizada nos bioensaios de CD e concentração-resposta, em mg L^{-1} ;

V_2 = Volume da câmara de fumigação utilizada, em mL.

3.3. Massa corpórea

Para a mensuração da massa corpórea dos indivíduos das populações de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis*, foram utilizados 20 insetos adultos de cada população, não-sexados, com tempo de emergência variando entre uma a quatro semanas. Realizou-se a pesagem de cada grupo de 20 insetos utilizando balança analítica, com precisão de 0,0001 g (Sartorius BP 210 D, Gotingen, Alemanha).

3.4. Ensaio respirométrico

Os ensaios de respirometria foram realizados em condições de laboratório utilizando-se um respirômetro do tipo CO₂ Analyser TR 2 (Sable System International, Las Vegas, EUA), e metodologia adaptada de Daniel & Smith (1994), Oliveira *et al.* (2005) e Guedes *et al.* (2006). Para mensuração da taxa respiratória média (produção de CO₂), foram utilizados grupos de 20 insetos adultos, 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 h antes da mensuração da quantidade de CO₂ produzido pelos insetos. Para realizar a varredura de todo o CO₂ produzido no interior de cada câmara, realizou-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 faz com que todas as moléculas de CO₂ produzidas passem por um leitor de infravermelho acoplado ao sistema, que prontamente faz a mensuração (em µmol h⁻¹) do CO₂ produzido pelos insetos e contido no interior de cada câmara. Antes da leitura do CO₂ contido em cada câmara respirométrica, onde estavam confinados os insetos, fazia-se a leitura do CO₂ contido em uma câmara sem insetos em seu interior, o qual pudesse ser descontado do CO₂ quantificado nas câmaras que estavam alojados os insetos. Desta

forma, pôde-se então mensurar a quantidade de CO₂ que realmente era proveniente do metabolismo respiratório dos insetos.

3.5. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)

As unidades experimentais utilizadas para avaliação da taxa instantânea de crescimento (r_i) de cada população, consistiram de placas de Petri de 140 mm de diâmetro e 10 mm de altura. Utilizaram-se, 40 g de grãos inteiros de trigo para *R. dominica* e a mesma quantidade de grãos de milho semi-triturados para *T. castaneum* e *O. surinamensis*, com 13% de umidade (base úmida). As placas, infestadas com 20 insetos adultos com uma a três semanas de emergidos, em 10 repetições, foram armazenadas em câmara climática tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura (25 ± 2 °C), umidade relativa ($70 \pm 5\%$) e escotofase de 24 h. Após 60 dias de armazenamento, as placas foram avaliadas, contando-se o número de insetos vivos e mortos. A taxa instantânea de crescimento de cada população das três espécies em estudo foi calculada através da equação sugerida por Walthall & Stark (1997) (Equação 3):

$$r_i = \frac{\left[\ln \left(\frac{N_f}{N_0} \right) \right]}{\Delta T} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

N_f = Número final de insetos;

N_0 = Número inicial de insetos;

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

3.6. Análises estatísticas

Os resultados de mortalidade obtidos por meio dos bioensaios de concentração discriminante (CD) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguidos de teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o procedimento PROC GLM do programa SAS (SAS Institute, 1989). Os resultados de mortalidade das curvas de concentração-resposta foram submetidos à análise de Probit, segundo Finney (1971), por intermédio do procedimento PROC PROBIT do programa SAS (SAS Institute, 1989), gerando-se assim as curvas de concentração-mortalidade. A razão de resistência (RR) e intervalo de confiança ($p < 0,95$) destas populações foi calculada segundo metodologia proposta por Robertson & Preisler (1992).

Os dados obtidos nos ensaios de respirometria ($\mu\text{molCO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ inseto}^{-1}$), massa corpórea individual (mg) e taxa instantânea de crescimento (r_i) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguidos de teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o procedimento PROC GLM do programa SAS (SAS Institute, 1989). Em seguida, os dados de respirometria, r_i e razão de resistência (DL_{50}) foram submetidos a análises de regressão, utilizando o programa Sigma Plot versão 7.0 (SPSS, 2001).

4. RESULTADOS

4.1. Detecção e magnitude de resistência à fosfina (PH₃)

Foram realizados bioensaios para detecção de resistência a fosfina em 12 populações de *T. castaneum*, 10 de *R. dominica* e oito de *O. surinamensis*, de quatro Estados brasileiros. A mortalidade média dos indivíduos das três espécies na concentração discriminante (CD) de fosfina variou significativamente (*T. castaneum*: F=141,29; g.l.erro=27; $p<0,0001$; *R. dominica*: F=21,31; g.l.erro=22; $p<0,0001$; *O. surinamensis*: F=103,81; g.l.erro=13; $p<0,0001$) entre as populações (Tabela 2). As populações avaliadas não apresentaram mortalidade superior a 90%. Entre as populações de *T. castaneum* a população mais suscetível foi a de Água Boa-MT. Entre as de *R. dominica* a de Campos de Júlio-MT foi a mais suscetível e entre as de *O. surinamensis* a de Unaí-MG foi a mais sensível a fosfina (Tabela 2).

Os resultados de mortalidade, obtidos através dos bioensaios de concentração-resposta, foram utilizados para estimar as CL₅₀ e CL₉₅ das populações destas espécies. As CL₅₀, por sua vez, foram utilizadas para discriminar a população padrão de suscetibilidade de cada espécie. Considerou-se como padrão de

suscetibilidade, para *T. castaneum*, a população de Água Boa–MT, embora apresentasse CL₅₀ semelhante à de Aguanil–MG. No entanto, escolheu-se a de Água Boa–MT por ter apresentado CL₉₅ inferior à população de Aguanil–MG, critério utilizado na determinação do padrão de suscetibilidade (Tabela 3). As CL₅₀ das demais populações foram superiores, quando comparadas à população padrão de suscetibilidade. A razão de resistência para CL₅₀ em *T. castaneum* variou de 1,0 a 186,2 vezes e para CL₉₅ a variação foi inferior, entre 1,6 e 164,1 vezes a população padrão de suscetibilidade (Tabela 3).

Das 10 populações avaliadas de *R. dominica*, o padrão de suscetibilidade foi a de Piracicaba–SP, que apresentou a menor CL₅₀. As CL₅₀ das demais populações avaliadas foram superiores, em relação ao padrão de suscetibilidade (Tabela 4). A razão de resistência à fosfina para CL₅₀ foi de 2,0 a 71,0 vezes e, para a CL₉₅, a variação foi entre 1,2 e 30,4 vezes a população padrão de suscetibilidade (Tabela 4).

A população de Unaí–MG foi o padrão de suscetibilidade entre as oito populações avaliadas de *O. surinamensis*. Observaram-se valores superiores de CL₅₀, quando comparado ao padrão de suscetibilidade, nas outras sete populações avaliadas (Tabela 5). A razão de resistência para CL₅₀ entre as populações resistentes variou de 1,9 a 32,2 vezes e a variação da razão de resistência para a CL₉₅ foi entre 0,5 e 46,5 vezes a população de Unaí–MG, considerada padrão de suscetibilidade.

Os níveis de resistência a fosfina variaram entre as três espécies avaliadas. *Rhizopertha dominica* foi a espécie onde observaram-se maiores valores estimados de CL₅₀ e CL₉₅, quando comparados aos de *T. castaneum* e de *O. surinamensis*. As populações de *T. castaneum* foram as mais sensíveis à fosfina. As populações de *T. castaneum* apresentaram os menores valores de CL₅₀, entre 0,02 e 3,72 mg L⁻¹ e a CL₉₅ entre 0,06 e 9,80 mg L⁻¹ (Tabela 3). As CL₅₀ para *R. dominica* variaram entre

0,08 e 5,86 mg L⁻¹ e as CL₉₅, entre 0,54 e 16,46 mg L⁻¹ (Tabela 4). Para *O. surinamensis* a variação da CL₅₀ foi entre 0,03 e 1,05 mg L⁻¹, e de CL₉₅ de 0,22 a 10,01 mg L⁻¹ (Tabela 5). Os resultados obtidos indicam resistência a fosfina em 10 populações de *T. castaneum*, nove de *R. dominica* e sete de *O. surinamensis*.

4.2. Massa corpórea

A massa corpórea média dos indivíduos das três espécies variou significativamente (*T. castaneum*: F=3,76; g.l.erro=24; $p < 0,003$; *R. dominica*: F=11,61; g.l.erro=20; $p < 0,0001$; *O. surinamensis*: F=5,69; g.l.erro=16; $p < 0,002$) entre as populações (Tabela 6). A variação de massa corporal entre as populações de *T. castaneum* foi de 20%. A população de Nova Era–MG apresentou maior massa corporal, enquanto a de Viçosa–MG a de menor massa (Tabela 6). Entre as populações de *R. dominica*, a variação de massa corpórea foi de 16%. A população que apresentou maior massa corporal foi a de Campos de Júlio–MT e a de Nova Era–MG, a menor (Tabela 6). A variação de massa corporal das populações de *O. surinamensis* foi de 21%. A de Uberlândia–MG apresentou maior massa corporal em relação às demais populações de *O. surinamensis*, enquanto a de Sacramento–MG apresentou o menor valor médio de massa corporal (Tabela 6).

A relação entre massa corpórea e produção de CO₂ foi significativa, indicando aumento na produção de CO₂ com o incremento da massa corpórea dos indivíduos, nas três espécies avaliadas (Figura 3). O mesmo efeito é observado na interação entre taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) e a massa corpórea, ou seja, a taxa instantânea de crescimento é maior com o aumento da massa corpórea, nas três espécies avaliadas (Figura 4). A interação entre massa corpórea

individual e razão de resistência (RR) para CL₅₀, demonstrou relação significativa nas três espécies avaliadas.

4.3. Produção de CO₂

Os dados de produção de CO₂ de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis* revelaram diferença significativa (*T. castaneum*: F=37,24; g.l.erro=102; $p<0,0001$; *R. dominica*: F=3,42; g.l.erro=86; $p<0,001$; *O. surinamensis*: F=9,03; g.l.erro=76; $p<0,0001$) entre as populações de cada espécie (Tabela 7). A variação na produção de CO₂ entre as populações foi superior à observada para massa corporal. Em *T. castaneum* e *R. dominica*, a produção de CO₂ variou 89% e 88%, respectivamente e, nas populações de *O. surinamensis*, cerca de 44%. Para *T. castaneum*, a população de Água Boa–MT apresentou maior produção de CO₂, enquanto a de Bom Despacho–MG foi a população com menor produção de CO₂ (Tabela 7). Dentre as populações de *R. dominica*, destacam-se a de Campos de Júlio–MT com maior produção de CO₂ e a de Palmital–SP, que apresentou menor média de produção de CO₂ entre as populações avaliadas (Tabela 7). Com relação às populações de *O. surinamensis*, a de Guaxupé–MG apresentou maior valor de produção de CO₂, enquanto a de Viçosa–MG apresentou o menor valor médio de produção de CO₂ (Tabela 7). Vale destacar que as populações com menor produção de CO₂ apresentaram maior razão de resistência (RR) para CL₅₀, para as três espécies avaliadas (Figura 5). Este fato confirma a hipótese de que quanto maior o nível de resistência, menor a produção de CO₂ e conseqüentemente menor a taxa respiratória. A redução da taxa respiratória, por sua vez, leva a uma menor inalação do gás fumigante, que passa a não exercer satisfatoriamente sua ação inseticida.

4.4. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)

Com a taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) foi possível avaliar se o desenvolvimento das populações resistentes e suscetíveis apresentou o mesmo comportamento. Houve diferença significativa dos valores de r_i (*T. castaneum*: $F=12,21$; g.l.erro=67; $p<0,0001$; *R. dominica*: $F=10,76$; g.l.erro=72; $p<0,0001$; *O. surinamensis*: $F=4,16$; g.l.erro=72; $p<0,0007$) entre as populações das três espécies avaliadas (Tabela 8). Dentre as populações de *T. castaneum*, a de Uberlândia–MG registrou maior valor de r_i , e a de Rio Verde–GO o menor, com diferença de 86% entre as duas populações (Tabela 8). As populações de *R. dominica* e *O. surinamensis* apresentaram variação de r_i de 88% e 82%, respectivamente. A população de Viçosa–MG registrou maior r_i médio e a de Água Boa–MT o menor, dentre as populações de *R. dominica*. Com relação às populações de *O. surinamensis*, a de Bom Despacho–MG e a de Unaí–MG apresentaram o maior e o menor valor médio de r_i , respectivamente (Tabela 8). Vale salientar que as populações com maiores valores médios de r_i apresentaram menor razão de resistência (RR) para CL_{50} , nas três espécies avaliadas (Figura 6). Este resultado indica pior desempenho reprodutivo das populações resistentes, em relação às populações suscetíveis, o que pode estar relacionado a custo adaptativo devido à resistência à fosfina.

Tabela 2—Mortalidade corrigida de populações de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis* na concentração discriminante (CD) de fosfina (PH₃)

Populações	Mortalidade CD (%±E.P.M. ¹)		
	<i>Tribolium castaneum</i>	<i>Rhyzopertha dominica</i>	<i>Oryzaephilus surinamensis</i>
Água Boa-MT	89,5±7,90 ^a	32,5±9,98 ^{ab}	-
Aguanil-MG	79,8±3,91 ^a	-	-
Bragança Paulista-SP	59,9±7,87 ^b	-	-
Piracicaba-SP	57,7±8,33 ^b	24,0±14,14 ^{bc}	-
Viçosa-MG	13,0±4,24 ^c	21,0±7,75 ^{bc}	3,3±1,31 ^b
Unaí-MG	11,5±6,30 ^c	23,0±12,73 ^{bc}	72,2±7,41 ^a
Alfenas-MG	6,0±1,88 ^c	-	-
Nova Era-MG	4,8±1,17 ^c	12,0±0,00 ^{cd}	-
Campos de Júlio-MT	3,0±1,41 ^c	44,0±3,65 ^a	-
Rio Verde-GO	0,0±0,00 ^c	23,0±1,41 ^{bc}	-
Uberlândia-MG	0,0±0,00 ^c	0,0±0,00 ^d	14,4±5,38 ^b
Bom Despacho-MG	0,0±0,00 ^c	0,0±0,00 ^d	4,1±0,12 ^b
Palmital-SP	-	0,0±0,00 ^d	-
Unaí II-MG	-	-	10,8±0,14 ^b
Sacramento-MG	-	-	10,8±0,82 ^b
Guaxupé-MG	-	-	0,0±0,00 ^b
Astolfo Dutra-MG	-	-	0,0±0,00 ^b

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

¹E.P.M.=Erro padrão da média.

Tabela 3–Suscetibilidade das populações de *Tribolium castaneum* à fosfina (PH₃)

Populações	N ¹	Inclinação ± EPM ²	CL ₅₀ (IF 95%) mg L ⁻¹	RR (IF 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) mg L ⁻¹	RR (IF 95%) CL ₉₅	χ ²	p
Água Boa–MT ³	650	3,46±0,39	0,02 (0,018-0,022)	-	0,06 (0,051-0,075)	-	8,99	0,11
Aguanil–MG	500	2,37±0,22	0,02 (0,017-0,022)	1,0 (0,8-1,2)	0,10 (0,074-0,134)	1,6 (1,1-2,3)	0,94	0,82
Piracicaba–SP	450	3,15±0,27	0,04 (0,036-0,049)	2,1 (1,7-2,5)	0,22 (0,168-0,315)	3,7 (2,6-5,3)	7,17	0,13
Bragança Paulista–SP	400	0,81±0,13	0,05 (0,022-0,087)	2,6 (1,4-5,0)	5,64 (2,464-26,292)	95,6 (31,4-290,5)	4,43	0,22
Nova Era–MG	400	7,92±0,65	0,07 (0,062-0,068)	3,2 (2,9-3,6)	0,10 (0,097-0,115)	1,7 (1,4-2,1)	1,23	0,54
Rio Verde–GO	750	4,35±0,34	0,74 (0,677-0,794)	37,0 (32,4-42,2)	1,77 (1,613-1,986)	29,6 (24,0-36,5)	8,41	0,21
Viçosa–MG	500	2,22±0,22	0,81 (0,717-0,920)	40,6 (34,5-47,8)	4,49 (3,333-6,922)	75,3 (50,3-112,9)	5,79	0,12
Uberlândia–MG	800	3,39±0,36	0,84 (0,713-0,938)	41,9 (35,3-49,7)	2,56 (2,272-3,024)	42,8 (34,0-53,9)	7,31	0,29
Alfenas–MG	650	2,67±0,24	0,96 (0,868-1,050)	47,9 (41,6-55,3)	3,95 (3,201-5,296)	66,2 (48,6-90,3)	4,72	0,19
Unaí–MG	700	2,82±0,30	1,03 (0,838-1,188)	51,4 (42,1-62,9)	3,94 (3,406-4,854)	66,1 (51,3-85,1)	3,74	0,15
Campos de Júlio–MT	850	2,39±0,18	1,25 (1,210-1,294)	62,7 (56,2-70,0)	2,09 (1,980-2,246)	35,0 (28,8-42,5)	2,28	0,68
Bom Despacho–MG	650	3,91±0,26	3,72 (3,486-3,989)	186,2 (164,3-211,0)	9,80 (8,543-11,677)	164,1 (128,9-208,9)	3,99	0,14

¹N=Número total de insetos por bioensaio; ²E.P.M.=Erro padrão da média; ³População padrão de suscetibilidade.

CL=Concentração letal; IF 95%=Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; RR=Razão de resistência para CL₅₀ e CL₉₅; χ²=Qui-quadrado; p=Probabilidade.

Tabela 4–Suscetibilidade das populações de *Rhyzopertha dominica* à fosfina (PH₃)

Populações	N ¹	Inclinação ± E.P.M. ²	CL ₅₀ (IF 95%) mg L ⁻¹	RR (IF 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) mg L ⁻¹	RR (IF 95%) CL ₉₅	χ ²	p
Piracicaba–SP ³	700	2,01±0,15	0,08 (0,070-0,095)	-	0,54 (0,440-0,706)	-	4,39	0,49
Viçosa–MG	1000	1,41±0,10	0,17 (0,143-0,191)	2,0 (1,6-2,5)	2,44 (1,773-3,662)	4,5 (2,9-7,0)	1,39	0,71
Campos de Júlio–MT	450	3,22±0,35	0,20 (0,179-0,214)	2,4 (2,0-2,8)	0,63 (0,503-0,890)	1,2 (0,8-1,7)	5,81	0,12
Nova Era–MG	600	1,34±0,10	0,23 (0,186-0,277)	2,7 (2,1-3,5)	3,82 (2,456-6,848)	7,1 (4,0-12,4)	6,36	0,27
Água Boa–MT	1000	1,38±0,09	0,34 (0,295-0,394)	4,1 (3,4-5,1)	5,29 (3,837-7,940)	9,8 (6,3-15,2)	5,00	0,29
Rio Verde–GO	650	2,12±0,15	2,40 (2,128-2,703)	29,0 (24,0-35,2)	14,33 (11,167-19,807)	26,5 (18,2-38,4)	5,79	0,12
Bom Despacho–MG	450	4,33±0,42	3,23 (3,002-3,461)	39,2 (33,2-46,2)	7,75 (6,722-9,500)	14,3 (10,7-19,1)	5,84	0,12
Unai–MG	650	5,74±0,45	3,84 (3,634-4,021)	46,5 (39,7-54,4)	7,42 (6,845-8,241)	13,6 (10,6-17,6)	6,12	0,11
Uberlândia–MG	650	2,70±0,20	4,05 (3,648-4,467)	49,1 (40,9-58,8)	16,46 (13,725-20,809)	30,4 (22,1-41,6)	9,11	0,17
Palmital–SP	650	3,84±0,30	5,86 (5,490-6,288)	71,0 (60,2-83,6)	15,69 (13,354-19,473)	28,9 (21,3-39,1)	5,09	0,41

¹N=Número total de insetos por bioensaio; ²E.P.M.=Erro padrão da média; ³População padrão de suscetibilidade.

CL=Concentração letal; IF 95%=Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; RR=Razão de resistência para CL₅₀ e CL₉₅; χ²=Qui-quadrado; p=Probabilidade.

Tabela 5–Suscetibilidade das populações de *Oryzaephilus surinamensis* à fosfina (PH₃)

Populações	N ¹	Inclinação ± E.P.M. ²	CL ₅₀ (IF 95%) mg L ⁻¹	RR (IF 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) mg L ⁻¹	RR (IF 95%) CL ₉₅	χ ²	p
Unaí–MG ³	1000	2,01±0,10	0,03 (0,029-0,037)	-	0,22 (0,180-0,265)	-	5,17	0,16
Uberlândia–MG	450	6,11±0,70	0,06 (0,057-0,065)	1,9 (1,6-2,1)	0,11 (0,103-0,132)	0,5 (0,4-0,7)	7,20	0,13
Unaí II–MG	850	4,96±0,33	0,29 (0,274-0,299)	8,8 (7,7-9,9)	0,62 (0,561-0,691)	2,8 (2,3-3,6)	8,50	0,20
Sacramento–MG	850	2,02±0,12	0,33 (0,292-0,371)	10,1 (8,5-11,9)	2,15 (1,745-2,779)	10,0 (7,4-13,6)	5,90	0,12
Viçosa–MG	750	3,70±0,26	0,58 (0,538-0,618)	17,7 (15,4-20,3)	1,61 (1,432-1,876)	7,5 (5,9-9,5)	5,12	0,16
Bom Despacho–MG	700	3,17±0,21	0,82 (0,757-0,893)	25,1 (21,7-29,0)	2,71 (2,281-3,378)	12,6 (9,5-16,6)	5,17	0,16
Astolfo Dutra–MG	600	2,41±0,21	0,93 (0,827-1,040)	28,6 (24,3-33,7)	4,51 (3,611-6,115)	20,9 (15,1-29,0)	5,65	0,23
Guaxupé–MG	400	1,68±0,23	1,05 (0,857-1,255)	32,2 (25,8-40,2)	10,01 (6,342-21,469)	46,5 (25,2-86,0)	0,28	0,87

¹N=Número total de insetos por bioensaio; ²E.P.M.=Erro padrão da média; ³População padrão de suscetibilidade.

CL=Concentração letal; IF 95%=Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; RR=Razão de resistência para CL₅₀ e CL₉₅; χ²=Qui-quadrado; p=Probabilidade.

Tabela 6—Massa corpórea individual das populações de *Tribolium castaneum*,
Rhyzopertha dominica e *Oryzaephilus surinamensis*

Populações	Massa Corpórea Individual ¹ (mg) ± E.P.M. ²		
	<i>Tribolium castaneum</i>	<i>Rhyzopertha dominica</i>	<i>Oryzaephilus surinamensis</i>
Nova Era—MG	2,11 ± 0,107 ^a	1,19 ± 0,021 ^e	-
Bom Despacho—MG	2,06 ± 0,044 ^a	1,23 ± 0,053 ^{de}	0,49 ± 0,046 ^{bc}
Uberlândia—MG	2,02 ± 0,107 ^a	1,26 ± 0,021 ^{cde}	0,58 ± 0,010 ^a
Rio Verde—GO	2,01 ± 0,042 ^a	1,26 ± 0,035 ^{cde}	-
Aguanil—MG	1,98 ± 0,026 ^a	-	-
Bragança Paulista—SP	1,97 ± 0,079 ^a	-	-
Campos de Júlio—MT	1,96 ± 0,114 ^{ab}	1,41 ± 0,017 ^a	-
Água Boa—MT	1,94 ± 0,117 ^{ab}	1,29 ± 0,042 ^{bcde}	-
Piracicaba—SP	1,93 ± 0,076 ^{ab}	1,35 ± 0,049 ^{abc}	-
Alfenas—MG	1,92 ± 0,142 ^{ab}	-	-
Unai—MG	1,87 ± 0,113 ^{ab}	1,28 ± 0,006 ^{bcde}	0,49 ± 0,031 ^{bc}
Viçosa—MG	1,69 ± 0,076 ^b	1,37 ± 0,027 ^{ab}	0,50 ± 0,017 ^{abc}
Palmital—SP	-	1,31 ± 0,036 ^{bcd}	-
Unai II—MG	-	-	0,55 ± 0,057 ^{ab}
Guaxupé—MG	-	-	0,48 ± 0,015 ^{bc}
Astolfo Dutra—MG	-	-	0,46 ± 0,015 ^{bc}
Sacramento—MG	-	-	0,46 ± 0,017 ^c

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

¹Valores médios de massa corpórea de três repetições, dividido pelo número de insetos da amostra (n=20).

²E.P.M.=Erro padrão da média.

Tabela 7–Produção de CO₂ das populações de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*

Populações	Produção de CO ₂ (μmol h ⁻¹ inseto ⁻¹) ± E.P.M. ¹		
	<i>Tribolium castaneum</i>	<i>Rhyzopertha dominica</i>	<i>Oryzaephilus surinamensis</i>
Água Boa–MT	0,102 ± 0,009 ^a	0,035 ± 0,005 ^{cd}	-
Aguanil–MG	0,084 ± 0,019 ^{ab}	-	-
Viçosa–MG	0,071 ± 0,022 ^{bc}	0,058 ± 0,007 ^{ab}	0,020 ± 0,005 ^c
Bragança Paulista–SP	0,069 ± 0,018 ^{bc}	-	-
Piracicaba–SP	0,063 ± 0,014 ^{cd}	0,043 ± 0,008 ^{bcd}	-
Campos de Júlio–MT	0,061 ± 0,012 ^{cde}	0,069 ± 0,007 ^a	-
Unaí–MG	0,059 ± 0,010 ^{cde}	0,059 ± 0,005 ^{ab}	0,022 ± 0,005 ^c
Alfnas–MG	0,059 ± 0,012 ^{cde}	-	-
Nova Era–MG	0,053 ± 0,007 ^{cde}	0,055 ± 0,035 ^{abc}	-
Rio Verde–GO	0,049 ± 0,005 ^{de}	0,050 ± 0,006 ^{abcd}	-
Uberlândia–MG	0,044 ± 0,005 ^e	0,033 ± 0,006 ^d	0,023 ± 0,009 ^c
Bom Despacho–MG	0,011 ± 0,002 ^f	0,058 ± 0,005 ^{ab}	0,024 ± 0,005 ^c
Palmital–SP	-	0,008 ± 0,001 ^e	-
Guaxupé–MG	-	-	0,036 ± 0,007 ^a
Astolfo Dutra–MG	-	-	0,025 ± 0,006 ^{bc}
Unaí II–MG	-	-	0,024 ± 0,007 ^c
Sacramento–MG	-	-	0,034 ± 0,008 ^{ab}

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

¹E.P.M.=Erro padrão da média.

Tabela 8–Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) das populações de *Tribolium castaneum*, *Rhyzopertha dominica* e *Oryzaephilus surinamensis*

Populações	Taxa Instantânea de Crescimento (r_i) \pm E.P.M. ¹		
	<i>Tribolium castaneum</i>	<i>Rhyzopertha dominica</i>	<i>Oryzaephilus surinamensis</i>
Uberlândia–MG	0,028 \pm 0,008 ^a	0,024 \pm 0,008 ^b	0,022 \pm 0,011 ^{bc}
Água Boa–MT	0,024 \pm 0,006 ^{ab}	0,006 \pm 0,003 ^c	-
Campos de Júlio–MT	0,020 \pm 0,008 ^{abc}	0,020 \pm 0,007 ^b	-
Unaí–MG	0,019 \pm 0,008 ^{abc}	0,014 \pm 0,002 ^{bc}	0,008 \pm 0,010 ^c
Piracicaba–SP	0,017 \pm 0,007 ^{bcd}	0,022 \pm 0,008 ^b	-
Bragança Paulista–SP	0,016 \pm 0,005 ^{bcde}	-	-
Viçosa–MG	0,012 \pm 0,005 ^{cdef}	0,048 \pm 0,009 ^a	0,040 \pm 0,007 ^a
Alfenas–MG	0,012 \pm 0,004 ^{cdef}	-	-
Aguanil–MG	0,007 \pm 0,004 ^{def}	-	-
Nova Era–MG	0,006 \pm 0,003 ^{ef}	-	-
Rio Verde–GO	0,004 \pm 0,001 ^f	0,016 \pm 0,007 ^{bc}	-
Bom Despacho–MG	-	0,017 \pm 0,005 ^{bc}	0,044 \pm 0,007 ^a
Guaxupé–MG	-	-	0,038 \pm 0,013 ^a
Sacramento–MG	-	-	0,034 \pm 0,006 ^{ab}
Astolfo Dutra–MG	-	-	0,021 \pm 0,009 ^{bc}
Unaí II–MG	-	-	0,018 \pm 0,006 ^c

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

¹E.P.M.=Erro padrão da média.

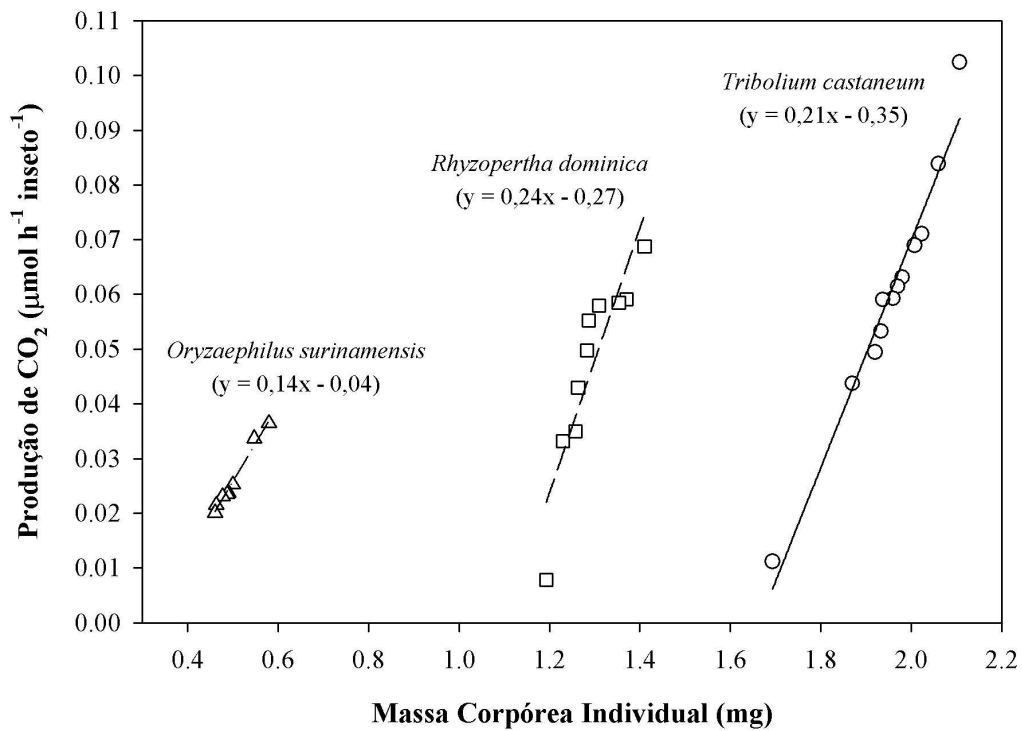


Figura 3—Relação entre produção de CO₂ (μmol h⁻¹ inseto⁻¹) e massa corpórea individual (mg) para *Tribolium castaneum* (○) ($r^2=0,96$; $F=262,86$; $p<0,0001$; g.l.=11), *Rhyzopertha dominica* (□) ($r^2=0,82$; $F=36,95$; $p<0,0003$; g.l.=9) e *Oryzaephilus surinamensis* (△) ($r^2=0,98$; $F=368,21$; $p<0,0001$; g.l.=7).

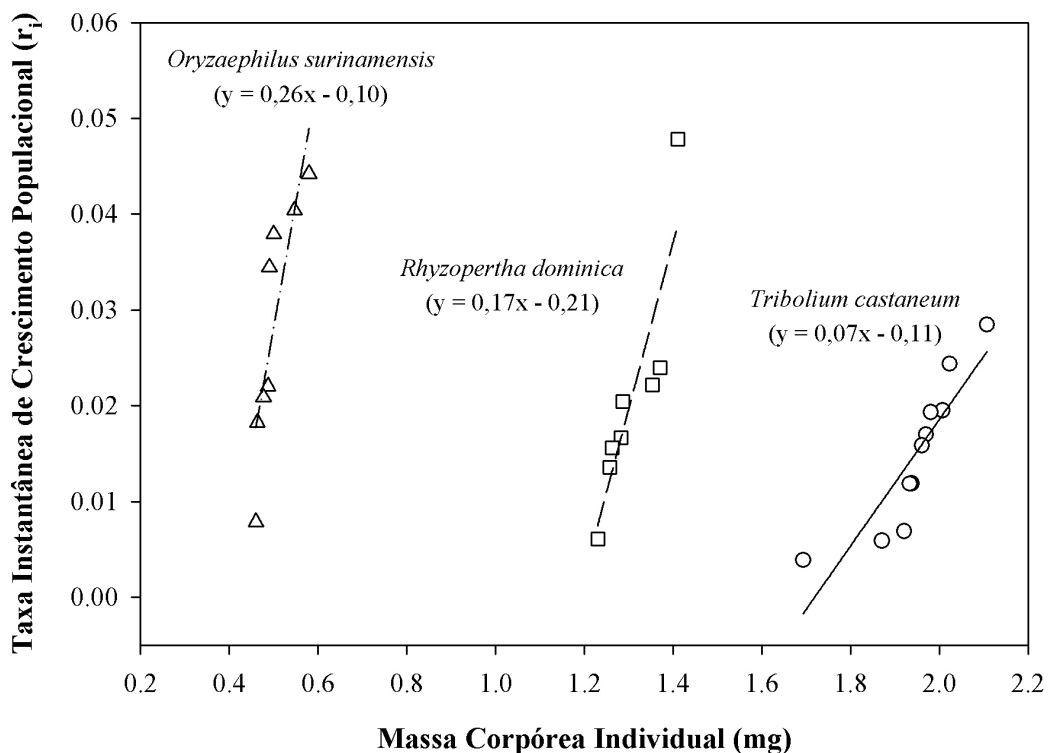


Figura 4 – Relação entre taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) e massa corpórea individual (mg) para *Tribolium castaneum* (○) ($r^2=0,78$; $F=32,34$; $p<0,0003$; g.l.=10), *Rhyzopertha dominica* (□) ($r^2=0,80$; $F=24,53$; $p<0,002$; g.l.=7) e *Oryzaephilus surinamensis* (△) ($r^2=0,73$; $F=16,54$; $p<0,006$; g.l.=7)

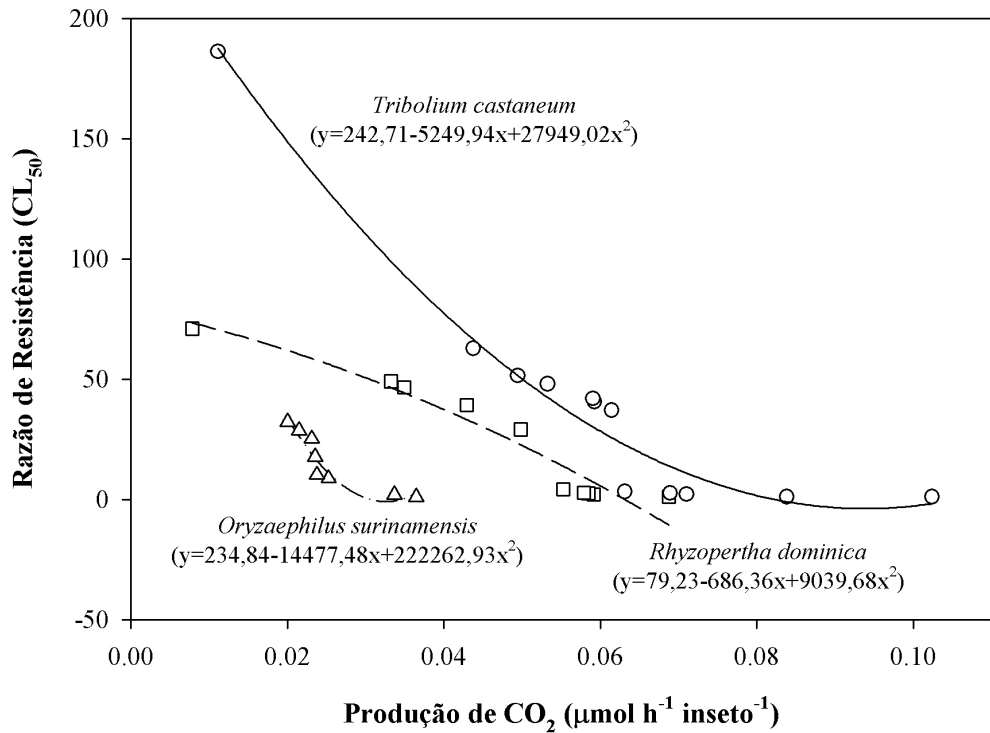


Figura 5 – Relação entre variações na razão de resistência a fosfina para CL_{50} e produção de CO_2 ($\mu\text{mol h}^{-1}$ inseto $^{-1}$) para *Tribolium castaneum* (○) ($r^2=0,97$; $F=125,03$; $p<0,0001$; g.l.=11), *Rhyzopertha dominica* (□) ($r^2=0,93$; $F=45,27$; $p<0,0001$; g.l.=9) e *Oryzaephilus surinamensis* (△) ($r^2=0,91$; $F=24,21$; $p<0,002$; g.l.=7).

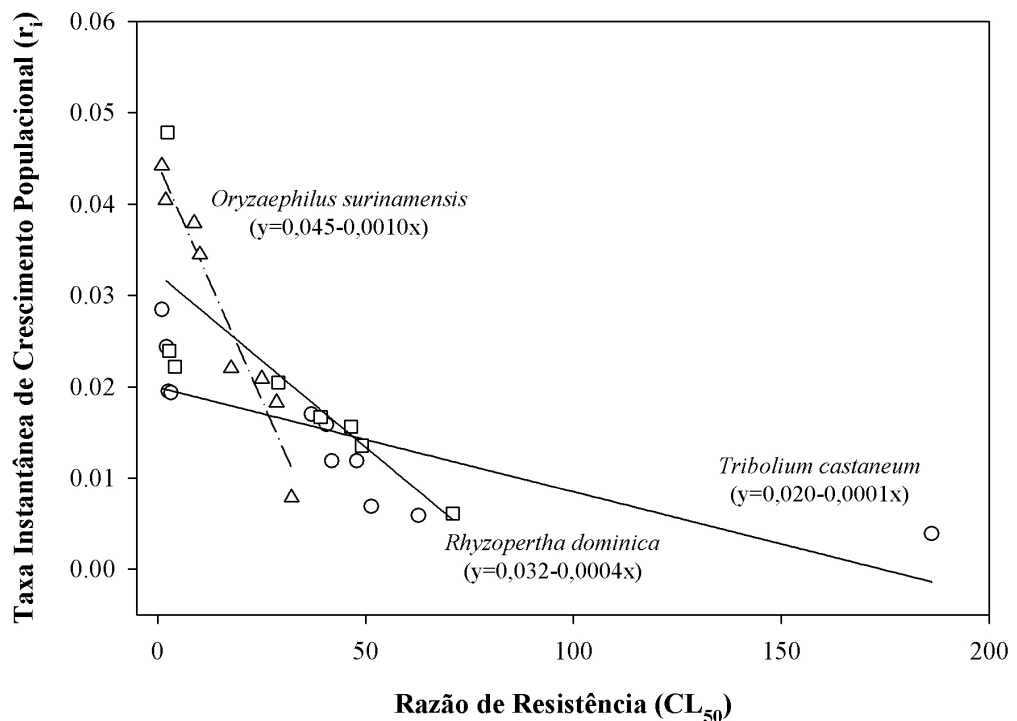


Figura 6 – Relação entre variações na razão de resistência para CL_{50} e taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) para *Tribolium castaneum* (○) ($r^2=0,60$; $F=13,49$; $p<0,005$; g.l.=11), *Rhyzopertha dominica* (□) ($r^2=0,62$; $F=9,87$; $p<0,02$; g.l.=7) e *Oryzaephilus surinamensis* (△) ($r^2=0,95$; $F=115,82$; $p<0,0001$; g.l.=7).

5. DISCUSSÃO

Os primeiros casos de resistência a fosfina em insetos-praga de produtos armazenados foram registrados a partir da década de 70 (Champ & Dyte 1976; Collins *et al.* 2005). No período de 1972/1973 a FAO realizou uma prospecção mundial sobre a suscetibilidade das pragas de grãos armazenados a diferentes inseticidas, entre eles a fosfina. De 82 países avaliados, 41% apresentaram populações resistentes, enquanto que das 849 amostras avaliadas, em cerca de 10% observaram-se insetos resistentes a fosfina (Champ & Dyte 1976). Entretanto, após este levantamento já foram registradas 13 espécies de insetos-praga de produtos armazenados comprovadamente resistentes à fosfina, em 45 países (Subramanyan & Hagstrum 1996; Chaudhry 2000).

No Brasil, a prospecção mundial realizada pela FAO entre 1972/1973 não registrou populações resistentes à fosfina. Após este levantamento mundial, a escassez de dados a respeito da resistência à fosfina no Brasil perdurou até a década de 90, quando novos trabalhos registraram populações de *Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum* e *Cryptolestes* spp. resistentes à

fosfina, provenientes dos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Goiás, Acre e Rondônia (Pacheco *et al.* 1990; Sartori *et al.* 1990).

Neste estudo detectou-se resistência a fosfina em 10 populações de *T. castaneum*, nove de *R. dominica* e sete de *Oryzaephilus surinamensis* provenientes dos estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo. Nos estados de Mato Grosso e Minas Gerais ainda não existiam relatos de resistência à fosfina, ao contrário dos estados de Goiás e de São Paulo; além disso, este estudo é o primeiro relato de populações de *O. surinamensis* resistentes à fosfina no Brasil. Somando-se aos estudos já existentes (Pacheco *et al.* 1990; Sartori *et al.* 1990), estes resultados indicam que a resistência à fosfina é aparentemente difundida em insetos-praga de produtos armazenados no Brasil.

Os resultados obtidos de detecção de resistência à fosfina indicam elevados níveis de resistência, com aproximadamente 87% das populações avaliadas, das três espécies, contendo indivíduos resistentes. Algumas populações de *T. castaneum*, como as de Bom Despacho–MG e Campos de Júlio–MT, de *R. dominica*, como as de Palmital–SP e Uberlândia–MG e a população de *O. surinamensis* de Guaxupé–MG, constituem um grupo à parte das demais populações, dados os níveis elevados de resistência a fosfina apresentados. Estas populações apresentaram valores de CL_{95} muito superiores à dose comercial de fosfina recomendada pelos fabricantes, que é de 1,0 a 3,0 g m⁻³ (=1,0 a 3,0 mg L⁻¹) (Andrei 2003).

A presença de altos níveis de resistência em populações recentemente coletadas a campo, que é o caso das populações avaliadas neste estudo, indica que os indivíduos destas populações estiveram sob alta pressão de seleção, provavelmente por muitos anos (Benhalima *et al.* 2004). Além disso, Fragoso *et al.* (2003) e Benhalima *et al.* (2004) sugerem o movimento de insetos por comércio de

commodities, tanto internacional quanto nacional, outro fator provável que contribui à expansão da resistência a inseticidas.

O mecanismo fisiológico de resistência a fosfina não é completamente elucidado. Entretanto, foi comprovado que o principal mecanismo de resistência ao PH₃ está associado com a “exclusão ativa” deste gás (Price 1981, 1984; Chaudhry & Price 1990a). Este mecanismo de adaptação, desenvolvido pelos insetos-praga de produtos armazenados, consiste na excreção de compostos tóxicos do organismo que envolve a exclusão de gás via sistema respiratório, aliado à redução na captação/absorção destes compostos (Price 1984). Os resultados de produção de CO₂ obtidos neste estudo indicam redução na produção de CO₂ com o aumento da razão de resistência para CL₅₀, nas três espécies avaliadas. Estes resultados indicam que a redução da taxa respiratória dos indivíduos resistentes, em relação aos indivíduos suscetíveis, está relacionada ao mecanismo de resistência a fosfina destes insetos, que envolve a redução da inalação ou absorção do fumigante pelos insetos resistentes.

Com o objetivo de reforçar a hipótese de que o mecanismo de resistência dos insetos-praga de produtos armazenados está relacionado à menor captação/absorção do gás fumigante, foram desenvolvidos estudo com a utilização de fumigantes radioativos “radiotracers”. Estes estudos indicam que o mecanismo de resistência à fosfina está provavelmente relacionado à redução da captação do PH₃ (Chaudhry 1997), o que já foi demonstrado em *R. dominica* (Price 1981, 1984; Chaudhry & Price 1990a), *T. castaneum* (Nakakita & Kuroda 1986), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae) (Price & Dance 1983) e *O. surinamensis* (Price & Dance 1983). De acordo com Benhalima *et al.* (2004), a exposição de populações de *R. dominica*, *S. oryzae* e *T. castaneum* a [³²P]-PH₃

mostrou que a absorção de $[^{32}\text{P}]$ pelas linhagens resistentes, das três espécies avaliadas, foi muito menor em relação às linhagens suscetíveis. Sob condições similares de exposição ($0,7 \text{ g m}^{-3}$ de $[^{32}\text{P}]\text{-PH}_3$ por 5 horas a $25 \text{ }^\circ\text{C}$), a linhagem suscetível de *T. castaneum* absorveu $60,08 \text{ mg g}^{-1}$ de inseto, enquanto a linhagem resistente absorveu apenas $8,32 \text{ mg g}^{-1}$ de inseto.

A análise da relação entre taxa respiratória e razão de resistência para CL_{50} apresentada pelas populações das três espécies avaliadas, evidenciou diferença na produção de CO_2 , em decorrência de alterações na suscetibilidade. Assim, constatou-se que os indivíduos resistentes apresentam menores taxas respiratórias em relação aos indivíduos suscetíveis. Este fato sugere que, além do mecanismo de resistência destes indivíduos estar relacionado à atividade respiratória, a expressão da resistência nas populações avaliadas neste estudo está inversamente relacionada à taxa respiratória. Portanto, a menor taxa respiratória dos indivíduos resistentes, neste caso, parece não estar associada a custo adaptativo, como proposto em estudos recentes de Fragoso *et al.* (2003), Oliveira *et al.* (2005) e Guedes *et al.* (2006) com populações de *S. zeamais* resistentes a piretróides.

A massa corpórea variou significativamente entre as populações resistentes e sensíveis a fosfina, nas três espécies avaliadas. A relação entre massa corpórea e razão de resistência para a DL_{50} foi significativa, indicando decréscimo da razão de resistência com o aumento da massa corpórea, nas três espécies avaliadas. Com a mensuração da massa corpórea dos indivíduos das diferentes populações das três espécies avaliadas, buscou-se avaliar a existência de relação entre os níveis de resistência das populações e a massa corpórea dos indivíduos, pois o aumento de massa corporal incorre em maior quantidade de energia armazenada, resultando na alocação de energia para o desenvolvimento do indivíduo, reprodução e para a

manutenção de mecanismos de resistência a inseticidas. Portanto, esperava-se que as populações resistentes fossem as que possuísem maiores reservas energéticas e, conseqüentemente, maior massa corpórea. Contudo, o resultado obtido neste estudo foi contrário ao esperado. A menor massa corpórea das populações resistentes está relacionada à menor taxa respiratória destas populações que está diretamente ligada a menor entrada/absorção do fumigante (fosfina) acarretando maiores níveis de resistência. O processo de redução da taxa respiratória, indicado como o principal mecanismo protetor aos inseticidas fumigantes, requer um gasto energético extra aos indivíduos resistentes. Assim, adaptações a ambientes desfavoráveis (p.e. resistência a inseticidas) demandam grandes mudanças no fenótipo (Coustau *et al.* 2000), que acarretam em maior gasto energético pelas linhagens resistentes, com isso estas linhagens apresentam custo de manutenção das defesas do organismo, indicando, provavelmente menores reservas de energia e conseqüentemente menor massa corpórea.

Neste estudo, a massa corpórea também foi relacionada à produção de CO₂ e a taxa instantânea de crescimento (r_i). O aumento da massa corpórea dos indivíduos das três espécies avaliadas acarreta aumento tanto na produção de CO₂ quanto na taxa instantânea de crescimento populacional (r_i). A maior massa corpórea de um indivíduo pode indicar maior eficiência no armazenamento de reservas energéticas em relação a indivíduos com menor massa corpórea. Guedes *et al.* (2006) sugerem que a maior massa corpórea de uma população de *S. zeamais* resistente a piretróides e organofosforados, proveniente de Jacarezinho-PR, é provavelmente devida à maior quantidade de energia armazenada por estes indivíduos, que foi mensurada pela maior área de trofócitos (corpo gorduroso) observada nos indivíduos desta população, em relação à população utilizada como padrão de suscetibilidade. A

maior quantidade de reservas energéticas armazenadas é, provavelmente, mais eficientemente mobilizada quanto maior a taxa respiratória destes indivíduos, para manutenção individual, reprodução, vôo e adaptação a ambientes desfavoráveis (p.e. resistência a inseticidas) (Nation 2002; Guedes *et al.* 2006). O aumento na produção de CO₂ com o aumento da massa corporal é diretamente proporcional. Além disso, o aumento na taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) com o aumento da massa corporal indica provavelmente, que a maior quantidade de reservas, devida a maior massa corpórea, devem ser alocadas principalmente em reprodução (Nation 2002).

Os resultados de taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), das três espécies avaliadas, obtidos neste estudo, foram correlacionados com a razão de resistência para CL₅₀. Ocorreu redução da razão de resistência para DL₅₀ com o aumento da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), nas três espécies avaliadas. O fato das populações resistentes apresentarem menores valores médios de r_i em relação às populações suscetíveis provê suporte para a hipótese de que a alocação de energia para a produção dos mecanismos de defesa contra inseticidas nos indivíduos resistentes estaria prejudicando seu desempenho reprodutivo, pois por apresentam sistema respiratório menos eficiente às linhagens resistentes teriam menor fecundidade (Subramanyam & Hagstrum 1986; White & Bell 1990; Longstaff 1991) e menor dimensão corporal (massa corpórea). O pior desempenho reprodutivo das linhagens resistentes, avaliadas neste estudo, provavelmente indica a existência de custo adaptativo devido à resistência a fosfina. White & Bell (1990) e Longstaff (1991) observaram que linhagens resistentes de *S. oryzae* e *C. ferrugineus*, respectivamente, apresentaram menor fecundidade e menor taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) em relação às linhagens suscetíveis. Fragoso *et al.*

(2005), utilizando estudos de crescimento populacional, também constataram que, mesmo isoladas e sob condições ideais de desenvolvimento, uma população de *Sitophilus zeamais* resistente a piretróides e ao malation, proveniente de Juiz de Fora–MG, possuía pior desempenho demográfico, quando comparada com a população susceptível (Bragança Paulista–SP), utilizada no estudo. De acordo com Subramanyam & Hagstrum (1986), insetos resistentes podem apresentar redução de fecundidade, decréscimo de sobrevivência de estágios imaturos e adultos, ou prolongado tempo de desenvolvimento de certos estágios de vida em relação aos insetos suscetíveis. 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.

Diversos estudos sobre a evolução da resistência associam este fenômeno a um custo adaptativo ao indivíduo (White & Bell 1990; Longstaff 1991; Haubruge & Arnaud 2001; Fragoso *et al.* 2005; Guedes *et al.* 2006). Nestes casos, estratégias de manejo da resistência que são baseadas na interrupção da fumigação com fosfina por determinado tempo, visando ao restabelecimento da suscetibilidade e eventual reintrodução do fumigante, apresentam boa perspectiva de sucesso. Este tipo de manejo é vantajoso, em relação a outros tipos de manejo de linhagens resistentes, como o manejo de resistência que recomenda rotação de princípios ativos. Atualmente, no Brasil, não há disponibilidade de inseticidas fumigantes com princípio ativo diferente da fosfina, já que o brometo de metila, que seria uma segunda opção, é permitido somente para tratamentos quarentenários e fitossanitários para fins de importação e exportação (BRASIL 2002). Com isso, o manejo de

resistência que prega a rotação de princípios ativos não seria aplicável em relação a populações resistentes a fosfina, por exemplo.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir com este estudo que o fenômeno da resistência a fosfina está amplamente distribuído entre populações brasileiras de *T. castaneum*, *R. dominica* e *O. surinamensis*. Portanto, é urgente a necessidade de inseticidas alternativos que possam reduzir a dependência sobre o único fumigante disponível atualmente no mercado nacional, a fosfina. A redução da taxa respiratória nas linhagens resistentes, como observado neste estudo, foi apontada como o principal mecanismo de resistência desenvolvido pelas linhagens resistentes à fosfina. A elucidação do mecanismo de resistência é importante para o desenvolvimento de novas estratégias de manejo e mitigação da resistência a fosfina.

A resistência a fosfina impõe um custo adaptativo às populações resistentes capaz de influenciar negativamente sua taxa de crescimento populacional quando comparadas às populações suscetíveis. Este fato acarreta algumas implicações práticas para o manejo da resistência nestas espécies, uma vez que a aplicação de estratégias de manejo simples que se baseiam na interrupção do uso da fosfina, visando a reintrodução deste inseticida no futuro podem surtir bons resultados, pois

na ausência do inseticida as linhagens resistentes a fosfina apresentaram-se desfavorecidas adaptativamente em relação às suscetíveis.

Estudos posteriores mais detalhados poderão confirmar e auxiliar o entendimento dos mecanismos de resistência e os custos adaptativos existentes nas linhagens resistentes à fosfina contribuindo e facilitando o desenvolvimento de estratégias de controle destas espécies que poderão ser acrescidas e utilizadas em programas de manejo da resistência a inseticidas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adler, C.; Corinth, H.; Reichmuth, C. Modified atmospheres. In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D. W. (Eds.). **Alternatives to pesticides in stored-product IPM**. Norwell. Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 105-146.

Alyokhin, A. V.; Ferro, D. N. Relative fitness of Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) resistant and susceptible to the *Bacillus thuringiensis* cry3A toxin. **Journal of Economic Entomology**, v. 92, n. 3, p. 510–515. 1999.

Andrei, E. **Compêndio de defensivos agrícolas – Volume II**. 6^a ed. São Paulo: Andrei Editora Ltda, 2003. 302p.

Athié, I.; Gomes, R. A. R.; Bolonhezi, S.; Valentini, S. R. T.; Castro, F. P. M. Effects of carbon dioxide and phosphine mixtures on resistant populations of stored-grain insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 34, n. 1, p. 27-32. 1998.

Baker, J. E.; Perez-Mendonça, J.; Beeman, R. W.; Throne, J. E. Fitness of a malathion-resistant strain of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae*

(Hymenoptera: pteromalidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 91, p. 50-55. 1998.

Bell, C. H. Fumigation in the 21st century. **Crop Protection**, v. 19, p. 563-569. 2000.

Bell, C. H.; Hole, B. D.; Evans, P. H. The occurrence of resistance to phosphine in adult and egg stages of strains of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 13, p. 91-94. 1977.

Bell, C. H.; Wilson, S. M. Phosphine tolerance and resistance in *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 31, n. 3, p. 199-205. 1995.

Bengston, M.; Collins, P. J.; Darglish, G. J.; Hallman, V. L.; Kopittke, R.; Pavic, H. Inheritance of phosphine resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 92, n. 1, p. 17-20. 1999.

Benhalima, H.; Chaudhry, M. Q.; Mills, K. A.; Price, N. R. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 241-249. 2004.

Bolter, C. J.; Chefurka, W. The effect of phosphine treatment on superoxide dismutase, catalase and peroxidase in the granary weevil, *Sitophilus granarius*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 36, p. 52-60. 1990.

Bond, E. J. The action of fumigants on insects, IV: The effect of oxygen on the toxicity of fumigants to insects. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 41, p. 993-1004. 1963.

Bond, E. J., Robinson, J. R.; Buckland, C. T. The toxic action of phosphine: absorption and symptoms of poisoning in insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 5, p. 289–298. 1969.

Bond, E. J.; Monro, H. A. U. The role of oxygen in the toxicity of fumigants to insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 3, p. 295-310. 1967.

Bond, E. J.; Monro, H. A. U.; Buckland, C. T. The influence of oxygen on the toxicity of fumigants to *Sitophilus granarius* (L). **Journal of Stored Products Research**, v. 3, p. 289–294. 1967.

Boon, K. S.; Ho, S. H. Factors influencing the post-fumigation reinfestation of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) in a rice warehouse. **Journal of Stored Products Research**, v. 24, n. 2, p. 87-90. 1988.

BRASIL. Instrução normativa conjunta nº 01, de 10 de setembro de 2002. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 set. 2002. Disponível em: <<http://www.in.gov.br>>. Acesso em: 18 nov. 2005.

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

Champ, B. R.; Dyte, C. E. Informe de la prospeccion mundial de la FAO sobre susceptibilidad a los insecticidas de las plagas de granos almacenados. Roma: FAO, 1976. 356 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. Phosphine resistance. **Pesticide Outlook**, June 2000, p. 88-91.

Chaudhry, M. Q.; Bell, H. A.; Savvidou, N.; MacNicoll, A. D. Effect of low temperatures on the rate of respiration and uptake of phosphine in different life stages of the cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (F.). **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 125-134. 2004.

Chaudhry, M. Q.; Price, N. R. A spectral study of the biochemical reactions of phosphine with various haemproteins. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 36, p. 14–21. 1990b.

Chaudhry, M. Q.; Price, N. R. Comparison of the oxidant damage induced by phosphine and the uptake and tracheal exchange of ³²P-radiolabelled phosphine in the susceptible and resistant strains of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 42, p. 167-179. 1992.

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. 1990a.

Chefurka, W.; Kashi, K. P.; Bond, E. J. The effect of phosphine on electron transport in mitochondria. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 6, p. 65–84. 1976.

Clarke, A. Seasonal acclimatization and latitudinal compensation in metabolism: do they exist ? **Functional Ecology**, v. 7, p. 139-149. 1993.

Collins, P. J.; Dargatzis, G. J.; Bengtson, M.; Lambkin, T. M.; Pavic, H. Genetics of resistance in *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 4, p. 862-869. 2002.

Collins, P. J.; Dargatzis, G. J.; Pavic, H.; Kopittke, R. A. Response of mixed-age cultures of phosphine-resistant and susceptible strains of lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*, to phosphine at a range of concentrations and exposure periods. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, p. 373-385. 2005.

Collins, P. J.; Dargatzis, G. J.; Pavic, H.; Lambkin, T. M.; Kopittke, R.; Bridgeman, B. W. Combating strong resistance to phosphine in stored grain pests in Australia. In: Australian Postharvest Technical Conference, 2000. **Proceedings...**, 2000. p. 109-112.

CONAB. **Safras 1990/91 a 2004/05 - Séries Históricas**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 15 dez. 2005.

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.

Damcevski, K. A.; Annis, P. C.; Waterford, C. J. Effect of grain on apparent respiration of adult stored-product in an air tight system: implications for fumigant testing. **Journal of Stored Products Research**, v. 34, p. 331-339. 1998.

Daniel, S. H.; Smith, R. H. Functional anatomy of the egg pore in *Callosobruchus maculatus*: a trade-off between gas-exchange and protective functions? **Physiological Entomology**, v. 19, p. 30-38. 1994.

Donahaye, E. J. Current status of non-residual control methods against stored product pests. **Crop Protection**, v. 19, p. 571-576. 2000.

Dyte, C. E.; Halliday, D. Problems of development of resistance to phosphine by insect pest of stored grains. **Bulletin OEPP**, v. 15, p. 51-57. 1985.

Emekci, M.; Navarro, S.; Donahaye, E.; Rindner, M.; Azrieli, A. Respiration of *Tribolium castaneum* (Herbst) at reduced oxygen concentrations. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, p. 413-425. 2002.

Emekci, M.; Navarro, S.; Donahaye, E.; Rindner, M.; Azrieli, A. Respiration of *Rhyzopertha dominica* (F.) at reduced oxygen concentrations. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 27-38. 2004.

Emery, R. N., Collins, P. J., Wallbank, B. E. Monitoring and managing phosphine resistance in Australia. In: Australian Postharvest Technical Conference, 2003, Canberra. **Proceedings...** Canberra, CSIRO Stored Grain Research Laboratory, 2003. p. 142-151.

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 Protection Bulletin**, v. 23, n. 1, p. 12-25. 1975.

Faroni, L. R. D'A.; Silva, J. S. Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados. In: Silva, J.S. (Ed.) **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa, Aprenda Fácil, 2000. p. 345-383.

Faroni, L. R. D'A.; Oliveira, C. R. F.; Gonçalves, J. R.; Pimentel, M. A. G. Influência da alimentação na biologia de *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae). **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 29, n. 1, p. 13-18. 2004.

French-Constant, R. H. Target site mediated insecticide resistance: what questions remain? **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 29, p. 397-403. 1999.

Finney, D. J. **Probit Analysis**. 3rd Edition. Cambridge University Press, UK. 1971. 333 p.

Foster, S. P.; Denholm, I.; Devonshire, A. L. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the U.K. **Crop Protection**, v. 19, p. 873-879. 2000.

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

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

Gonçalves, R. A., Santos, J. P., Chandra, P. K., Germani, R. Controle de *Rhyzopertha dominica* pela atmosfera controlada com CO₂ em trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 1-9. 2000.

Guedes, R. N. C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 15, 16, n. 1, 2, p. 3-48. 1990/1991.

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

Guedes, R.N. C.; Dover, B. A.; Kambhampati, S. Resistance to chlorpyrifos-methyl, pirimiphos-methyl and malathion in Brazilian and U.S. populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 89, n. 1, p. 27-32. 1996.

Guedes, R. N. C.; Zhu, K. Y.; Dover, B. A.; Kambhampati, S. Partial characterization of phosphotriesterases from organophosphate-susceptible and – resistant populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 57, p. 156-164. 1997.

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

Guedes, R. N. C.; Oliveira, E. E.; Guedes, N. M. P.; Ribeiro, B.; Serrão, J. E. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**, 2006. (No prelo)

Hagstrum, D.W.; Flinn, P. W. Integrated Pest Management. In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D.W. (Eds.). **Integrated Management of Insects in Stored Products**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p.399-408.

Haubruge, E.; Arnaud, A. Fitness consequences malathion-specific resistance in red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) and selection for resistance in the absence of malathion. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, p. 552-557. 2001.

Herron, G. A.; Clift, A. D.; White, G. G.; Greening, H. G. Relationships between insecticide use, grain hygiene and insecticide resistance in *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) on grain-producing farms. **Journal of Stored Products Research**, v. 32, n. 2, p. 131-136. 1996.

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.

Howe, R. W. The biology of the two common storage species of *Oryzaephilus* (Coleoptera: Cucujidae). **Annual Applied Biology**, v. 44, n. 2, p. 341-355. 1956.

Kono, Y.; Fridovich, I. Superoxide radical inhibits catalase. **Journal Biological Chemistry**, v. 257, p. 5751-5754. 1982.

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.

Longstaff, B. C. An experimental study of the fitness of susceptible and resistant strains of *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) exposed to insecticide. **Journal of Stored Products Research**, v. 27, n. 1, p. 75-82. 1991.

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

Martinazzo, A. P., Faroni, L. R. D'A., Berbert, P. A., Reis, F. P. Utilização da fosfina em combinação com o dióxido de carbono no controle do *Rhyzopertha dominica* (F.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 6, p. 1063-1069. 2000.

Michigan State University. The database of arthropods resistant to pesticides. Michigan State University. Disponível em: <<http://www.cips.msu.edu/resistance/rmdb/index.html>>. Acesso em: 17 out. 2005.

Nakakita, H. The inhibitory site of phosphine. **Journal of Pesticide Science**, v. 1, p. 235–238. 1976.

Nakakita, H. The mode of action of phosphine. **Journal of Pesticide Science**, v. 12, p. 299–309. 1987.

Nakakita, H.; Katsumata, Y.; Ozawa, T. The effect of phosphine on respiration of rat liver mitochondria. **Journal of Biochemistry**, v. 69, p. 589–593. 1971.

Nakakita, H.; Kuroda, J. Differences in phosphine uptake between susceptible and resistant strains of insects. **Journal of Pesticide Science**, v. 11, p. 21–26. 1986.

Nation, J. L. **Insect physiology and biochemistry**. 1 ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2002. 485 p.

Oliveira, E. E.; Guedes, R. N. C.; Corrêa, A. S.; Damasceno, B. L.; Santos, C. T. Resistência vs Susceptibilidade a Piretróides em *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae): Há Vencedor? **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 981-990. 2005.

Oppenoorth, F. J.; Welling, W. Biochemistry and physiology of resistance. In: Wilkinson, C. F. (Ed.). **Insecticide Biochemistry and Physiology**. New York, Plenum, 1976. p. 507-551.

Oppert, B.; Hammel, R.; Throne, J. E.; K. Kramer, J. Fitness cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* in the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 96, p. 281-287. 2000.

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**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 144-154, 1990.

Pratt, S. J. A new measure of uptake: desorption of unreacted phosphine from susceptible and resistant strains of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 507-520. 2003.

Pratt, S. J. **Insect toxicology of phosphine**. Acton: Ed. Australian National University, 2005. 293 p. (PhD. Thesis).

Pratt, S. J.; Reuss, R. Scrubbing carbon dioxide prevents overestimation of insect mortality in long-duration static phosphine toxicity assays. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 233-239. 2004.

Price, N. R. A comparison of the uptake and metabolism of ^{32}P -radiolabelled phosphine in susceptible and resistant strains of the Lesser Grain Borer (*Rhyzopertha dominica*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 69C, 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.

Price, N. R. Some aspects of the inhibition of cytochrome c oxidase by phosphine in susceptible and resistant strains of *Rhyzopertha dominica*. **Insect Biochemistry**, v. 10, p. 147–150. 1980b.

Price, N. R. The effect of phosphine on respiration and mitochondrial oxidation in susceptible and resistant strains of *Rhyzopertha dominica*. **Insect Biochemistry**, v. 10, p. 65–71. 1980a.

Price, N. R.; Dance, S. J. Some biochemical aspects of phosphine action and resistance in three species of stored product beetles. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 76, p. 277-281. 1983.

Price, N. R.; Mills, K. A.; Humphries, L. A. Phosphine toxicity and catalase activity in susceptible and resistant strains of the lesser grain borer. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 73, p. 411-413. 1982.

Qureshi, A. H.; Bond, E. J.; Monro, H. A. U. Toxicity of hydrogen phosphide to the Granary Weevil, *Sitophilus granarius*, and other insects. **Journal of Economic Entomology**, v. 58, p. 324–331. 1965.

Rees, D. P. Coleoptera. In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D. W. (Eds.). **Integrated Management of Insects in Stored Products**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p.1-39.

Robertson, J. L.; Preisler, H. K. **Pesticide bioassays with Arthropods**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1992. 127 p.

Roush, R. T.; Tabashnik, B. E. **Pesticide resistance in arthropods**. London: Chapman and Hall, 1990. 303p.

Sartori, M.R., Pacheco, I.A. and Vilar, R.M. Resistance to phosphine in stored grain insects in Brazil. In: Fifth International Working Conference on Stored-Product Protection, v. 2, 1990, Bordeaux. **Proceedings...** Bordeaux, 1990. p.1041-1050.

SAS Institute. **SAS/STAT User`s Guide, version 6**. 1989. SAS Institute, Cary, NC, USA. 1989.

Sawicki, R. M. Resistance of insects to insecticides. **Span**, v. 20, n. 2, p. 50-52. 1979.

Scott, J. G. Cytochromes P450 and insecticide resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 29, p. 757-777. 1999.

SIA - Sistema de Informações sobre Agrotóxicos. In: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Relatório do Ingrediente Ativo**. Disponível em:

<http://www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_ingrediente.asp?iVarAux=1&CodIng=213>. Acesso em: 31 out. 2005.

SPSS. **Sigma Plot user's guide version 7.0** (Revised Edition). SPSS Inc., Chicago, USA. 2001.

Subramanyam, B.; Hagstrum, D.W. Resistance Measurement and Management In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D.W. (Eds.). **Integrated Management of Insects in Stored Products**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p.331-397.

Tabashnik, B. E. Implications of gene amplification for evolution and management of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 4, p.1170-1176, 1990.

Taylor, R. W. D. Phosphine: a major grain fumigant at risk. **International Pest Control**, v. 31, p. 10-14. 1989.

Trisyono, A.; Whalon, M. Fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis* in Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 2, p. 267–271, 1997.

Tyler, R. S.; Taylor, R. W.; Rees, D. P. Insect resistance to phosphine fumigation in food warehouses in Bangladesh. **International Pest Control**, p. 10-21, January/February 1983.

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.

USDA – United States Department of Agriculture. **Fumigation Handbook**. Federal Grain Inspection Service, Washington, D.C., 1987. 49 p.

Wallbank, B. E.; Farrel, J. F. Development of phosphine resistance in *Rhyzopertha dominica* in New South Wales, and some strategies for containment. In: Australian Postharvest Technical Conference, 2000. **Proceedings...**, 2000. p. 105-108.

Walthall, W. K.; Stark, J. D. A comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effect. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 37, p. 45-52. 1997.

White, N. D. G.; Bell, R. J. Relative fitness of a malathion-resistant strain of *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae) when development and oviposition occur in malathion-treated and untreated wheat kernels. **Journal of Stored Products Research**, v. 26, n. 1, p. 23-37. 1990.

White, N. D. G.; Leesch, J. G. Chemical Control. In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D.W. (Eds.). **Integrated Management of Insects in Stored Products**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p.287-330.

Whitehead, J.; Roush, R. T.; Norment, B. R. Resistance stability and coadaptation in diazino-resistant house flies (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 78, p. 25-29. 1985.

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. The toxicity of phosphine to adults of *Tribolium castaneum* (Herbst): Time as a dosage factor. **Journal of Stored Products Research**, v. 20, n. 1, p. 45-56. 1984.

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.

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.

Zettler, J. L.; Cuperus, G. W. Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in wheat. **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 5, p. 1677–1681, 1990.