

METODOLOGIA DE BIOENSAIO E AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *LIRIOMYZA SATIVAE* BLANCHARD (DIPTERA: AGROMYZIDAE) A INSETICIDAS

por

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

(Sob Orientação do Professor Herbert Álvaro Abreu de Siqueira - UFRPE)

RESUMO

A *Liriomyza* sp. também chamada de mosca minadora é uma praga polífaga e atualmente uma das principais causas de prejuízos na produção do melão. A forma mais usada pelos produtores para minimizar as perdas é a utilização de inseticidas. As moléculas registradas para controle da minadora e que foram estudadas nesse trabalho são: abamectina, ciromazina, ciantraniliprole e espinetoram. O uso indiscriminado e inadequado desses produtos tem permitido a evolução de resistência em populações de campo, levando a falhas no controle. No Brasil, informações sobre a suscetibilidade dessa praga são escassas e a metodologia de bioensaio é um fator limitante para os estudos. Sendo assim, este trabalho objetiva o desenvolvimento de uma metodologia padronizada de bioensaio e a avaliação da suscetibilidade da praga aos inseticidas mais novos empregados em campo. Logo, populações de *Liriomyza* spp. foram coletadas em áreas produtoras do Rio Grande do Norte e agreste de Pernambuco, sendo submetidas a bioensaios com uso de bandejas bioassay tray e placas de acrílico e avaliadas nos tempos de 48 e 72 h. Usando bandejas o tempo médio de duração do bioensaio foi de 321min e custo total de 1004,57\$, enquanto usando placas de acrílico 434min e 1067,94\$. Na avaliação da suscetibilidade as populações de *L. sativae* apresentaram curvas com homogeneidade de slope e valores baixos de qui quadrado, variando este último de 0,76 a 7,89. Quando avaliadas as novas moléculas registradas observou-se que RN1 e RN4 foram

as populações que apresentaram RR significativas após as 72h, sendo para ciantraniliprole RN1= 2,97 e RN4 = 4,01 vezes; e para espinetoram RN1= 7,88 e RN4= 5,38 vezes. Portanto, o aprimoramento da metodologia de bioensaio poderá ser a ferramenta que viabilize os estudos toxicológicos. Determinando os níveis de RR das populações, como neste trabalho, onde níveis altos de RR já foram encontrados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Mosca minadora, metodologia, controle químico, suscetibilidade

BIOASSAY METHODOLOGY AND ASSESSMENT OF *LIRIOMYZA SATIVAE*  
BLANCHARD (DIPTERA: AGROMYZIDAE) SUSCEPTIBILITY TO INSECTICIDES

By

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

(Under direction of Professor Herbert Álvaro Abreu de Siqueira - UFRPE)

ABSTRACT

The *Liriomyza* sp. also called mining fly, is a polyphagous pest and currently one of the main causes of losses in melon production. The most used way by the producers to minimize the losses is the use of insecticides. The molecules registered to control the mining and that will be studied in this work are: abamectin, cyromazine, cyantraniliprole and espinetoram. The indiscriminate and inappropriate use of these products has allowed for the evolution of resistance in field populations, leading to control failures. In Brazil, information about the susceptibility of this pest is scarce and the bioassay methodology is a limiting factor for studies. Therefore, this work aims to develop a standardized bioassay methodology and to assess the susceptibility of the pest to the newest insecticides used in the field. Soon, Populations of *Liriomyza* spp. were collected in producing areas in Rio Grande do Norte and in the countryside of Pernambuco, being subjected to bioassays using bioassay tray trays and acrylic plates and evaluated in 48 and 72 hours. Using trays the average duration of the bioassay was 321min and total cost of 1004,57\$, while using acrylic plates 434min and 1067,94\$. In the susceptibility assessment, the populations of *L. sativae* presented curves with homogeneous slope and low values of chi square, ranging from 0,76 to 7,89. When evaluating the new molecules registered, it was observed that RN1 and RN4 were the populations that presented significant RR after 72 h, with cyantraniliprole RN1 =

2,97 and RN4 = 4,01 times; and for espinetoram RN1 = 7,88 and RN4 = 5,38 times. Therefore, new molecules already have populations with high levels of RR and the new bioassay methodology developed could be the tool that makes these toxicological studies feasible.

**KEY WORDS:** Mining fly, methodology, chemical control, susceptibility.

METODOLOGIA DE BIOENSAIO E AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *LIRIOMYZA*  
*SATIVAE* BLANCHARD (DIPTERA: AGROMYZIDAE) A INSETICIDAS

por

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutora em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Abril – 2020

METODOLOGIA DE BIOENSAIO E AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *LIRIOMYZA*  
*SATIVAE* BLANCHARD (DIPTERA: AGROMYZIDAE) A INSETICIDAS

por

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

Comitê de Orientação:

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira - UFRPE

Lílian Maria da Solidade Ribeiro – UFRPE

Elton Lucio Araujo – UFERSA

METODOLOGIA DE BIOENSAIO E AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *LIRIOMYZA*  
*SATIVAE* BLANCHARD (DIPTERA: AGROMYZIDAE) A INSETICIDAS

por

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS

Orientador: \_\_\_\_\_  
Herbert Álvaro Abreu de Siqueira - UFRPE

Examinadores: \_\_\_\_\_  
Lílian Maria da Solidade Ribeiro – UFRPE

\_\_\_\_\_  
Elton Lucio Araujo – UFERSA

\_\_\_\_\_  
José Vargas de Oliveira – UFRPE

\_\_\_\_\_  
Jefferson Elias da Silva– UFS

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, **Josué Francisco dos Santos e Cleonice Pereira de Albuquerque do Nascimento**, por toda dedicação ao me oferecerem o melhor, por vencerem qualquer dificuldade da vida para me manterem estudando. Graças a vocês cheguei aqui e me tornei a profissional que sou. Obrigada por sempre me motivarem e incentivarem em minha jornada, como sempre me falam: Eu sou capaz! Vocês são meu maior exemplo.*

*Dedico*

*Aos meus irmãos **Edjane, Elisangela, Eduardo e Elinaldo**. Por acreditarem em mim e me incentivarem a nunca desistir.*

*Ofereço*

*À **Deus** por me dar o dom da vida e me agraciar com a realização deste sonho, por ter me sustentado nos momentos mais difíceis e por me tornar uma vencedora perante a vida. A Ti Senhor toda honra, glória e louvor. Obrigada pai!*

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Prof. Herbert, pela orientação, ensinamentos, profissionalismo e humanidade comigo, o senhor me certificou que o que faz um bom profissional vai além das características técnicas.

A Dra Lílian, pela coorientação, idéias, ensinamentos, disponibilidade, auxílio, profissionalismo e amizade. Obrigada por me ajudar tanto, como pessoa e como profissional, você me fez crescer muito.

Ao Prof. Elton - UFERSA, pela coorientação, aprendizagem e cooperação, por ter me recebido no laboratório de entomologia com tanta generosidade e auxílio, aprendi muito lá.

Ao Prof Dimas pela ajuda no cultivo das plantas hospedeiras.

Aos Professores de Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo conhecimento adquirido durante a minha formação.

Aos meus pais Josué e Cleonice, pelo carinho e apoio durante toda minha vida e formação, amo muito vocês!

Aos meus irmãos: Edjane, Elisangela, Eduardo e Elinaldo pelo apoio, paciência e carinho comigo, minhas jóias raras. Obrigada por estarem sempre comigo.

Aos amigos Daniel e Marcos pelo apoio e ajuda que me ofereceram, obrigada por toda gentileza e amizade. A equipe do Laboratório de Interação Inseto Tóxico- LIIT: Liliane, Paulo, Natália, Paulo, Caio, Débora e Cássio, muito obrigada.

A equipe do departamento de Fitotecnia que me auxiliaram durante todo o trabalho, muito obrigada, Roberval, Nivaldo, Batistinha, Salatiel, Davi, Henrique, Fabian e Fernando.

Ao Laboratório de Sementes/UFRPE, Prof Rejane, Keyla (Bitá), Bruno (Brunão), Sonny (Sonny boy), Alane, Isa e Jacque (Jacque girl) por toda amizade e apoio que me deram nos últimos ensaios e na conclusão do trabalho, obrigada por terem sido verdadeiros anjos pra mim.

Aos amigos que fiz no PPGEA, que me acolheram desde o estágio na graduação até aqui, não teria como citar todos. Mas obrigada a todos vocês que cruzaram meu caminho, tantos momentos de alegria e boas lembranças. Jamais esquecerei. Paulinho, Luziane, Amanda, Almeida, Hilton, Paulo (Tapajos), Cleane, Waneska, Gigi, Elaine, Fran, Marcelo (secretário), Darcy (da cantina).

A equipe do Laboratório de Entomologia Aplicada/UFERSA: Elania, Edivino, Bárbara, Fernanda e Galdino. Muito obrigada por toda hospitalidade, ajuda e amizade que me ofereceram. Foi maravilhoso passar um tempo com vocês.

Às amigas, Carla e Elaine, que fizeram minha estadia em Mossoró-RN mais aconchegante e especial. Muito obrigada por todo amor.

A Deus, que com seu imenso amor de Pai permitiu e possibilitou a minha conclusão desse curso, por me ensinar a sempre ter fé e diante das dificuldades da vida não se entregar. Obrigada meu Deus por me realizar este sonho, pelo dom da vida, por ter restabelecido minha saúde e por sempre estar ao meu lado no caminho. Sou feliz por tua graça.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão dessa minha trajetória.

## SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS .....	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO .....	1
Mosca Minadora ( <i>Liriomyza</i> spp.): Ciclo Biológico e Taxonomia.....	1
Hospedeiros de <i>Liriomyza</i> spp .....	3
Impactos Econômicos das Moscas Minadoras .....	4
Métodos de Controle .....	5
Controle Químico da Mosca Minadora.....	7
Resistência de Insetos a Inseticidas.....	8
Metodologia de Bioensaio para Mosca Minadora.....	10
LITERATURA CITADA.....	11
2 METODOLOGIA DE BIOENSAIO COM <i>LIRIOMYZA SATIVAE</i> BLANCHARD (DIPTERA: AGROMYZIDAE) PARA AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE A INSETICIDAS .....	18
RESUMO .....	19
ABSTRACT .....	20
INTRODUÇÃO .....	21
MATERIAL E MÉTODOS .....	24
RESULTADOS.....	30
DISCUSSÃO.....	34

	AGRADECIMENTOS.....	39
	LITERATURA CITADA.....	39
3	SUSCETIBILIDADE DA <i>LIRIOMYZA SATIVAE</i> BLANCHARD (DIPTERA: AGROMYZIDAE) A CIANTRANILIPROLE E ESPINETORAM.....	52
	RESUMO .....	53
	ABSTRACT .....	54
	INTRODUÇÃO .....	55
	MATERIAL E MÉTODOS .....	57
	RESULTADOS.....	60
	DISCUSSÃO.....	62
	AGRADECIMENTOS.....	65
	LITERATURA CITADA.....	65
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	77

## CAPÍTULO 1

### INTRODUÇÃO

#### **Mosca Minadora (*Liriomyza* spp.): Ciclo Biológico e Taxonomia**

As moscas minadoras do gênero *Liriomyza* spp. pertencem à ordem Diptera, família Agromyzidae e subfamília Phytomyzinae (Spencer & Steyskal 1986). Este gênero é composto por 376 espécies, mas apenas 23 assumem importância agrícola por ocasionarem injúrias a plantas cultivadas e ornamentais (Shepard *et al.* 1998, Murphy & Lassale 1999, Rauf *et al.* 2000). *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard), *Liriomyza sativae* (Blanchard) e *Liriomyza trifolii* (Burgess) são nativas do continente americano, com ampla distribuição nas Américas do Norte e do Sul, possuindo maior frequência em regiões temperadas (Parrela 1987).

As fêmeas de *Liriomyza* spp. realizam postura endofítica, entre as duas camadas epidérmicas da folha, mais precisamente no mesofilo foliar preenchido por células do parênquima. Seus ovos tem dimensões de ~ 0,28 mm de comprimento x 0,15 mm de diâmetro e são de coloração esbranquiçada ligeiramente translúcida (Guimarães *et al.* 2009). As larvas são vermiformes e passam por três instares, desenvolvendo-se no mesofilo foliar e formando galerias ao se alimentarem. Possuem coloração pálida modificando-se para alaranjada ao final do ciclo larval e atingindo cerca de 3 mm de comprimento. Ao completarem o desenvolvimento, as larvas abandonam as folhas e empupam tanto no solo quanto na própria folha (Guimarães *et al.* 2009). As pupas são ovais, com cerca de 2,0 mm de comprimento, sendo ligeiramente achatadas ventralmente (Kox *et al.* 2005). Os adultos de *Liriomyza* spp. alcançam cerca de 1 a 3 mm, são de coloração preta com manchas amarelas no escutelo (Guimarães *et al.* 2009).

24 As fêmeas geralmente têm maior longevidade em relação aos machos, vivendo em média  
25 19 dias e os machos 16 dias (Guimarães *et al.* 2009). No entanto, fatores abióticos como  
26 temperatura e umidade relativa do ar influenciam o ciclo de vida do inseto (Costa Lima *et al.*  
27 2009), que, segundo Souza & Reis (2001) varia de 21 a 28 dias. Como observado por Araújo *et*  
28 *al.* (2013) para *L. sativae* em condições de laboratório a 25°C e no hospedeiro *Vigna unguiculata*,  
29 apresentando  $15,9 \pm 0,04$  dias (ovo-adulto), sendo: ovo ( $2,7 \pm 0,01$  dias), larva ( $4,1 \pm 0,03$  dias) e  
30 pupa ( $9,1 \pm 0,03$  dias).

31 O acasalamento de *Liriomyza* spp. pode ocorrer a qualquer hora do dia, podendo ocorrer  
32 até nas primeiras 24 horas após saírem das pupas; entretanto, esse acontece frequentemente  
33 durante a madrugada. As fêmeas ovipositam em média de 100 a 130 ovos durante seu ciclo, sendo  
34 que o pico de oviposição ocorre nos primeiros dias de suas vidas. Contudo, em condições ótimas  
35 estas podem chegar a ovipositar até 250 ovos durante sua vida (Guimarães *et al.* 2009, Parrella  
36 1987). De acordo com Parrella (1987), devido à semelhança morfológica apresentada pelos  
37 agromizídeos, a taxonomia desses insetos tornou-se muito complexa. Além disso, as espécies  
38 desta família possuem diversos hospedeiros em comum, o que dificulta ainda mais a identificação,  
39 embora o sequenciamento de determinadas regiões do DNA tenha auxiliado bastante nesse  
40 quesito (“DNA barcoding”). Segundo Scheffer (2000) e Schefer & Lewis (2001), existem  
41 diferenças gênicas mitocondriais e nucleares entre as espécies: *L. huidobrensis* e *Liriomyza*  
42 *langei*, porém, estas duas espécies não se diferenciam morfológicamente entre si, sendo  
43 consideradas espécies crípticas. No estudo de Scheffer *et al.* (2006) foram avaliadas nas Filipinas  
44 as espécies *L. sativae* e *L. trifolii* a partir de uma sequência da porção mitocondrial da citocromo  
45 oxidase I (COI), sendo comparadas com exemplares do banco de dados de várias partes do mundo  
46 e apresentando clados distintos para as duas espécies de *Liriomyza*. Isto levou a indícios de que

47 haveria uma possível existência de um complexo de espécies e constatou a eficácia desse  
48 marcador molecular para a identificação das espécies.

49

### 50 **Hospedeiros de *Liriomyza* spp.**

51 O gênero *Liriomyza* é cosmopolita e ataca uma grande diversidade de culturas de interesse  
52 econômico (Souza 1993). Dentre os agromizídeos, a *L. sativae* é a praga dominante nas hortaliças,  
53 sendo já registrado em Bangladesh infestações a 45 culturas (Andersen *et al.* 2002, Rauf *et al.*  
54 2000, Bhuiya *et al.* 2010). Outros países onde a *L. sativae* foi relatada são: Turquia (Civelek *et al.*  
55 2002), China (Chen & Kang 2005), Vietnã (Tran *et al.* 2005, Hofsvang *et al.* 2005), Filipinas  
56 (Scheffer *et al.* 2006) e Irã (Asadi *et al.* 2006).

57 Os comportamentos de alimentação e oviposição de fêmeas de *Liriomyza* não se  
58 diferenciam em seus diferentes hospedeiros, embora demonstrem preferência alimentar por  
59 determinadas espécies vegetais (Bethke & Parrella 1985). A espécie *L. sativae* demonstra preferir  
60 como hospedeira as plantas das famílias Cucurbitaceae, Fabaceae e Solanaceae, embora possa se  
61 desenvolver em um número maior de famílias (Capinera 2001). Quando avaliadas quanto à  
62 preferência de oviposição sobre feijão de porco (*Canavalia ensiformis*), feijão caupi (*Vigna*  
63 *unguiculata*), abóbora (*Cucurbita* spp) e melão (*Cucumis melo*) as larvas de *L. sativae*  
64 apresentaram desenvolvimento completo em todos os hospedeiros estudados (Sombra *et al.* 2011).

65 O melão é um dos principais hospedeiros da mosca minadora na região Nordeste do Brasil.  
66 A produção brasileira de melão, no ano de 2017, foi de 540.229 mil toneladas de frutos, em área de  
67 23.390 ha. Atualmente todas as regiões do Brasil produzem melão, concentrando-se no Nordeste  
68 mais de 95% da produção nacional. Os Estados do Ceará e do Rio Grande do Norte destacam-se  
69 como os principais produtores nacionais de melão, contribuindo com 99% do percentual da  
70 produção na safra 2017/2018 (IBGE, 2018). Nestas regiões, em meados dos anos 2000, a mosca

71 minadora passou a ser considerada praga chave para as produções do meloeiro, causando sérios  
72 prejuízos economicos (Soares Brasil *et al.* 2012).

73 .

#### 74 **Impactos Econômicos das Moscas Minadoras**

75 No Brasil, *L. huidobrensis*, *L. trifolli* e *L. sativae* são consideradas pragas em cerca de 14  
76 famílias de plantas, que compreendem ornamentais, feijões e oleráceas, com destaque para batata,  
77 alface, tomate, melancia e melão (Gallo *et al.* 2002, Guimarães *et al.* 2009). As maiores regiões  
78 produtoras de melão do Brasil, localizam-se no Semi-Árido Nordeste (Estados do RN, CE, BA  
79 e PE), onde a mosca minadora foi considerada praga secundária da cultura até o final da década  
80 de 1990 e início dos anos 2000, quando alcançou o “*status*” de praga chave do meloeiro (Soares  
81 Brasil *et al.* 2012; Guimarães *et al.* 2005). Entre diversos fatores, acredita-se que o uso  
82 indiscriminado e aplicações frequentes de inseticidas de largo espectro no manejo da mosca-  
83 branca *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B, tenha causado a redução dos inimigos naturais da mosca  
84 minadora, permitindo a explosão populacional desta praga (Fernandes 2004).

85 O total gasto com inseticidas nessa cultura é de cerca de 80% apenas para o controle da  
86 mosca minadora, fazendo desta a praga que causa os maiores prejuízos aos agricultores, gerando  
87 perdas na produção e aumento de custos para controle (Soares Brasil *et al.* 2012). De acordo com  
88 Araujo *et al.* 2007, houve perda de 10 a 15% da área de meloeiro plantada na safra 2004/2005 no  
89 estado do Rio Grande do Norte devido a presença desta praga.

90 As principais injúrias causadas no meloeiro pelas espécies de *Liriomyza* são: redução da  
91 área fotossintética da planta (Souza & Reis 2001), redução do teor de sólidos solúveis (brix) dos  
92 frutos (Parrella 1987, Araujo *et al.* 2007, Fernandes *et al.* 2000); ressecamento e desfolha da  
93 planta, expondo os frutos ao sol e causando queimaduras que depreciam a qualidade externa e a  
94 comercialização do fruto (Guimarães *et al.* 2005); abscisão das folhas (Parrella *et al.* 1981);

95 atrofiamento das plantas (Johnson *et al.* 1983) e abertura de portas para a entrada de  
96 microrganismos patogênicos oportunistas (Palumbo & Kerns 1998, Azevedo *et al.* 2005). Estas  
97 injúrias ou o conjunto delas pode levar a perdas econômicas de 100% na cultura do meloeiro  
98 (Guimarães *et al.* 2005).

99

## 100 **Métodos de Controle**

101 Em razão das exigências do mercado consumidor por frutos de alta qualidade, cultivados  
102 com o mínimo de pulverizações e livres de resíduos químicos, têm-se aumentado o empenho para  
103 o desenvolvimento e utilização de vários métodos de controle no sistema de Manejo Integrado de  
104 Pragas (MIP) do meloeiro (Araujo *et al.* 2007). Diante disto, desde a constatação da presença do  
105 parasitoide *Opius* sp. (Hymenoptera: Braconidae) parasitando larvas da mosca minadora nas áreas  
106 de produção de melão do Rio Grande do Norte e Ceará, cresceram as perspectivas de utilização do  
107 controle biológico nestas áreas (Araujo *et al.* 2007). O controle biológico natural é considerado  
108 uma medida fundamental dentro das estratégias empregadas no MIP, pois é um método de  
109 controle eficiente, ambientalmente seguro e socialmente correto, não apresentando riscos de  
110 contaminação (Gallo *et al.* 2002; Barratt *et al.* 2010).

111 Em contrapartida, ainda são incipientes as informações sobre a diversidade e contribuição  
112 dos parasitoides no controle da mosca minadora em meloeiro (Guimarães *et al.* 2009), o que  
113 dificulta o manejo e limita a utilização desses inimigos naturais nas áreas de produção. Nas  
114 últimas décadas, pesquisas com a finalidade de avaliar o parasitismo natural sobre espécies de  
115 *Liriomyza* têm sido realizadas em diferentes regiões do mundo, em culturas de importância  
116 econômica. Destacando-se a ocorrência e o parasitismo de espécies das famílias Braconidae e  
117 Eulophidae sobre as larvas da praga (Rauf *et al.* 2000; Gratton & Welter 2001; Petcharat *et al.*

118 2002; Asadi *et al.* 2006; Bahlai *et al.* 2006; Amano *et al.* 2008; Tran 2009; Valenzuela-Escoboza  
119 *et al.* 2010; LI *et al.* 2012).

120 Um outro método usado é o cultural. Utilizando-se da cobertura das ramas com manta  
121 TNT (Tecido Não Tecido) de cor branca, o que impede o ataque de insetos durante os primeiros  
122 28 dias da cultura no campo. Após esse período, a manta deve ser retirada para não impedir a  
123 polinização das flores do meloeiro, o que expõe a planta ao ataque das pragas. Uma outra técnica  
124 é a destruição de restos culturais após a colheita dos frutos (Guimarães *et al.* 2009; Lima *et al.*  
125 2012).

126 O melhoramento vegetal também é uma alternativa para contornar os danos causados pela  
127 mosca minadora. Não é poluente, pode ser compatível com outros métodos de controle, não  
128 interfere nas atividades da propriedade e não acarreta ônus adicional aos custos de produção,  
129 excetuando um possível acréscimo no valor da semente resistente. Por isso, a busca por  
130 variedades que expressem algum tipo de resistência ou tolerância é de fundamental importância  
131 para maximizar o manejo de pragas no meloeiro (Gallo *et al.*, 2002). Embora Kennedy *et al.*,  
132 (1978) e Dogimont *et al.* (1999) já tenham relatado acessos de meloeiro resistentes, a carência  
133 desses genótipos ainda é o principal entrave para o melhoramento que busca variedades  
134 comerciais resistentes ao inseto. Para o Brasil, Lopes *et al.* (2003) advertem que a maioria dos  
135 materiais utilizados é de cultivares de baixa aceitação comercial no mercado externo ou são  
136 materiais importados que ainda apresentam baixa adaptação a essas regiões, muitas vezes  
137 susceptíveis as pragas locais o que inviabiliza a utilização do método.

138 Dos métodos citados, o controle químico é o método mais amplamente utilizado para o  
139 controle da mosca minadora. Atualmente no Brasil o Ministério da Agricultura, Pecuária e  
140 Abastecimento (MAPA) tem registrado como autorizados para a cultura do meloeiro cinco  
141 produtos para a espécie *L. sativae*, 18 para *L. huidobrensis* e 7 para *L. trifolii*, compreendendo 10

142 ingredientes ativos e 8 grupos químicos (avermectinas, piretróides, tiocarbamatos,  
143 neonicotinóides, éter difenílico, antranilamidas, triazinaminas e espinosinas) (Agrofit 2020).

144

### 145 **Controle Químico da Mosca Minadora**

146 O uso de defensivos é responsável por mais de 30% dos custos de produção na cultura do  
147 meloeiro, sendo uma das mais importantes táticas de manejo para controle de mosca minadora.  
148 (Fernandes 2004; Guimarães *et al.* 2005; Guimarães *et al.* 2009). Inseticidas de diferentes modos  
149 de ação são utilizados (Hernández *et al.* 2011, Devkota *et al.* 2016), visando reduzir a densidade  
150 populacional nos estágios de larvas e adultos. Entre eles, abamectina e ciromazina são usados  
151 desde a década de 1980 (Guimarães *et al.* 2005, Guimarães *et al.* 2009). A ciromazina atua como  
152 um regulador de crescimento, enquanto a abamectina atua nos canais de cloro controlados por  
153 glutamato, presentes nos nervos e células musculares de invertebrados (Ferguson 2004; Yang  
154 2012). O espinetoram possui modo de ação que atua primariamente nos receptores nicotínicos da  
155 acetilcolina e nos receptores do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) (Orr *et al.* 2009), através do  
156 contato com o tegumento do inseto e por ingestão de massa vegetal, atuando em vários estágios de  
157 vida (Yee 2018). O ciantraniliprole, uma diamida, atua como modulador dos receptores de  
158 rianodina nas fibras musculares, provocando cessação de alimentação, letargia, paralisia e morte  
159 do inseto (Cordova *et al.* 2006).

160 O número reduzido de grupos químicos autorizados para o controle da mosca minadora  
161 dificulta a rotação de princípios ativos. Este fato associado às características biológicas de  
162 *Liriomyza* spp. como ciclo curto e alta fecundidade, favorecem o desenvolvimento de resistência a  
163 inseticidas (Parrella 1987, Parrella & Keil 1984, Whalon *et al.* 2008, Guimarães *et al.* 2009,  
164 Umeda *et al.* 2011).

165

## 166 **Resistência de Insetos a Inseticidas**

167 A resistência a inseticidas caracteriza-se pela habilidade herdada de um organismo em  
168 tolerar doses de um químico que seriam letais para a maioria dos indivíduos da sua espécie (Croft  
169 *et al.* 1988). Nos insetos, a evolução da resistência ocorre devido a pressão de seleção ocasionada  
170 por aplicações repetidas de inseticidas com o mesmo modo de ação. Além disso, o uso  
171 indiscriminado de inseticidas pode acarretar outros problemas, como a intoxicação de produtores  
172 e consumidores por resíduos dos agrotóxicos utilizados, contaminação do meio ambiente e  
173 elevação dos custos de produção (Guedes *et al.* 1994, Picanço *et al.* 1995, Siqueira *et al.* 2000).

174 A primeira documentação científica de resistência de insetos à ação de inseticidas foi em  
175 1914, quando foi descrito a resistência de *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock) (Hemiptera:  
176 Diaspididae) a sulfato de cal (Melander 1914). Em 1916, a resistência a cianeto de hidrogênio foi  
177 detectada na Califórnia em *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae) sobre citros  
178 (Quayle 1938). Exemplos de resistência aos inseticidas aumentaram gradualmente ao longo dos  
179 anos e em 1946 a resistência aos inseticidas já havia sido identificada em um total de 11 espécies  
180 de Artrópodes, por exemplo: *Laspeyresia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) e *Anarsia*  
181 *lineatella* Zeller (Lepdoptera: Gelechiidae) ao arseniato de chumbo (Metcalf 1955). A resistência  
182 é um fenômeno mundial, dinâmico e evolutivo e de acordo com o banco de dados Arthropod  
183 Pesticide Resistance Database (APRD) há cerca de 575 espécies de pragas com relatos de  
184 resistência a ingredientes ativos no mundo (Oliveira, 2017).

185 O desenvolvimento de resistência a inseticidas em pragas alvos ameaça a continuidade da  
186 efetividade de novas classes de inseticidas e coopera para a extinção de futuras classes. A  
187 possibilidade de desenvolvimento de resistência enfatiza a necessidade de desenvolver e  
188 estabelecer estratégias de manejo de resistência para prevenir ou retardar a evolução da resistência  
189 a novos produtos em áreas onde a resistência ainda não está presente. Estas estratégias são

190 dependentes do desenvolvimento de programas de monitoramento efetivo da resistência capazes  
191 de detecção inicial da resistência que permitirá a tomada de decisões de manejo apropriadas e em  
192 tempo hábil (Dennehy 1987).

193 O monitoramento da resistência consiste em escolher métodos que detectem diferenças  
194 entre indivíduos suscetíveis e resistentes tal que a frequência de erro na classificação seja bastante  
195 reduzida (Ffrench-Constant & Roush 1990). Nestes casos, por exemplo, é importante estabelecer  
196 procedimentos para determinar se a resistência está se espalhando geograficamente, se a  
197 frequência está aumentando, diminuindo, ou em equilíbrio, sendo estes dados normalmente  
198 obtidos através do monitoramento. Neste sentido, conhecer o fator genético que confere a  
199 resistência é crucial para estabelecer tais procedimentos.

200 O número limitado de produtos utilizados contra *L. sativae* e a impossibilidade de  
201 rotacioná-los de forma adequada, além da ampla capacidade de insetos do gênero *Liriomyza* em  
202 desenvolver resistência aos inseticidas são fatores que podem contribuir para a seleção de  
203 populações resistentes desses insetos aos princípios ativos empregados, os quais tendem a se  
204 tornar ineficazes (Parrela 1987, Guimarães *et al.* 2009). *L. sativae* já possui relatos de resistência a  
205 inseticidas em alguns países (Mason *et al.* 1987; Johansen *et al.* 2003; Ferguson, 2004), mas no  
206 Brasil o fenômeno foi pouco estudado, apresentando o primeiro relato de suscetibilidade de *L.*  
207 *sativae* apenas em 2014 (Silva, 2014).

208 Em 2009 foi registrado e liberado comercialmente a molécula clorantraniliprole no Brasil.  
209 Embora não registrada para controle de *Liriomyza* spp., muitos produtores a utilizam obtendo  
210 algum efeito sobre a praga. No entanto, seu uso inadequado pode ter selecionado populações  
211 resistentes, o que impõe alto risco para outra diamida (ciantraniliprole) registrada recentemente  
212 para controle de fato da praga. Já o espinetoram foi registrado em 2014 e devido ao uso  
213 indiscriminado em regiões produtoras pode apresentar precoce falha de controle. Portanto, a

214 realização de bioensaios que estudem o efeito desses inseticidas, já empregados para controle da  
215 mosca minadora, é crucial para eficiência do manejo de resistência utilizado em campo pelos  
216 produtores.

217

## 218 **Metodologias de Bioensaio para Mosca Minadora**

219 A dificuldade de metodologia para realização de bioensaios com a mosca minadora é um  
220 dos grandes entraves para os estudos desta praga (Ferguson 2004). Bioensaios para gerar dados  
221 de toxicidade de *Liriomyza* a inseticidas já foram realizados por diversos autores, mas a  
222 metodologia para realização destes não apresentava padronização (Leibee 1984, Leibee 1985,  
223 Leibee 1988, Cox *et al.* 1995) para que dados de diferentes levantamentos possam ser  
224 comparados.

225 Bioensaios também são realizados para o monitoramento da resistência, permitindo  
226 constatar a evolução da mesma e possibilitando a obtenção de populações resistentes a um  
227 determinado inseticida, viabilizando assim a realização de estudos que determinem fatores como:  
228 padrão de herança da resistência e ocorrência de resistência cruzada ou múltipla com outros  
229 inseticidas. A partir desses bioensaios estudos podem possibilitar a elaboração de estratégias  
230 eficazes para o manejo da resistência de insetos a inseticidas (Roush & Miller 1986, Nascimento  
231 *et al.* 2015).

232 Adaptado da metodologia de Cox *et al.* (1995) e Ferguson (2004), foram desenvolvidos  
233 estudos de suscetibilidade de *L. sativae* aos inseticidas abamectina, espinetoram, espinosade,  
234 ciantraniliprole e clorantianiliprole (Silva, 2014). Esta adaptação consistiu na avaliação de  
235 populações de *L. sativae* a partir da imersão de trechos irregulares da folha dos hospedeiros em  
236 calda de inseticida, cada trecho da folha era considerado uma repetição e possuía número variável  
237 de larvas (Silva, 2014). Essa irregularidade no número de larvas por repetição pode favorecer a

238 competição entre as larvas, além de mascarar os resultados toxicológicos, matando o inseto por  
239 outras causas diferentes da ação do inseticida. Outro problema é que os pedaços irregulares de  
240 folhas, contendo as larvas, gastavam maior volume de calda e apresentando necessidade de serem  
241 acondicionados em recipientes maiores, despendendo assim mais materiais para a realização dos  
242 bioensaios. Para solucionar essas problemáticas novas metodologias precisam ser desenvolvidas e  
243 implementadas para realização de bioensaios toxicológicos, permitindo assim estudos sobre a  
244 suscetibilidade das populações de *Liriomyza*.

245 Como a metodologia atualmente empregada não é adequada para discriminar indivíduos  
246 resistentes de suscetíveis, devido a sua heterogeneidade nos parâmetros de curva toxicológicas,  
247 além dos detalhes operacionais de realização do bioensaio, acima descritos, esse trabalho tem  
248 como objetivo estabelecer uma metodologia padronizada de bioensaio para *L. sativae* por meio  
249 do custo financeiro do bioensaio, análise do tempo total para realização do mesmo e  
250 homogeneidade nos parâmetros das curvas toxicológicas. Gerando assim uma metodologia que  
251 ofereça confiabilidade, praticidade de elaboração e potencialize as pesquisas a partir da  
252 viabilização de estudos posteriores. Assim como, realizar a verificação da suscetibilidade das  
253 populações de *L. sativae* a abamectina, ciromazina, ciantraniliprole e espinetoram, sendo estes  
254 dois últimos os inseticidas mais novos registrados para controle da minadora, estando esses já em  
255 uso nas áreas de produção de hortifrutigranjeiros do Brasil.

256

257

### Literatura Citada

258 **Agrofit, 2020.** Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e  
259 Abastecimento. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br>. Acesso em: 20 de Abril de  
260 2020.

261

262 **Amano, K., A. Suzuki, H. Hiromori & T. Saito. 2008.** Relative abundance of parasitoids reared  
263 during field exposure of sentinel larvae of the leafminers *Liriomyza trifolii* (Burgess), *L.*

- 264 *sativae* Blanchard, and *Chromatomyia horticola* (Goureau) (Diptera: Agromyzidae). Appl.  
 265 Entomol. Zool. 43: 625-630.  
 266
- 267 **Andersen, A.; E. Nordhus, V.T. Thang, T.T.T. An, H.Q. Hung & T. Hofsvang. 2002.**  
 268 Polyphagous *Liriomyza* species (Diptera: Agromyzidae) in vegetables in Vietnam. Trop.  
 269 Agric 79: 241-246.  
 270
- 271 **Araujo, E.L., D.R.R. Fernandes, L.D. Geremias, A.C.M. Netto & M.A. Filgueira. 2007.**  
 272 Mosca minadora associada à cultura do meloeiro no Semi-Árido do Rio Grande do Norte.  
 273 Rev.Caatinga 20: 210-212.  
 274
- 275 **Araujo, E.L., C.H.N. Feitosa, A.C.M. Netto & C.E.S. Bezerra. 2013.** Biological aspects of the  
 276 leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on melon (*Cucumis melo* L.). Cienc.  
 277 Rural 43: 579-582.  
 278
- 279 **Asadi, R., A.A. Talebi, Y. Fathipour, S. Moharramipour, & E. Rakhshani. 2006.**  
 280 Identification of parasitoids and seasonal parasitism of the Agromyzidae leafminers genus  
 281 *Liriomyza* (Dip.: Agromyzidae) in Varamin, Iran. J. Agric. Sci. Technol. 8: 293-303.  
 282
- 283 **Azevedo, F.R. de., J.A. Guimarães, D. Terao, L.G. Pinheiro Neto & J.A.D. de Freitas. 2005.**  
 284 Distribuição vertical de minas de *Liriomyza sativae* Blanchard, 1938 (Díptera:  
 285 Agromyzidae) em folhas de meloeiro, em plantio comercial. Rev. Ciênc. Agron 36: 322-  
 286 326.  
 287
- 288 **Bahlai, C.A., S.A. Goodfellow, D.E. Stanley-Horn & R.H. Hallett. 2006.** Endoparasitoid  
 289 Assemblage of the Pea Leafminer, *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae), in  
 290 Southern Ontario. Environ. Entomol. 35: 351-357.  
 291
- 292 **Barratt, B.I.P., F.G. Howarth, T.M. Withers, J.M. Kean & G.S. Ridley. 2010** Progress in risk  
 293 assessment for classical biological control. Biol. Control. 52: 245–254.  
 294
- 295 **Bethke, J.A. & M.P. Parrella. 1985.** Leaf puncturing, feeding and oviposition behavior of  
 296 *Liriomyza trifolii*. Entomol. Exp. Appl 39: 149-154.  
 297
- 298 **Bhuiya, B.A., S. Mazumdar, M.K. Pasha, W. Islam, M.I. Miah & M.S. Hossain. 2010.** A  
 299 preliminary report on the agromyzid leaf miner pest attack on some agricultural crops and  
 300 weeds in Bangladesh. J. Taxon. Biodiv. Res. 4: 47-50.  
 301
- 302 **Capinera, J.L. 2001.** Vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* Blanchard (Insecta: Diptera:  
 303 Agromyzidae). Gainesville, University of Florida, 4p.  
 304
- 305 **Chen, B. & L. Kang. 2005.** Implication of pupal cold tolerance for the northern overwintering  
 306 range limit of the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) in China. Applied  
 307 Entomol. Zool. 40: 437-446.  
 308
- 309 **Civelek, H.S., P. G. Weintraub & E. Durmusoglu. 2002.** The efficacy of two different neem  
 310 [Azadirachta Indica A. Juss. (Melaceae)] formulations on the larvae of *Liriomyza*

311 *huidobrensis* (Blanchard) and *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae). Int. J.  
312 Dipterological Res.13: 87-91.  
313

314 **Cordova, D., E.A. Benner, M.D. Sacher, J.J. Rauh, J.S. Sopa, G.P. Lahm, T.P. Selby, T.M.**  
315 **Stevenson, L. Flexner, S. Gutteridge, D.F. Rhoades, L.U. Wu, R.M. Smith & Y. Tao.**  
316 **2006.** Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action,  
317 ryanodine receptor activation. Pestic. Biochem. Phys. 84: 196-214.  
318

319 **Costa-Lima, T.C., L. D. Geremias & J. R. P. Parra. 2009.** Efeito da temperatura e umidade  
320 relativa do ar no desenvolvimento de *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae)  
321 em *Vigna unguiculata*. Neotrop. Entomol. 38: 727-773.  
322

323 **Cox, D.L., M.D. Remick, J.A. Lasota & R.A. Dybas. 1995.** Toxicity of avermectins to  
324 *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) larvae and adults. J. Econ. Entomol. 88: 1415-  
325 1419.  
326

327 **Croft, B.A., B.A. Roff & B. Van. 1988.** Ecological and genetic factors influencing evolution of  
328 pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. Exp. Appl. Acarol. 4: 277-300.  
329

330 **Dennehy, T.J. 1987.** Decision-making for managing pest resistance to pesticides, p. 118-126. In  
331 M.G. Ford, D.W. Holloman, B.P.S. Khambay & R.M. Sawicki (eds.), Combating resistance  
332 to xenobiotics. Chichester, Ellis Horwood, 320p.  
333

334 **Devkota, S., D.R. Seal, O.E. Liburd, S. Ferguson, C.T. Waddill & C.G. Martin. 2016.**  
335 Responses of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to chemical and biorational  
336 insecticides. Fla. Entomol. 99: 616-623.  
337

338 **Dogimont, C., D. Bordat, C. Pages, N. Boissot & M. Pitrat. 1999.** One dominant gene  
339 conferring the resistance to the leafminer, *Liriomyza trifolii* (Burgess) Diptera:  
340 Agromyzidae in melon (*Cucumis melo* L.). Euphytica 105: 63-67.  
341

342 **Ferguson, J.S. 2004.** Development and stability of insecticide resistance in the leafminer  
343 *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine, abamectin and spinosad. J. Econ.  
344 Entomol. 97: 112-119.  
345

346 **Fernandes, O.A. 2004.** Melão: campo minado. Rev. Cult 4: 26-27.  
347

348 **Fernandes, O.F., C.C. Ferreira & M.A. Montagna. 2000.** Manejo integrado de pragas do  
349 meloeiro: manual de reconhecimento das pragas e táticas de controle. Jaboticabal, Funep-  
350 CNPq, 28p.  
351

352 **Ffrench-Constant, R.H. & R.T. Roush. 1990.** Resistance detection and documentation: the  
353 relative roles of pesticidal and biochemical assays, p. 4-38. In R.T. Roush & B.E. Tabashnik  
354 (eds.), Pesticide Resistance in Arthropods. London, Chapman and Hall, 352p.  
355

- 356 **Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E.B. Filho, J.R.P. Parra,**  
357 **R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto.**  
358 **2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.  
359
- 360 **Gratton, C. & S.C. Welter. 2001.** Parasitism of Natural Populations of *Liriomyza helianthi*  
361 Spencer and *Calycomyza platyptera* (Thomson) (Diptera: Agromyzidae). Biol. Control. 22:  
362 81-97.  
363
- 364 **Guedes, R.N.C., M.C. Picanço, A.L. Matioli & R.M. Rocha. 1994.** Efeito de inseticidas e  
365 sistemas de condução do tomateiro no controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:  
366 Gelechiidae). An. Soc. Entomol. Bras. 23: 321-325.  
367
- 368 **Guimarães, J.A., F.R. Azevedo, R. Braga Sobrinho & A.L.M. Mesquita. 2005.**  
369 Recomendações técnicas para o manejo da mosca-minadora no meloeiro. Fortaleza,  
370 Embrapa Agroindústria Tropical, 6p. (Comunicado Técnico 107).  
371
- 372 **Guimarães, J.A., F.R. Azevedo, R.B. Sobrinho & A.L. Mesquita. 2005.** Recomendações para o  
373 Manejo das Principais Pragas do Meloeiro na Região do Semi-Árido Nordeste. Fortaleza,  
374 Embrapa Agroindústria Tropical, 9p. (Circular Técnica 24).  
375
- 376 **Guimarães, J.A., M.M. Filho, V.R. Oliveira, R.S. Liz & E.L. Araujo. 2009.** Biologia e manejo  
377 de mosca minadora no meloeiro. Brasília, Embrapa Hortaliças, 9p. (Circular técnica 77).  
378
- 379 **Hernández, R., M. Harris & T. X. Liu. 2011.** Impact of insecticides on parasitoids of the  
380 leafminer, *Liriomyza trifolii*, in pepper in south Texas. J. Insect Sci 11: 1-14.  
381
- 382 **Hofsvang T., B. Snoan, A. Andersen, H. Heggen & L.N. Anh. 2005.** *Liriomyza sativae*  
383 (Diptera: Agromyzidae), an invasive species in South-East Asia: Studies on its biology in  
384 northern Vietnam. Int. J. Pest. Manag. 51: 71- 80.  
385
- 386 **IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística).** Disponível  
387 em:<<http://www.sidra.ibge.gov.br>>.2018.  
388
- 389 **Johnson, M.W., S.C. Welter, N.C. Toscano, I.P. Ting & J.T. Trumble. 1983.** Reduction of  
390 tomato leaflet photosynthesis rates by mining activity of *Liriomyza sativae* (Diptera:  
391 Agromyzidae). J. Econ. Entomol. 76: 1061-1063.  
392
- 393 **Johansen, N.S., T.M. Tuan, L.T.K. Oanh & E. Nordhus. 2003.** Susceptibility of *Liriomyza*  
394 *sativae* (Diptera: Agromyzidae) larvae to some insecticides scheduled for their control in  
395 North Vietnam. Grønn kunnskap 7: 17.  
396
- 397 **Kennedy, G.G., G.W. Bohn, A.K. Stoner & R.E. Webb. 1978.** Leafminer resistance in  
398 muskmelon. J Amer Soc Hort Sci 103: 571–574.  
399
- 400 **Kox, L.F.F., H.E.V.D Beld, B.L. Lindhout & L.J.W Goffau. 2005.** Identification of  
401 economically important *Liriomyza* species by PCR-RFLP analysis. EPPO Bull. 35: 79-85.  
402

- 403 **Leibee, G.L. 1984.** Influence of temperature on development and fecundity of *Liriomyza trifolii*  
404 (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) on celery. *Envir. Entomol.* 13: 497-501.  
405
- 406 **Leibee, G.L. 1985.** Effects of Storage at 1. 1°C on the Mortality of *Liriomyza trifolii* (Burgess)  
407 (Diptera: Agromyzidae) Life Stages in Celery. *J. Econ Entomol.* 78: 407-411.  
408
- 409 **Leibee, G.L. 1988.** Toxicity of abamectin to *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae).  
410 *J. Econ. Entomol.* 81: 738-740.  
411
- 412 **Li, J., D.R. Seal, G.L. Leibee, O.E. Liburd. 2012.** Seasonal Abundance and Spatial Distribution  
413 of the Leafminer, *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae), and its Parasitoid, *Opius*  
414 *dissitus* (Hymenoptera: Braconidae), on Bean in Southern Florida. *Fla. Entomol.* 95: 128-  
415 135.  
416
- 417 **Lima, A.C.C., E.M. Costa, E.L. Araujo, A.J.M. Rugama & M.S. Godoy. 2012.** Diagnóstico  
418 sobre o uso do MIP nas principais áreas produtoras de melão dos Estados do Rio Grande do  
419 Norte e Ceará. *Revista Agroambiente On-line* 6: 172-178.  
420
- 421 **Lopes, J.F., S.I.C. Carvalho & H.B.S.V. Pessôal. 2003.** Recursos genéticos de melão e pepino  
422 na Embrapa Hortaliças. Brasília, Embrapa Hortaliças, 8p. (Comunicado técnico-científico,  
423 10).  
424
- 425 **Mason, G.A. & Johnson, M.W. 1987.** Assessment of insecticide susceptibility of *Liriomyza*  
426 *sativae* (Diptera: Agromyzidae) by topical and residue bioassays. *J. Economic. Entomol.* 80:  
427 1083-1086.  
428
- 429 **Melander, A.L. 1914.** Can insects become resistant to sprays. *J. Econ. Entomol.* 7: 167-173.  
430
- 431 **Metcalf, R.L. 1955.** Insecticide Resistance in Arthropods. *Physiol. Rev.* 35: 192-232.  
432
- 433 **Murphy, S.T. & J. LaSalle. 1999.** Balancing biological control strategies in the IPM of New  
434 World invasive *Liriomyza* leafminers in field vegetable crops. *Biol. Control.* 20: 91-104.  
435
- 436 **Nascimento, A., J. Farias, D. Bernardi, R. Horikoshi & C. Omoto. 2015.** Genetic basis of  
437 *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor  
438 lufenuron. *Pest. Mang. Sci.* 72: 810-815.  
439
- 440 **Oliveira, I.M. 2017.** Resistência de artrópodos de importância agrícola ao controle químico no  
441 Brasil. Dissertação de Mestrado, UFV, Minas Gerais, 90p.  
442
- 443 **Orr, N., A.J. Shaffner, K. Richey & G.D. Crouse. 2009.** Novel mode of action of spinosad:  
444 Receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target  
445 sites. *Pestic. Biochem. Physiol.* 95: 1-5.  
446
- 447 **Palumbo, J.C. & D.L. Kerns. 1998.** Melon insect pest management in Arizona. Tucson, University  
448 of Arizona Cooperative Extension, 7p. (IPM Series 11).  
449

- 450 **Parrella, M.P. & C.B. Keil. 1984.** Insect pest management: the lesson of *Liriomyza*. Bull.  
451 Entomol. Soc. Am. 30: 22-25.  
452
- 453 **Parrella, M.P. 1987.** Biology of *Liriomyza*. Annu. Rev. Entomol. 32: 201-224.  
454
- 455 **Parrella, M.P., W.A.V. Allen, & P. Morishita. 1981.** Leafminer species causes California mum  
456 growers new problem. Calif. Agric. 35: 28-30.  
457
- 458 **Petcharat, J., Z. Ling, Z. Weiqiu, X. Zaifu & W. Quisong. 2002.** Larval parasitoids of  
459 agromyzid leaf miner genus *Liriomyza* in the southern Thailand: species and their host  
460 plants. Songklanakarin. J. Sci. Technol. 24: 467-472.  
461
- 462 **Picanço M., R.N.C. Guedes, G.L.D. Leite, P.C.R. Fontes & E.A. Silva. 1995.** Incidência de  
463 *Scrobipalpuloides absoluta* em tomateiro sob diferentes sistemas de tutoramento e de  
464 controle químico. Hort. Bras. 13: 180-183.  
465
- 466 **Quayle, H.J. 1938.** Insects of citrus and other subtropical fruits. Comstock, Ithaca, N.Y. 573p.  
467
- 468 **Rauf, A., B.M. Shepard & M.W. Johnson. 2000.** Leaf miners in vegetables, ornamental plants  
469 and weeds in Indonesia: surveys of host crops, species composition and parasitoids. Int. J.  
470 Pest. Manag. 46: 257-266.  
471
- 472 **Roush, R.T. & G.L. Miller. 1986.** Considerations for Design of Insecticide Resistance  
473 Monitoring Programs. J Econ Entomol 79: 293-298.  
474
- 475 **Scheffer, S.J. & M.L. Lewis. 2001.** Two nuclear genes confirm mitochondrial evidence of  
476 cryptic species with in *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Ann. Entomol. Soc.  
477 Am. 94: 648-653.  
478
- 479 **Scheffer, S.J. 2000.** Molecular evidence of cryptic species with in the *Liriomyza huidobrensis*  
480 (Diptera: Agromyzidae). J. Econ. Entomol. 93: 1146-1151.  
481
- 482 **Scheffer, S.J., M.L. Lewis & R.C. Joshi. 2006.** DNA Barcoding Applied to Invasive Leaf  
483 miners (Diptera: Agromyzidae) in the Philippines. Ann. Entomol. Soc. Am. 99: 204-210.  
484
- 485 **Shepard, B.M., Samsudin & A.R. Braun. 1998.** Season incidence of *Liriomyza huidobrensis*  
486 (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids on vegetables in Indonesia. Int. J. Pest Manag. 44:  
487 43-47.  
488
- 489 **Silva, P.A.F. 2014.** Bases para o manejo da resistência de *Liriomyza sativae* (blanchard) (Diptera:  
490 Agromyzidae) a inseticidas de risco reduzido. Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife,  
491 46p.  
492
- 493 **Siqueira H.A.A., R.N.C. Guedes & M.C. Picanço. 2000.** Insecticide resistance in populations of  
494 *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Agric. For. Entomol. 2: 147-153.  
495

- 496 **Soares Brasil, A.M, K.C. Oliveira, P.L. de Araújo Neto, I.A. do Nascimento & V.F. de**  
497 **Moraes Junior. 2012.** Representatividade do custo de controle da mosca minadora na  
498 produção de melão: um estudo de caso na empresa Santa Júlia Agro Comercial Exportadora  
499 de Frutas Tropicais Ltda. Cust . @gro. 8: 42-58.  
500
- 501 **Sombra, K.D. da S., E.L. Araujo & E.M. Costa. 2011.** Preferência de oviposição da mosca  
502 minadora (Diptera: Agromyzidae). Rev. Verde 6: 121-125.  
503
- 504 **Souza, J.C. 1993.** Mosca minadora: evitando prejuízos. Sin. Verde 6: 10-11.  
505
- 506 **Souza, J.C. de & P.R. Reis. 2001.** Minador-das-folhas: Importante praga na cultura da batata.  
507 Revista ABBA 2: 31-32.  
508
- 509 **Spencer, K.A. & G.C. Steyskal. 1986.** Manual of the Agromyzidae (Diptera) of the United  
510 States. Washington, United States Department of Agriculture, Agriculture Handbook,  
511 478p.  
512
- 513 **Tran. T.T.A., D.H. Tran, K. Konishi, & M. Takagi. 2005.** The vegetable leafminer *Liriomyza*  
514 *sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids on cucumber in the  
515 Hochiminh region of Vietnam. J. Fac. Agr. Kyushu Univ. 50: 119-124.  
516
- 517 **Tran, D.H. 2009.** Agromyzid leafminers and their parasitoids on vegetables in Central Vietnam.  
518 Journal ISSAAS. 15: 21-33.  
519
- 520 **Umeda, K., G.Gal & B. Strickland. 2011.** Leafminer control in cantaloupe. Disponível em:  
521 <[http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1101/az1101\\_18.html](http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1101/az1101_18.html)> Acesso em: 13 de Mai de 2017.  
522
- 523 **Valenzuela-Escoboza, F. A., N. Bautista-Martínez, J. R. Lomelí-Flores, E. Cortez-Mondaca**  
524 **& J. Valdez-Carrasco. 2010.** Natural Parasitism of Leafminer *Liriomyza trifolii* (Burgess)  
525 in Jalapeño Pepper in Northern Sinaloa, México. South. Entomol. 35: 569-572.  
526
- 527 **Whalon, M.E., D. Mota-Sanchez & R.M. Hollingworth. 2008.** Global pesticide resistance in  
528 arthropods. London, CABI, 208p.  
529
- 530 **Yang, C. 2012.** Acute human toxicity of macrocyclic lactones. Curr. Pharm. Biotechnol. 13: 999-  
531 1003.  
532
- 533 **Yee, L. W. 2018.** Spinosad Versus Spinetoram Effects on Kill and Oviposition of *Rhagoletis*  
534 *indifferens* (Diptera: Tephritidae) at Differing Fly Ages and Temperatures. J. Insect. Sci. 18:  
535 1-10.  
536  
537

538  
539  
540  
541  
542  
543  
544  
545  
546  
547  
548  
549  
550  
551  
552  
553  
554  
555  
556  
557  
558  
559  
560  
561  
562

CAPÍTULO 2  
METODOLOGIA DE BIOENSAIO COM *LIRIOMYZA SATIVAE* BLANCHARD  
(DIPTERA: AGROMYZIDAE) PARA AVALIAÇÃO DE SUSCETIBILIDADE A  
INSETICIDAS<sup>1</sup>

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

---

<sup>1</sup>Santos, E.A. Metodologia de bioensaio com *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) para avaliação de suscetibilidade a inseticidas. A ser submetido

563 RESUMO – Infestações de *Liriomyza sativae* causam perdas econômicas de até 30% em  
564 hortaliças como o melão e tomate. O controle desta praga geralmente é feito com o uso de  
565 inseticidas. Apesar do alto risco de evolução de resistência, raros são os trabalhos buscando  
566 estabelecer uma padronização na metodologia de bioensaios que detecte resistência de *L. sativae* a  
567 inseticidas. Desta forma, este trabalho aprimorou metodologias de bioensaios existentes para  
568 larvas de *L. sativae* buscando padronizar e possibilitar a obtenção de dados mais consistentes de  
569 suscetibilidade. Duas populações de *L. sativae* foram avaliadas com inseticidas através de imersão  
570 de discos de folhas (2cm de diâmetro) de melão e feijão de porco. Discos de folhas tratados  
571 contendo uma larva foram transferidos para bandejas (*bioassay tray*) e placas de acrílico. Os  
572 bioensaios foram avaliados após 48 e 72h de exposição. Os parâmetros de suscetibilidade  
573 variaram com a exposição, tipo de arena e hospedeiro, bem como o modo de ação do inseticida.  
574 Os bioensaios em *bioassay tray* proveram maior homogeneidade de resposta comparados aos de  
575 placas de acrílico. As curvas de concentração respostas foram mais precisas e homogêneas com  
576 folhas de melão comparadas com folhas de feijão de porco, apresentando valores de CL50 bem  
577 inferiores a estes últimos. Embora as duas metodologias possam ser empregadas para bioensaios  
578 toxicológicos, o uso de *bioassay tray* apresentou menor custo econômico e maior agilidade na  
579 elaboração. Portanto, o aprimoramento da metodologia de bioensaio toxicológico para espécies de  
580 *Liriomyza* promove resultados mais reprodutíveis e menos heterogêneos, viabilizando pesquisas  
581 de suscetibilidade e monitoramento da resistência a inseticidas.

582

583 PALAVRAS-CHAVE: Padronização, bioensaio, inseticidas, mosca minadora

584

585 BIOASSAY METHODOLOGY WITH LIRIOMYZA SATIVAE BLANCHARD (DIPTERA:

586 AGROMYZIDAE) FOR EVALUATION OF SUSCEPTIBILITY TO INSECTICIDES

587 ABSTRACT – *Liriomyza sativae* infestations cause economic losses of up to 30% in horticulture  
588 like melons and tomatoes, usually controlled with insecticides. Despite the high risk of evolution  
589 of resistance, rare are the works seeking to establish a standardization in the bioassay  
590 methodology that detects *L. sativae* resistance to insecticides. In this way, this work improved  
591 existing bioassay methodologies for larvae of *L. sativae*, seeking to standardize and make it  
592 possible to obtain more consistent data on susceptibility. Two populations of *L. sativae* were  
593 evaluated with insecticides by immersing leaf discs (2 cm in diameter) of melon and pork beans.  
594 Treated leaf discs containing a larva were transferred to trays (*Bioassay tray*) and acrylic plates.  
595 Bioassays were evaluated after 48 and 72 hours of exposure. The susceptibility parameters varied  
596 with exposure, type of arena and host, as well as the mode of action of the insecticides. Bioassays  
597 in the *Bioassay tray* provided greater homogeneity of response compared to acrylic plates. The  
598 response concentration curves were more accurate and homogeneous with melon leaves compared  
599 to pig bean leaves, presenting LC values well below these latter. Although the two methodologies  
600 can be used for toxicological bioassays, however, the use of *Bioassay tray* showed less economic  
601 cost and greater agility in the elaboration. Therefore, the enhancement toxicological bioassay  
602 methodology is suggested for *Liriomyza* species that provides more reproducible and less  
603 heterogeneous results, enabling research on susceptibility and monitoring of resistance to  
604 insecticides.

605 .

606 KEY WORDS: Standardization, bioassay, insecticides, mining fly

607

## Introdução

608  
609 Moscas minadoras do gênero *Liriomyza* (Diptera: Agromyzidae) (Gallo *et al.* 2002) estão  
610 entre as principais pragas da horticultura mundial (Reitz *et al.* 2013). Algumas espécies de  
611 *Liriomyza* atacam diversas culturas como por exemplo, meloeiro (*Cucumis melo*) e tomateiro  
612 (*Solanum lycopersicum*), ocasionando injúrias como: redução da área fotossintética da planta  
613 (Souza & Reis 2001), redução do teor de sólidos solúveis (brix) dos frutos (Parrella 1987, Araujo  
614 *et al.* 2007, Fernandes *et al.* 2000), ressecamento e desfolha da planta (Guimarães *et al.* 2005),  
615 abscisão das folhas (Parrella *et al.* 1981), atrofiamento das plantas (Johnson *et al.* 1983) e abertura  
616 de portas para a entrada de microrganismos patogênicos oportunistas (Palumbo & Kerns 1998,  
617 Azevedo *et al.* 2005). A espécie *Liriomyza sativae* (Blanchard) é uma das principais do gênero,  
618 devido as injúrias que causa em plantas de famílias de importância econômica, como  
619 Cucurbitaceae, Fabaceae e Solanaceae (Capinera, 2001). Na safra de 2004-2005 esta praga foi  
620 responsável por um aumento de R\$ 900,00 por hectare na cultura do meloeiro, levando também a  
621 uma perda de produção de 10 a 15% da área produzida (Araujo *et al.* 2007).

622 O controle químico é o método mais utilizado na atualidade para controle das moscas  
623 minadoras. Porém, devido ao uso intensivo dos agroquímicos já existem relatos de resistência nos  
624 Estados Unidos, onde *Liriomyza trifolii* (Burgess) desenvolveu resistência a todas as classes de  
625 inseticidas registrados, exceto para ciromazina e abamectina, que vem sendo usados desde a  
626 década de 1980, sendo o primeiro um regulador de crescimento e o segundo agonista do ácido  $\gamma$ -  
627 aminobutírico (Leibee 1981, Parrella & Keil 1984, Cox *et al.* 1995, Ferguson 2004, Reitz *et al.*  
628 2013). Mais recentemente, outros inseticidas vêm sendo utilizados para o controle da minadora,  
629 como espinetoram que possui um modo de ação que atua primariamente nos receptores  
630 nicotínicos da acetilcolina e nos receptores do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) (Orr *et al.* 2009),  
631 através do contato com o tegumento do inseto e por ingestão de massa vegetal, atuando em vários

632 estágios de vida do inseto (Yee 2018). E o ciantraniliprole que é uma diamida e atua nos  
633 receptores de rianodina, ativando os receptores de rianodina nos canais de cálcio nas fibras  
634 musculares levando o inseto a cessação de alimentação, letargia, paralisia e por fim a morte  
635 (Cordova *et al.* 2006, Lahm *et al.* 2007).

636 As espécies de *Liriomyza* apresentam características biológicas que favorecem a evolução  
637 para a resistência, como elevada taxa de fecundidade e por serem multivoltinas. Isto tem  
638 dificultado o controle eficiente desta praga (Parrella & Keil 1984). De acordo com o banco de  
639 dados “Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD)”, existem pelo menos 575 espécies de  
640 pragas com relatos de resistência a ingredientes ativos no mundo (Oliveira, 2017). Sendo de  
641 grande importância estudos que detectem e monitorem esse fenômeno, através de bioensaios  
642 toxicológicos. Diversos autores já realizaram bioensaios com *L. sativae* (Leibee 1981, Leibee  
643 1985, Leibee 1988, Cox *et al.* 1995, Ferguson 2004), no entanto, a despadronização das  
644 metodologias utilizadas (número irregular de repetições por tratamento e favorecimento de  
645 competição entre as larvas), é um obstáculo que dificulta a determinação do status atual da  
646 resistência da mosca minadora aos inseticidas usados (Cox *et al.* 1995, Ferguson 2004). Pois esses  
647 trabalhos apresentam maior heterogeneidade nos resultados toxicológicos. Além de lacunas como:  
648 o tempo total para realização do bioensaio e o custo para a realização do mesmo, não terem sido  
649 avaliadas

650 Atualmente, as metodologias empregadas nos bioensaios toxicológicos com espécies de  
651 *Liriomyza* são adaptadas da metodologia de Cox *et al.* (1995) e Ferguson (2004). Utilizando a  
652 imersão de uma parte da folha dos hospedeiros em calda de inseticida. Silva (2014) realizou  
653 estudos de suscetibilidade de *L. sativae* aos inseticidas abamectina, espinosade e  
654 clorantraniliprole, bem como estabeleceu uma linha base para os inseticidas ciantraniliprole e  
655 espinetoram, no entanto usando metodologia semelhante e, portanto com resultados heterogêneos

656 nos parâmetros toxicológicos. As populações avaliadas por Silva (2014) foram consideradas  
657 suscetíveis aos inseticidas testados, pois ocasionaram alta mortalidade em concentrações abaixo  
658 da dose de campo. Tomando como base a metodologia de Silva (2014), cada secção da folha era  
659 considerada uma repetição e possuía número variável de larvas, essa despadronização do número  
660 de larvas por repetição poderia favorecer a competição entre elas, além de mascarar os resultados  
661 toxicológicos, matando o inseto por outras causas que não o efeito do inseticida. Os fragmentos de  
662 folhas também poderiam ocasionar tais efeitos em função dos tamanhos diferenciados. Os  
663 pedaços de folhas por serem repetições de maiores proporções, além de exigir maior volume de  
664 calda também apresentavam necessidade de serem acondicionados em recipientes maiores,  
665 dependendo assim de mais materiais para o bioensaio como um todo.

666 Diante destas desuniformidades no número de larvas em cada repetição, tamanho irregular de  
667 cada parte seccionada da folha e toda problemática na realização destes bioensaios, este trabalho  
668 objetivou estabelecer uma metodologia de bioensaio com larvas de *L. sativae*, que possibilite a  
669 padronização de todas as etapas, determinando sua viabilidade a partir dos parâmetros: custo  
670 financeiro, tempo para realização do bioensaio e resposta das curvas de mortalidade. Determinando  
671 também, a suscetibilidade para os inseticidas abamectina, ciromazina, espinetoram e  
672 ciantraniliprole nas populações avaliadas, sendo estes atualmente os principais inseticidas  
673 utilizados em campo para controle de *L. sativae*.

674 Esses parâmetros de viabilidade da metodologia também foram usados por Martins *et al.*  
675 (2004) em *Anthonomus grandis* Boheman (1843) (Coleoptera: Curculionidae) e por Galdino *et al.*  
676 (2011) em *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepdoptera: Gelechiidae). Como a metodologia  
677 estabelecida por Cox *et al.* (1995) é a usada como base para os estudos com a mosca minadora  
678 (Leibee 1981, Leibee 1985, Leibee 1988, Johansen *et al.* 2003, Ferguson 2004, Silva 2014) e não  
679 contempla as informações de custo total e tempo para realização do bioensaio é crucial a

680 determinação desses parâmetros para validação e aprimoramento de uma metodologia viável para  
681 bioensaios com *L. sativae*.

682

683

### **Material e Métodos**

684 **Manutenção das Populações de *L. sativae* em Laboratório.** Duas populações de *L. sativae*  
685 foram utilizadas neste estudo, uma delas foi coletada em área de produção de pepino (*Cucumis*  
686 *sativus*), localizada no município de Camocim de São Félix, Pernambuco e a outra foi coletada em  
687 área de produção de melão, no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. Esta última era  
688 mantida em laboratório a mais de 50 gerações, e por isto foi considerada padrão de  
689 suscetibilidade. Ambas populações foram mantidas no Laboratório de Interações Insetos –  
690 Tóxicos (LIIT) da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A identificação taxonômica foi  
691 realizada ao nível de espécie através de técnicas morfológicas (Lonsdale, 2011; 2017).

692 A metodologia de criação foi adaptada de Araujo (2007), adultos foram mantidos em gaiolas  
693 de 50 x 50 cm de base e 50 cm de altura, com face lateral de tela antiafídica. Casais de insetos, em  
694 números variáveis, foram liberados no interior das referidas gaiolas para as fêmeas ovipositarem  
695 em plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis*), por um período de 24 horas. Os adultos  
696 foram alimentados com solução de mel a 10%, fornecida por capilaridade através de uma esponja  
697 acondicionada em recipientes circulares de acrílico. O ambiente contendo as gaiolas foi mantido  
698 sob condições controladas com temperatura de  $25 \pm 2$  °C, UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12 h. As  
699 plantas, contendo folhas com posturas, foram mantidas em vasos de 25 mm de diâmetro e sob as  
700 mesmas condições ambientais de temperatura e umidade. Sendo acondicionados em grupos de 4  
701 vasos por bandeja, onde permaneceram durante o desenvolvimento embrionário com o  
702 fornecimento diário de água, a qual era disponibilizada a planta por capilaridade.

703 Passados quatro dias, as folhas foram cortadas na região do pecíolo e postas em frasco âmbar  
704 com volume de 100 mL contendo água + hipoclorito de sódio a 2% (assegurando a turgidez da  
705 folha). Os frascos foram mantidos dentro de bandejas plásticas revestidas com papel manteiga  
706 para proteção das pupas que se formariam. As pupas foram coletadas com pincel e transferidas  
707 para placas de Petri de 7 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura que foram fechadas com filme plástico  
708 para evitar a fuga. Ao emergir o primeiro adulto, as placas de Petri com pupas foram transferidas  
709 para o interior das gaiolas, para manutenção da população.

710 **Inseticidas.** Os inseticidas utilizados para este estudo foram: abamectina (Vertimec® - 18g  
711 i.a./L, concentrado emulsionável, Syngenta), ciantraniliprole (Benevia® - 100 g i.a./L, suspensão  
712 concentrada em óleo, DuPont do Brasil), ciromazina (Trigard® 750 WP- 50 g i.a./Kg, pó  
713 molhável, Syngenta) e espinetoram (Delegate® - 250g i.a./Kg, granulado dispersível, Dow  
714 Agrosiences Industrial Ltda). Os inseticidas foram diluídos em água contendo o agr'óleo® (Gota  
715 Industrial Ltda) na concentração de 0,05% para facilitar a penetração dos inseticidas nas folhas.  
716 As folhas do controle foram tratadas apenas com água destilada + agr'óleo®.

717 **Bioensaios de Suscetibilidade em Bandejas Bioassay Tray.** Números variáveis de plantas de  
718 feijão de porco ainda em fase cotiledonar foram postas nas gaiolas contendo casais adultos de *L.*  
719 *sativae*. Após um período de 2 h, obteve-se oviposição bem espaçada por toda superfície das  
720 folhas, o que possibilitou a individualização das larvas para o bioensaio. As plantas foram  
721 depositadas em uma bandeja plástica e esperou-se três dias para que as larvas eclodissem e  
722 atingissem o segundo instar larval. Em seguida, discos de folhas contendo apenas uma larva de *L.*  
723 *sativae* foram cortados com o auxílio de um tubo de aço inoxidável com diâmetro de 2 cm (Figura  
724 1). A viabilidade das larvas foi verificada com o auxílio de um microscópio estereoscópico (E100  
725 LED Nikon) com aumento de 40x, tocando a larva com um pincel de cerdas macias e observando-  
726 se o movimento do seu aparelho bucal (Figura 2-C). Caso houvesse mais de uma larva por disco,

727 a excedente era eliminada com um alfinete entomológico, ficando apenas uma larva no disco de 2  
728 cm.

729 Depois da individualização e corte dos discos, eles foram imersos individualmente por  
730 dois segundos em concentrações seriadas do inseticida avaliado com o auxílio de pinça inoxidável  
731 (Figura 2-D). Posteriormente, os discos foram dispostos em superfície plana revestida por papéis  
732 toalhas até a completa secagem dos mesmos. Para a realização de cada bioensaio, utilizou-se 10  
733 bandejas *Bioassay tray* (modelo Clear Rearing Tray), com 32 células cada que foram preenchidas  
734 previamente por discos de papel filtro (Figura 2-E) umedecido com 200  $\mu$ L de água destilada com  
735 o auxílio de uma pipeta automática. Cada bandeja correspondeu a uma concentração do inseticida  
736 avaliado, portanto, nove para os tratamentos com inseticida e uma bandeja para o controle. Após  
737 totalmente secos, os discos de folhas foram vedados em uma espécie de câmara úmida, feita por  
738 duas bandejas *bioassay tray*, uma sobre a outra e associadas a uma vedação lateral formada por  
739 paletas de plástico, possibilitando assim um microclima que mantinha a turgidez das folhas até a  
740 avaliação do bioensaio (Figura 2-F). As bandejas devidamente vedadas foram identificadas e  
741 acondicionadas em câmara climatizada B.O.D com temperatura de  $25 \pm 1$  °C, UR de  $60 \pm 5\%$  e  
742 fotofase de 12 h. Após um período de 48 h cada disco foi observado em microscópio  
743 estereoscópico para verificação da mortalidade e registro dos resultados, sendo novamente  
744 avaliado no período de 72 h após a realização do ensaio, isso garantiu a atuação de inseticidas que  
745 apresentavam ação mais lenta.

746 **Bioensaios de Suscetibilidade em Placas de Acrílico.** Para realização deste bioensaio discos de  
747 folhas de feijão de porco contendo uma única larva foram obtidos da forma descrita no tópico  
748 anterior (Figura 2-AB). Placas de acrílico com diâmetro interno de 5 cm foram revestidas com  
749 papel filtro, cortado anteriormente de acordo com o diâmetro interno das placas, e umedecidos  
750 com 300  $\mu$ L de água destilada (Figura 2-G) pois a vedação em placa de acrílico favorecia o

751 ressecamento dos discos de folhas. Após a secagem foram formados 10 grupos contendo 32  
752 placas fechadas cada, sendo cada grupo referente a uma concentração do inseticida e um deles o  
753 controle do bioensaio. Cada placa recebeu um disco de planta tratado com as devidas  
754 concentrações (Figura 2-H). Todo o material foi devidamente identificado e acondicionado em  
755 câmara climatizada B.O.D. com temperatura de  $25 \pm 1$  °C, UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12 h. A  
756 avaliação da mortalidade das larvas foi realizada após 48 e 72 h com o auxílio de microscópio  
757 estereoscópico.

758 **Cronometragem do Bioensaio.** Para determinar o tempo despendido em cada etapa dos  
759 bioensaios em bandeja bioassay tray e placa de acrílico, cronometrou-se o tempo gasto para  
760 realização de cada atividade, sendo estas nomeadas como: corte de folhas minadas pela *L. sativae*  
761 (CF), marcação das minas para obtenção dos discos de folhas (MM), corte dos discos de folhas de  
762 2 cm (CD), verificação da viabilidade das larvas através de uma lupa (Olympus SZ61, Olympus®,  
763 Center Valley, PA, EUA) (VV), preparo das concentrações para (PC), imersão dos discos de  
764 folhas em solução inseticida (ID), secagem dos discos (SD), preparo das placas de acrílico e  
765 bandejas *bioassay tray* (PPB) que consistiu em adicionar papel filtro e umidece-los; e finalização  
766 do ensaio com placa de acrílico e bandejas *bioassay tray* (FPB), o qual consistiu em transferir os  
767 discos de folhas tratados às arenas, realizar as anotações contendo: população avaliada, qual  
768 inseticida usado e sua concentração, a data de preparo da placa ou bandeja e por fim, alocação do  
769 bioensaio na câmara climatizada B.O.D. onde permaneceu até o momento de avaliação. O tempo  
770 Livre (TL) correspondeu aos intervalos entre um procedimento e outro descrito acima.

771 Dez leituras de tempo foram realizadas de cada uma das duas metodologias aplicadas,  
772 portanto 10 repetições para cada, o tempo de cada procedimento citado acima foi monitorado com  
773 auxílio de um cronômetro. Sendo todos os ensaios realizados completamente por apenas uma

774 pessoa, para não haver diferenciação no quesito mão-de-obra. E em seguida realizou-se a  
775 comparação das médias pelo teste de T (SAS Institute, 2001) para cada parâmetro acima citado.

776 **Análise de Custos para Realização dos Bioensaios.** Foram estimados os custos envolvidos na  
777 realização de cada uma das metodologias descritas, como subsídios para a seleção da melhor  
778 metodologia a ser empregada. Esta avaliação foi realizada sobre os itens necessários para  
779 realização de um bioensaio composto por 9 concentrações, mais o controle; com apenas uma  
780 população sendo pesquisada e somente um inseticida testado. O custo total para cada metodologia  
781 é o resultado da soma do custo fixo total (CFT) e o custo variável total (CVT). Estes custos  
782 referem-se, respectivamente, aos insumos (recursos) e operações (mão-de-obra) utilizados durante  
783 todo o processo de desenvolvimento das metodologias (Reis, 2002). Nesse trabalho o valor do  
784 CVT foi calculado conforme o valor pago pelos órgãos de fomento a pesquisa brasileira ao  
785 estudante de doutorado, sendo fixado em R\$ 2300,00 ou US\$ 563,23. Portanto, a análise de custos  
786 foi realizada com valor de moeda em dólar (\$) e dos produtos tomando como referência os valores  
787 do varejo local.

788 **Metodologia de Bioensaio Aplicada em Folha de Meloeiro.** Para verificar a aplicabilidade da  
789 nova metodologia de bioensaio também em hospedeiro de maior impacto econômico na produção  
790 agrícola foram usados discos de folhas de meloeiro, sendo realizados bioensaios toxicológicos  
791 com os inseticidas ciantraniliprole e espinetoram, já que esses são os inseticidas mais  
792 recentemente registrados para controle da minadora. O experimento foi conduzido no Laboratório  
793 de Entomologia Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, Rio Grande  
794 do Norte, no período de dezembro a janeiro de 2018/2019. Com a população de laboratório que já  
795 se encontrava a mais de 50 gerações sem pressão de seleção. Sementes de melão da cultivar  
796 Iracema (SAKATA) foram semeadas em bandejas de isopor de 200 células, tendo como substrato  
797 a mistura de 1:1 de fibra de coco e substrato formulado especificamente para produção de mudas

798 (Basaplant), em seguida foram encaminhadas para casa de vegetação, onde foram irrigadas duas  
799 vezes ao dia. Após 20 dias as plântulas já apresentavam a primeira folha verdadeira, sendo então  
800 postas no interior das gaiolas de criação com adultos de *L. sativae* e permanecendo nessas por um  
801 período de 2h para exposição a oviposição das fêmeas. Devido aos resultados encontrados nos  
802 bioensaios com feijão de porco a metodologia deste bioensaio foi empregada conforme descrito  
803 no tópico bioensaios de suscetibilidade em bandejas *bioassay tray*.

804 Depois da individualização e corte dos discos, esses foram imersos por 2 segundos em  
805 concentrações seriadas do inseticida ciantraniliprole (0,078125mg/L à 20mg/L) ou espinetoram  
806 (0,0390625mg/L à 20mg/L). Posteriormente, os discos foram dispostos em superfície plana  
807 revestida por folhas de papel toalha até a completa secagem. Para a realização do bioensaio foram  
808 usadas 10 bandejas *Bioassay tray* (modelo Clear Rearing Tray), contendo 32 células cada e  
809 preenchidas previamente por discos de papel filtro umedecidos com 200µL de água destilada.  
810 Cada bandeja correspondeu a uma concentração do inseticida avaliado, utilizou-se portanto 9  
811 concentrações, sendo uma bandeja para o controle do ensaio. Após totalmente secos os discos de  
812 folhas de meloeiro foram acondicionados em bandejas *bioassay tray*, em seguida outras bandejas  
813 vazias foram sobrepostas a essas bandejas que continham os discos permitindo assim a vedação e  
814 possibilitando um microclima que mantivesse a turgidez das folhas até a avaliação do bioensaio.  
815 Por fim, as bandejas foram identificadas e acondicionadas em BOD sob condições controladas.  
816 Após um período de 48 e 72h todos os discos foram submetidos à verificação de mortalidade em  
817 lupa.

818 **Análises Estatísticas.** Os dados de mortalidade obtidos dos bioensaios de concentração-  
819 mortalidade após correção pelo tratamento controle (Abbott 1925) foram submetidos à análise de  
820 probit com  $P > 0,05$  (Finney 1971) através do programa estatístico PoloPlus (LeOra Software  
821 2005). As respostas das populações de *L. sativae* testadas foram utilizadas para obtenção das

822 inclinações das curvas e estimativas dos valores de CL50 e CL99 para os quatro inseticidas  
823 testados. As razões de resistência (RR) foram calculadas pelo teste de razão letal e consideradas  
824 significativas quando o intervalo de confiança (IC) a 95% não incluiu o valor um, conforme  
825 proposto por Robertson & Preisler (1992). A população de Mossoró foi utilizada como  
826 padrão de suscetibilidade em todos os bioensaios. As premissas da análise de variância (ANOVA)  
827 foram testadas usando PROC UNIVARIATE. As médias foram submetidas à análise de variância  
828 (PROC ANOVA) e teste de T,  $P < 0,05$  para verificar diferenças entre as populações.

829

830

### Resultados

831 **Bioensaios de Suscetibilidade em Bandejas (*Bioassay Tray*)**. Os resultados de concentração-  
832 mortalidade ajustaram-se ao modelo de probit ( $\chi^2$  não significativo,  $P > 0,05$ ). As populações  
833 avaliadas quanto ao inseticida abamectina, após 48h de exposição e utilizando a metodologia com  
834 emprego de bandeja *Bioassay Tray* apresentaram valores de CL<sub>50</sub> de 3,61 (Camocim-PE) e 3,74  
835 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 1) e 1,60 (Camocim-PE) e 3,13 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela  
836 3) após 72 h de exposição. A razão de resistência (RR<sub>50</sub>) entre as populações foi de 0,97 para 48 h  
837 e 0,51 para 72 h, baseado no limite de confiança a 95% de probabilidade para as razões de  
838 resistência, o valor encontrado às 72 h apresentou RR significativa (Tabela 3). As populações  
839 apresentaram heterogeneidade, pois os valores de qui-quadrado e as inclinações das retas foram  
840 relativamente baixos. Quanto aos valores de CL<sub>99</sub> das populações para abamectina as 48 h foram  
841 75,20 (Camocim-PE) e 72,00 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 1) e às 72 h foram 37,04  
842 (Camocim-PE) e 59,78 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 3).

843 Os valores de CL<sub>50</sub> das populações avaliadas para o inseticida ciantraniliprole em 48h foi de  
844 1,50 (Camocim-PE) e 1,85 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 1), enquanto que em 72h os valores  
845 foram de 0,43 (Camocim-PE) e 0,68 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 3). As razões de resistência

846 (RR<sub>50</sub>) para 48h e 72h foram respectivamente de 1,76 (Tabela 1) e 0,63 vezes (Tabela 3). Os  
847 valores de qui-quadrado foram baixos e a população de Mossoró-RN apresentou-se mais  
848 homogênea (2,41) às 48 h (Tabela 1) e (2,97) às 72 h (Tabela 3), sugerindo uma resposta mais  
849 homogênea em comparação a população de Camocim-PE, (1,37) às 48 h (Tabela 1) e (1,56) às 72 h  
850 (Tabela 3). Os valores de CL<sub>99</sub> das populações para ciantraniliprole após 48h de exposição foram  
851 73,25 (Camocim-PE) e 7,84 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 1) e após 72h foram 13,46  
852 (Camocim-PE) e 4,14 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 3).

853 Os valores de CL<sub>50</sub> das populações avaliadas para o inseticida ciromazina em 48h foi de 5,23  
854 (Camocim-PE) e 2,18 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 1) às 72 h os valores foram 1,52  
855 (Camocim-PE) e 0,90 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 3). A razão de resistência (RR<sub>50</sub>) para 48h e  
856 72h foi respectivamente de 2,39 (Tabela 1) e 1,69 vezes (Tabela 3), respectivamente. qui-quadrado  
857 foram baixos e a inclinação da reta das populações de *L. sativae* a ciromazina não apresentaram  
858 grandes variações. Quanto aos valores de CL<sub>99</sub> das populações para ciromazina às 48h foram  
859 2540,1 (Camocim-PE) e 129,69 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 1) e após 72 h foram 128,268  
860 (Camocim-PE) e 93,70 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 3).

861 Em relação ao inseticida espinetoram estimou-se CL<sub>50</sub> de 0,54 (Camocim-PE) e 0,25 (Mossoró-  
862 RN) a mg i.a./L (Tabela 1) e após 72 h os valores foram 0,18 (Camocim-PE) e 0,14 (Mossoró-RN)  
863 mg i.a./L (Tabela 3). Com razão de resistência (RR<sub>50</sub>) de 2,11 para 48h (Tabela 1) e 1,22 para 72h,  
864 sendo esta última não significativa segundo o intervalo de confiança (Tabela 3). Os valores das  
865 inclinações das retas foram relativamente baixas entre as populações assim como o qui-quadrado..  
866 Possuindo valores de CL<sub>99</sub> às 48h de avaliação, de 21,84 (Camocim-PE) e 12,24 (Mossoró-RN) mg  
867 i.a./L (Tabela 1) e após 72h foram 7,86 (Camocim-PE) e 8,58 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 3)  
868 quando utilizada a metodologia de bioensaio com uso de bandejas *bioassay tray*.

869 **Bioensaios de Suscetibilidade em Placas de Acrílico.** Para a metodologia de bioensaio  
870 utilizando placa de acrílico estimou-se para o inseticida abamectina  $CL_{50}$  de 4,86 (Camocim-PE) e  
871 2,58 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 2) às 48 h e após 72 h os valores foram 2,99 (Camocim-PE)  
872 e 1,83 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 4). A razão de resistência ( $RR_{50}$ ) entre as populações foi  
873 de 1,88 às 48 h (Tabela 2) e 1,62 após 72 h (Tabela 4), possuindo significância nos dois tempos de  
874 avaliação segundo o intervalo de confiança a 95% de probabilidade. Os valores de qui-quadrado  
875 foram baixos e a população de Mossoró-RN apresentou a maior inclinação (1,51) às 48 h (Tabela  
876 2) e (1,68) às 72 h (Tabela 4), sugerindo uma resposta mais homogênea em comparação a  
877 população de Camocim-PE, (1,03) às 48 h (Tabela 2) e (1,34) às 72 h (Tabela 4). Quanto aos  
878 valores de  $CL_{99}$  das populações para abamectina as 48h foram 855,716 (Camocim-PE) e 88,90  
879 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 2) e às 72 h foram 162,30 (Camocim-PE) e 44,57 (Mossoró-RN)  
880 mg i.a./L (Tabela 4).

881 Para o inseticida ciantraniliprole, estimou-se os seguintes valores de  $CL_{50}$  das populações  
882 avaliadas em 48h: 0,96 (Camocim-PE) e 1,00 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 2) e após 72 h os  
883 valores foram 0,61 (Camocim-PE) e 0,67 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 4). A razão de  
884 resistência ( $RR_{50}$ ) entre as populações foi de 0,96 para 48 h (Tabela 2) e 0,91 para 72 h (Tabela 4),  
885 não apresentando valores significativos de RR. Quanto aos valores de  $CL_{99}$  das populações para  
886 ciantraniliprole as 48h foram 23,72 (Camocim-PE) e 3,29 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 2) e  
887 após 72 h foram 15,65 (Camocim-PE) e 15,22 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 4).

888 Para ciromazina estimou-se  $CL_{50}$  de 7,17 (Camocim-PE) e 5,70 (Mossoró-RN) mg i.a./L  
889 (Tabela 2) às 48 h e após 72 h o valor foi de 3,30 (Camocim-PE) e 1,09 (Mossoró-RN) mg i.a./L  
890 (Tabela 4). Os valores de qui-quadrado foram baixos e as inclinações das retas também. Os valores  
891 de  $CL_{99}$  foram de 2924,8 (Camocim-PE) e 5726,4 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 2) às 48 h e  
892 após 72 h foram de 1220,8 (Camocim-PE) e 121,90 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 4). A razão

893 de resistência ( $RR_{50}$ ) foi de 1,25 para 48h (Tabela 2) e 3,01 após 72h (Tabela 4), apresentando  
894 valores significativos de RR apenas as 72h.

895 Os resultados para espinetoram foram de  $CL_{50}$  0,32 (Camocim-PE) e 0,04 (Mossoró-RN) mg  
896 i.a./L (Tabela 2) às 48 h e após 72 h foram 0,22 (Camocim-PE) e 0,02 (Mossoró-RN) mg i.a./L  
897 (Tabela 4). A razão de resistência ( $RR_{50}$ ) entre as populações foi de 7,03 às 48 h (Tabela 2) e 9,67  
898 após 72 h (Tabela 4), apresentando valores significativos e altos de RR para os dois tempos  
899 pesquisados, segundo o intervalo de confiança com 95% de probabilidade. Os valores de qui-  
900 quadrado foram baixos e as inclinações das retas foram relativamente baixas entre as populações.  
901 Os valores de  $CL_{99}$  às 48 h foram 13,66 (Camocim-PE) e 1,01 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 2)  
902 e às 72h foram 5,15 (Camocim-PE) e 0,48 (Mossoró-RN) mg i.a./L (Tabela 4).

903 **Cronometragem do Bioensaio.** Os tempos totais necessários para realização dos bioensaios com  
904 *bioassay tray* e placas de acrílico diferiram estatisticamente pelo teste de T ( $GL= 18$ ;  $t=13,61$ ;  
905  $P=0,0001$ ). O tempo utilizando a metodologia com uso das bandejas *bioassay tray* foi em média  
906 de 321 minutos (Figura 3), o que equivale a 5 horas e 21 min, enquanto a metodologia com uso de  
907 placas de acrílico, este tempo médio foi de 434 minutos (Figura 3), o que corresponde à 7 horas e  
908 14 min.

909 Verificou-se diferença estatística na comparação dos tempos gastos para a realização dos  
910 procedimentos PPB e FPB, segundo o teste T. Apresentando os seguintes valores médios de PPB  
911 para placa de acrílico e bandeja *bioassay tray*, respectivamente: 76,86 min e 34,76 min (Figura 3);  
912 com  $GL= 18$ ;  $t= 12,24$  e  $P=0,0001$ . E para FPB em placa de acrílico 84,32 min e FPB em bandeja  
913 *bioassay tray* 22,20 min (Figura 3) com  $GL= 18$ ;  $t=19,11$  e  $P=0,0001$ .

914 Os demais procedimentos não apresentaram diferença estatística ao serem comparados  
915 pelo teste t, apresentando os seguintes valores médios de tempo quando usada a metodologia  
916 utilizando placa de acrílico e bandeja *bioassay tray*, respectivamente: CF= 5,14min e 4,98min

917 (GL= 18; t=0,71 e P=0,4843); MM= 24,82min e 22,87min (GL= 18; t=1,48 e P=0,1559); CD=  
918 56,84min e 59,61min (GL= 18; t=1,79 e P=0,0906); VV= 80,15min e 75,81 (GL= 18; t=0,70 e  
919 P=0,4937); PC= 30,34min e 28,72min (GL= 18; t=0,45 e P=0,6610); ID= 27,26min e 28,79min  
920 (GL= 18; t=0,46 e P=0,6486); SD= 43,11min e 41,07min (GL= 18; t=0,47 e P= 0,6473); e por fim  
921 TL= 41,64min e 44,92min (GL= 18; t=0,75 e P=0,4619) (Figura 3).

922 **Análise de Custos para Realização dos Bioensaios.** O custo total para elaboração do bioensaio  
923 em placa de acrílico foi de US\$ 1067,94 e para a realização do mesmo bioensaio em bandejas  
924 *bioassay tray* o custo total foi de US\$ 1004,57 (Tabela 5), não apresentando diferença estatística  
925 segundo o teste t (GL=32; t= 0,07; P=0,9437). Com os valores de CFT de US\$ 504,71 para o  
926 bioensaio realizado em placa de acrílico e US\$ 441,34 para o bioensaio realizado em bandeja  
927 (Tabela 5).

928 **Metodologia de Bioensaio Aplicada em Folha de Meloeiro.** Os resultados para a avaliação dos  
929 insetos após 48 h de exposição ao inseticida ciantraniliprole foram de 0,02 CL<sub>50</sub>; 0,11 CL<sub>80</sub> e 2,40  
930 CL<sub>99</sub> mg i.a./L (Tabela 6). Após 72 h de exposição ao inseticida os valores foram 0,01 CL<sub>50</sub>; 0,07  
931 CL<sub>80</sub> e 0,17 CL<sub>99</sub> mg i.a./L (Tabela 6). Quando avaliado o inseticida espinetoram os valores foram  
932 0,38 CL<sub>50</sub>; 0,66 CL<sub>80</sub> e 1,75 CL<sub>99</sub> mg i.a./L (Tabela 6) às 48 h de exposição e 0,30 CL<sub>50</sub>; 0,48 CL<sub>80</sub>  
933 e 1,05 CL<sub>99</sub> mg i.a./L (Tabela 6) após 72 h de exposição. Tanto para ciantraniliprole quanto  
934 espinetoram os valores de qui-quadrado foram baixos e as inclinações das retas também foram  
935 baixas, não tendo grandes variações de um tempo de exposição para o outro.

936

937

### Discussão

938 Um dos primeiros passos no manejo da resistência de pragas a inseticidas é o relato do  
939 fenômeno, o que se faz após o uso de técnicas de detecção. Desta forma, técnicas de detecção  
940 devem permitir a discriminação entre os indivíduos fenotipicamente suscetíveis daqueles

941 resistentes, reduzindo ao máximo falsos positivos. Em geral, técnicas que discriminam fenótipos  
942 compreendem o uso de ferramentas toxicológicas baseadas em curvas de doses ou concentrações  
943 respostas. Porém uma série de fatores interferem na capacidade de discriminação destas curvas e a  
944 sua própria natureza sigmoideal. Estes fatores têm sido um dos entraves para as pesquisas com  
945 *Liriomyza* spp., reduzindo o poder de discriminação das populações suscetíveis e resistentes aos  
946 inseticidas usados em campo (Cox *et al.* 1995, Ferguson 2004). Neste estudo, houve uma  
947 preocupação inicial em desenvolver uma metodologia de bioensaio toxicológico que eliminasse  
948 alguns fatores, uniformizando a técnica atualmente empregada e viabilizando os estudos  
949 toxicológicos com moscas minadoras. A metodologia empregada atualmente nos bioensaios  
950 toxicológicos com o gênero *Liriomyza* consiste na imersão de pedaços irregulares da folha dos  
951 hospedeiros em calda de inseticidas, de forma que é usado um número variável de larvas em cada  
952 repetição do bioensaio (Johansen *et al.* 2003, Ferguson 2004, Silva 2014). Isso pode favorecer a  
953 competição entre as larvas por alimento e espaço já que a competição é uma interação de  
954 organismos em decorrência de uma necessidade de compartilhamento de recursos, ocasionando  
955 uma redução de sobrevivência e crescimento, em pelo menos um dos indivíduos envolvidos  
956 (Begon *et al.* 2006).

957 As duas metodologias descritas neste trabalho apresentaram viabilidade e reprodutibilidade  
958 ao longo dos bioensaios, em 96% dos bioensaios houve mortalidade de 0% no controle e em 4%  
959 deles houve mortalidade de 2%. Ambas metodologias, bandejas de bioensaio ou placas de acrílico,  
960 podem ser usadas, no entanto o uso de bandejas (*bioassay tray*) apresentou maior otimização do  
961 tempo para realização do bioensaio, o menor custo (numericamente, pois estatisticamente não  
962 houve diferença entre as metodologias), menor uso de materiais e respostas satisfatórias das curvas  
963 de dose-mortalidade. Nesses bioensaios, a individualização das larvas permitiu uma padronização  
964 do número de larvas, tornando as respostas mais homogêneas entre as repetições destes. Essa

965 individualização impede a competição entre larvas, evitando morte por fatores adversos a ação do  
966 inseticida. O controle mostrou que o corte dos discos de folhas seja de feijão de porco ou de  
967 meloeiro não afetou o desempenho das larvas. As larvas desenvolveram-se bem, apresentando  
968 pupas nas repetições que os indivíduos sobreviveram após as 72 h de exposição aos inseticidas. A  
969 sobreposição das bandejas aparentemente permitiu a geração de uma microcâmara úmida,  
970 diminuindo o estresse hídrico, viabilizando a turgidez da folha e permitindo o desenvolvimento  
971 larval mesmo após as 72 h. Foi possível observar que as curvas após as 72 h de exposição  
972 discriminaram melhor os indivíduos, estas apresentaram menores valores de qui-quadrado e as  
973 inclinações das curvas foram mais íngremes quando comparadas aos valores após 48 h de  
974 exposição, ou seja, constata-se maior homogeneidade das populações avaliadas. Essa observação  
975 também foi verificada por Magalhães *et al* (2012), que ao avaliar a Traça-da-maçã *Cydia*  
976 *pomonella* (Lepdoptera: Tortricidae) após 4 dias (96 h) de exposição a inseticidas, entre eles o  
977 espinetoram, apresentou curvas de dose-resposta com menores valores de qui-quadrado (5,94) e  
978 maiores inclinações de reta (2,56) para este inseticida.

979 Com essas metodologias foi possível o uso de um número maior de indivíduos por repetição,  
980 totalizando 608 indivíduos em um bioensaio de 9 concentrações mais o controle, o que também  
981 permitiu uma melhoria na resposta por conta deste aumento em graus de liberdade, atendendo desta  
982 forma recomendações de Roberston *et al.* (2007). A metodologia usada por Silva (2014)  
983 apresentava o benefício de menor uso de placas de acrílico, já que seriam muitas larvas em um  
984 único pedaço de folha, mas em contrapartida a competição seria muito maior e existiria  
985 irregularidade no número de indivíduos testados de um pedaço de folha para outro, não  
986 uniformizando o bioensaio em geral. O que levou possivelmente a uma maior variação nas  
987 respostas de bioensaios com estes inseticidas. Um outro fator otimizador do aprimoramento da  
988 metodologia é o tempo de dois segundos de imersão dos discos de folhas, isto provavelmente

989 permitiu a exposição da larva ao inseticida com a segurança de não encharcar a mina, o que poderia  
990 matar a larva por afogamento.No trabalho de Ferguson 2004 e Silva 2014 o tempo de imersão das  
991 folhas tratadas foi de 5 segundos.

992 A melhor performance destas metodologias pode ser atestada com base nos resultados das  
993 curvas, os quais apresentaram homogeneidade de coeficiente angular, consistência nas CLs, baixos  
994 valores de qui quadrado (variando de 0,76 – 7,89) e um número alto e padronizado de indivíduos  
995 testados (576 indivíduos). No trabalho de Silva (2014), os números de indivíduos testados variaram  
996 de 128 a 418 indivíduos, apresentando variações de até 300 indivíduos de um ensaio para outro,  
997 enquanto os valores de qui quadrado variaram de 0,59 a 8,79. A metodologia utilizando bandejas  
998 de bioensaio pode se adequar a outros hospedeiros sem perda de performance, pois nos bioensaios  
999 realizados com folhas de meloeiro também foram observados valores homogêneos de coeficiente  
1000 angular e baixos valores de qui quadrado, variando este último de 2,12 a 4,72. Além de  
1001 apresentarem valores de CL consistentes e com pequenas variações nos intervalos de confiança a  
1002 95%. No entanto, se observou um efeito de hospedeiro, pois bioensaios com o meloeiro  
1003 apresentaram estimativas de parâmetros bem abaixo daqueles bioensaios com feijão de porco,  
1004 sugerindo uma influência do hospedeiro na resposta, ou por causa da menor penetração dos  
1005 produtos no feijão de porco em função de sua consistência mais coreácea. Tais respostas  
1006 diferenciadas tem sido observadas por outros autores (Zhao *et al.* 2003, Martin *et al.* 2005, Sombra  
1007 *et al.* 2011) com *L. sativae* e *L. huidobrensis*.Para os estudos de suscetibilidade os dados  
1008 toxicológicos obtidos com ambas metodologias apresentaram resultados semelhantes, nos mesmos  
1009 tempos de avaliação (48 h e 72 h), não possuindo variações consideráveis de suas CL<sub>50</sub> nem da  
1010 inclinação da reta. No entanto, os valores de RR mais altos nos bioensaios realizados em placa de  
1011 acrílico podem ser explicados pelo fato dos bioensaios terem dado início com esta metodologia, a  
1012 partir da geração F4 (tempo necessário para o estabelecimento da população selvagem em

1013 laboratório). Sendo, então os bioensaios realizados em bandeja bioassay tray feitos em gerações  
1014 mais avançadas da praga, reduzindo assim a sua razão de resistência.

1015 Comparando as duas metodologias no mesmo período de avaliação, todos os inseticidas  
1016 apresentaram RR significativas, variando apenas o tempo de avaliação em que estas se  
1017 apresentavam. Damos destaque aos inseticidas abamectina, ciromazina e espinetoram, que  
1018 apresentaram significância de acordo com o IC95% das CL<sub>50</sub>, isso nos dois tempos de avaliação  
1019 pre-determinados. Enquanto ciantraniliprole teve uma resposta mais discreta, não apresentando RR  
1020 significativas nos bioensaios realizados em placa de acrílico, mesmo assim, mostrou resultados  
1021 homogêneos de CL<sub>50</sub> para ambas as metodologias.

1022 As populações de *L. sativae* responderam homogeneamente ao inseticida espinetoram, com  
1023 destaque para a população de Camocim - PE que apresentou maior tolerância que a população de  
1024 Mossoró - RN, sugerindo indícios de uma resistência inicial nesta população a espinosinas. De  
1025 fato, aplicações de espinetoram estavam sendo conduzidas nas áreas onde foram realizadas as  
1026 coletas, o que explica uma elevação na frequência de indivíduos tolerantes, além de se tratar de  
1027 uma população recentemente coletada do campo. Ressalta-se que espinetoram foi o inseticida que  
1028 se mostrou mais eficiente para uso em campo, por apresentar os menores valores de CL<sub>50</sub>. Para este  
1029 inseticida resultados semelhantes foram encontrados em populações de Juazeiro-BA por  
1030 Damasceno *et al.* (2017). Onde quatro produtos foram avaliados (abamectina, ciromazina,  
1031 ciantraniliprole e espinetoram) e apenas o espinetoram apresentou mortalidade superior a 80%,  
1032 com média de 90,8%. Sendo o resultado alcançado no nosso estudo bem mais otimista, já que mais  
1033 de um princípio ativo demonstrou eficiência no controle da população estudada de *L. sativae*.

1034 Logo, a nova metodologia desenvolvida nesse trabalho é uma ferramenta segura e eficaz de  
1035 estudo e avaliação da suscetibilidade de *L. sativae* aos inseticidas usados em campo. Atendendo a  
1036 diferentes modos de ação, pois consegue efetuar a detecção da suscetibilidade das populações de *L.*

1037 *sativae* submetidas a inseticidas de ação rápida, abamectina e espinetoram e também os de ação  
1038 lenta, ciromazina e ciantraniliprole. Isso confere a esta metodologia aplicabilidade para bioensaios  
1039 toxicológicos podendo ser realizados posteriormente, estudos de obtenção de doses diagnósticas,  
1040 caracterização da resistência, estudos genéticos de herança, etc. Estes possibilitarão a  
1041 implementação mais precisa do manejo de resistência a inseticidas.

1042

1043

### Agradecimentos

1044 À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) que possibilitou a realização desta  
1045 pesquisa, ao CNPq pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste estudo, por meio dos  
1046 projetos Processo 311372/2017-1 e Processo 438341/2018-0, ambos ao pesquisador (H.A.A.S.).

1047

1048

### Literatura Citada

1049

1050 **Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol.  
1051 18: 265-267.

1052

1053 **Araujo, E.L., D.R.R. Fernandes, L.D. Geremias, A.C.M. Netto & M.A. Filgueira. 2007.**  
1054 Mosca minadora associada à cultura do meloeiro no Semi-Árido do Rio Grande do Norte.  
1055 Rev. Caatinga 20: 210-212.

1056

1057 **Azevedo, F.R. de., J.A. Guimarães, D. Terao, L.G. Pinheiro Neto & J.A.D. de Freitas. 2005.**  
1058 Distribuição vertical de minas de *Liriomyza sativae* Blanchard, 1938 (Diptera:  
1059 Agromyzidae) em folhas de meloeiro, em plantio comercial. Revista de Ciência  
1060 Agrônômica 36: 322-326.

1061

1062 **Begon, M., C. R. Townsend & J. L. Harper. 2006.** Ecology : from individuals to ecosystems.  
1063 Malden: Blackwell Publishing. 746p.

1064

1065 **Capinera, J.L. 2001.** Vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* Blanchard (Insecta: Diptera:  
1066 Agromyzidae). University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and  
1067 Agricultural Sciences, EDIS. Disponível em <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN50700.pdf>.  
1068 Acesso em: 23 Ago. 2019.

1069

1070 **Cordova, D., E.A. Benner, M.D. Sacher, J.J. Rauh, J.S. Sopa, G.P. Lahm, T.P. Selby, T.M.**  
1071 **Stevenson, L. Flexner, S. Gutteridge, D.F. Rhoades, L.U. Wu, R.M. Smith & Y. Tao.**

- 1072           **2006.** Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action,  
1073 ryanodine receptor activation. *Pestic. Biochem. Phys.* 84: 196-214.  
1074
- 1075 **Cox, D.L., M.D. Remick, J.A. Lasota, & R.A. Dybas. 1995.** Toxicity of avermectins to  
1076 *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) larvae and adults . *J. Econ. Entomol.* 88: 1415-  
1077 1419.  
1078
- 1079 **Damasceno, G.C.C., A.C. Oliveira & T.C. Costa-Lima. 2017.** Suscetibilidade de *Liriomyza*  
1080 *sativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro a inseticidas. Petrolina, Embrapa semiárido,  
1081 5p. (Documento 279).  
1082
- 1082 **Ferguson, J.S. 2004.** Development and stability of insecticide resistance in the leafminer  
1083 *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine, abamectin and spinosad. *J. Econ.*  
1084 *Entomol.* 97: 112-119.  
1085
- 1086 **Fernandes, O.F., C.C. Ferreira & M.A. Montagna. 2000.** Manejo integrado de pragas do  
1087 meloeiro: manual de reconhecimento das pragas e táticas de controle. Jaboticabal, Funep-  
1088 CNPq, 28p.  
1089
- 1090 **Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E.B. Filho, J.R.P. Parra,**  
1091 **R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto.**  
1092 **2002.** *Entomologia agrícola.* Piracicaba, FEALQ, 920p.  
1093
- 1094 **Galdino, T.V.S., M.C.Picanço, E.G.F.Morais, N.R.Silva, G.A.R.Silva & M.C.Lopes. 2011.**  
1095 Bioassay method for toxicity studies of insecticide formulations to *Tuta absoluta* (Meyrick,  
1096 1917). *Ciênc. Agrotec., Lavras.* 35: 869-877.  
1097
- 1098 **Guimarães, J.A., F.R. Azevedo, R.B. Sobrinho & A.L. Mesquita. 2005.** Recomendações para o  
1099 Manejo das Principais Pragas do Meloeiro na Região do Semi-Árido Nordeste. Fortaleza,  
1100 Embrapa Agroindústria Tropical, 9p. (Circular Técnica 24).  
1101
- 1102 **IRAC. 2017.** IRAC Mode of Action Classification Scheme, IRAC MoA Classification. IRAC  
1103 International MoA Workgroup.  
1104
- 1105 **Johnson, M.W., S.C. Welter, N.C. Toscano, I.P. Ting & J.T. Trumble. 1983.** Reduction of  
1106 tomato leaflet photosynthesis rates by mining activity of *Liriomyza sativae* (Diptera:  
1107 Agromyzidae). *J. Econ. Entomol.* 76: 1061-1063.  
1108
- 1109 **Johansen, N. S., T.M. Tuan, L.T.K. Oanh & E. Nordhus. 2003.** Susceptibility of *Liriomyza*  
1110 *sativae* (Diptera: Agromyzidae) larvae to some insecticides scheduled for their control in  
1111 North Vietnam. *Grønn kunnskap* 7 (17).  
1112
- 1113 **Lahm, G.P., Stevenson, T.M., Selby, T.P., Freudenberger, J.H., Cordova, D., Flexner, L.,**  
1114 **Bellin, C.A., Dubas, C.M., Smith, B.K., Hughes, K.A., Hollinghaus, J.G., Clark, C.E,**  
1115 **29 Benner, E.A. 2007.** Rynaxypir™: A new insecticidal anthranilic diamide that acts as a  
1116 potente and selective ryanodine receptor activator. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17: 6274-  
1117 6279.  
1118

- 1119 **Leibee, G.L. 1981.** Insecticidal control of *Uriomyza* spp. on vegetables. Proceedings of the  
1120 Institute of Food and Agricultural Sciences Industry Conference on Biology and Control of  
1121 *Liriomyza* Leafminers 2: 216-220.  
1122
- 1123 **Leibee, G.L. 1985.** Effects of cyromazine (Trigard) on *Liriomyza trifolii* (Burgess), p. 45-48. In  
1124 J.J. Knodel-Montz, An Informal Conference on Liriomyza Leafminers. Springfield, USDA-  
1125 ARS, 75p.  
1126
- 1127 **Leibee, G.L. 1988.** Toxicity of abamectin to *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae).  
1128 J. Econ. Entomol. 81: 738-740.  
1129
- 1130 **Lonsdale, O. 2011.** The *Liriomyza* (Agromyzidae: Schizophora: Diptera) of California. Zootaxa.  
1131 2850: 1-123 p.  
1132
- 1133 **Lonsdale, O. 2017.** The *Liriomyza* (Diptera: Schizophora: Agromyzidae) of Canada & Alaska.  
1134 Zootaxa. 4234: 1-156 p.  
1135
- 1136 **Magalhães, L.C., J.B.V. Kretschmar, V.M. Borlow, R.M. Roe & J.F. Walgenbach. 2012.**  
1137 Development of a rapid resistance monitoring bioassay for codling moth larvae. Pest.  
1138 Manag. Sci. 68: 883-8 p.  
1139
- 1140 **Martins, E.S.; L.B. Praça, V.F. Dumas & R.G. Monnerat. 2004.** Desenvolvimento de  
1141 metodologia de bioensaio de dose contra o bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*  
1142 Boheman, 1843) utilizando estirpes de *Bacillus thuringiensis*. Brasília, Embrapa Recursos  
1143 Genéticos e Biotecnologia, 8p. (Comunicado Técnico 108).  
1144
- 1145 **Martins, A.D.; D. Stanley-Horn & R.H. Hallett. 2005.** Adult host preference and larval  
1146 performance of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) on selected host. Environ.  
1147 Entomol. 34: 5 p.  
1148
- 1149 **Oliveira, I.M. 2017.** Resistência de artrópodos de importância agrícola ao controle químico no  
1150 Brasil. Dissertação de Mestrado, UFV, Minas Gerais, 90p.  
1151
- 1152 **Omoto, C. 2000.** Modo de ação de inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. In: Guedes, J.  
1153 C., I.D. Costa, E. Castiglioni. (Ed.). Bases e técnicas de manejo de insetos. Univ. Federal de  
1154 Santa Maria, Sta. Maria, 308p.  
1155
- 1156 **Orr, N., A.J. Shaffner, K. Richey & G.D. Crouse. 2009.** Novel mode of action of spinosad:  
1157 Receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target  
1158 sites. Pestic Biochem Physiol 95: 1-5.  
1159
- 1160 **Palumbo, J.C. & D.L. Kerns. 1998.** Melon insect pest management in Arizona. Tucson, University  
1161 of Arizona Cooperative Extension, 7p. (IPM Series 11).  
1162
- 1163 **Parrella, M.P., W.A.V. Allen, & P. Morishita. 1981.** Leafminer species causes California mum  
1164 growers new problem. Calif. Agricul. 35: 28-30.  
1165

- 1166 **Parrella, M.P. 1987.** Biology of *Liriomyza*. Annu. Rev. Entomol. 32: 201-224.  
1167
- 1168 **Parrella, M.P. & C.B. Keil. 1984.** Insect pest management: the lesson of *Liriomyza*. Bull.  
1169 Entomol. Soc. Am. 30: 22-25.  
1170
- 1171 **Reis, R.P. 2002.** Fundamentos de Economia Aplicada. Universidade Federal de Lavras (MG),  
1172 95p.  
1173
- 1174 **Reitz, S.R., Y.L. Gao & Z.R. Lei. 2013.** Insecticide Use and the Ecology of Invasive *Liriomyza*  
1175 Leafminer Management, p. 233-253. In S. Trdan (Ed.), Insecticides - Development of Safer  
1176 and More Effective Technologies. Rijeka, InTech, 5810p.  
1177
- 1178 **Robertson, J. L., R. M. Russell, H. K. Preisler & N. E. Savin. 2007.** Pesticide bioassays  
1179 arthropods. 2<sup>a</sup> ed. Boca Raton, FL, CRC Press Taylor & Francis Group, 200 p.  
1180
- 1181 **SAS Institute 2001.** SAS user's guide: statistics, version 8.2. SAS Institute, Cary, NC computer  
1182 program, version By SAS Institute.  
1183
- 1184 **Silva, P.A.F. 2014.** Bases para o manejo da resistência de *Liriomyza sativae* (blanchard) (Diptera:  
1185 Agromyzidae) a inseticidas de risco reduzido. Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife,  
1186 46p.  
1187
- 1188 **Sombra, K.D. da S., E. L. Araujo & E. M. Costa. 2011.** Preferência de oviposição da mosca  
1189 minadora (Diptera: Agromyzidae), Rev. Verde, Mossoró. 6: 121-125 p.  
1190
- 1191 **Wei, Q. B., Z. R. Lei, R. Nauen, D. C. Cai & Y. L. Gao. 2015.** Abamectin resistance in strains  
1192 of vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) is linked to  
1193 elevated glutathione S-transferase activity. Insect Science. 22: 243-250.  
1194
- 1195 **Yee, L. W. 2018.** Spinosad Versus Spinetoram Effects on Kill and Oviposition of *Rhagoletis*  
1196 *indifferens* (Diptera: Tephritidae) at Differing Fly Ages and Temperatures. J. Insect Sci. 18:  
1197 1-10.  
1198
- 1199 **Zhao, Y. X. & L. Kang. 2003.** Olfactory responses of the leafminer *Liriomyza sativae* (Dipt.,  
1200 Agromyzidae) to the odours of host and non-host plants. J. Appl. Entomol. 127: 2 p.  
1201  
1202  
1203  
1204

1205 Tabela 1. Suscetibilidade de larvas de *Liriomyza sativae* em folha de feijão de porco após 48 horas de exposição a inseticidas usando  
 1206 bandejas (Bioassay Tray).

Inseticida	Populações	n <sup>a</sup>	$\chi^2$ <sup>e</sup> (GL) <sup>b</sup>	Inclinação ± EP <sup>c</sup>	CL <sub>50</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>99</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	RR <sub>50</sub> (IC95%) <sup>f</sup>
Abamectina	Mossoró-RN	576	7,49 (7)	1,80 ± 0,12	3,74 (2,91-4,73)	72,00 (44,35-143,07)	0,97 (0,70 – 1,35)
	Camocim-PE	576	4,48 (7)	1,76 ± 0,18	3,61 (2,71-4,56)	75,20 (48,29-142,64)	
Ciantraniliprole	Mossoró-RN	576	7,89 (7)	2,41 ± 0,17	0,85 (0,70-1,03)	7,84 (5,36-13,31)	1,76 (1,36 - 2,28)*
	Camocim-PE	576	6,60 (7)	1,37 ± 0,09	1,50 (1,22-1,85)	73,25 (43,98-141,74)	
Ciromazina	Mossoró-RN	576	4,57 (7)	1,31 ± 0,11	2,18 (1,67-2,81)	129,69 (69,57-309,71)	2,39 (1,53 - 3,75)*
	Camocim-PE	576	4,37 (7)	0,86 ± 0,08	5,23 (3,76-7,82)	2540,1 (792,56-13699,0)	
Espineteram	Mossoró-RN	576	4,18 (8)	1,38 ± 0,10	0,25 (0,20-0,31)	12,24 (7,62-22,65)	2,11 (1,57 – 2,84)*
	Camocim-PE	576	6,27 (8)	1,45 ± 0,09	0,54 (0,44-0,66)	21,84 (13,23-38,59)	

1207 <sup>a</sup> Número total de insetos. <sup>b</sup> Grau de liberdade. <sup>c</sup> Erro padrão da média. <sup>d</sup> Miligramas de ingrediente ativo por litro de água. <sup>e</sup> Qui-  
 1208 quadrado. <sup>f</sup> Razão de resistência: razão da CL<sub>50</sub> entre as populações tolerantes e população mais suscetível, determinado pelo método de  
 1209 Robertson & Preisler (1992) e a razão do intervalo confiança de a 95%. \* A razão de resistência significativa porque o intervalo de  
 1210 confiança não compreende o valor 1,0.  
 1211

1212 Tabela 2. Suscetibilidade de larvas de *Liriomyza sativae* a inseticidas em folha de feijão de porco após 48 horas de exposição usando  
 1213 placas de acrílico.

Inseticida	Populações	n <sup>a</sup>	$\chi^{2e}$ (GL) <sup>b</sup>	Inclinação $\pm$ EP <sup>c</sup>	CL <sub>50</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>99</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	RR <sub>50</sub> (IC95%) <sup>f</sup>
Abamectina	Mossoró-RN	576	7,89 (7)	1,51 $\pm$ 0,11	2,58 (1,94-3,36)	88,90 (50,54-196,95)	1,88 (1,34 - 2,63)*
	Camocim-PE	576	5,49 (7)	1,03 $\pm$ 0,08	4,86 (3,76-6,29)	855,716 (408,46-2318,82)	
Ciantraniliprole	Mossoró-RN	576	5,53 (7)	1,51 $\pm$ 0,10	1,00 (0,82-1,21)	3,29 (21,78-61,45)	0,96 (0,73 - 1,25)
	Camocim-PE	576	4,12 (7)	1,67 $\pm$ 0,11	0,96 (0,80-1,15)	23,72 (15,74-40,11)	
Ciromazina	Mossoró-PE	576	1,62 (7)	0,77 $\pm$ 0,08	5,70 (3,94-9,10)	5726,4 (1428,5-4609,0)	1,25 (0,71 - 2,22)
	Camocim-PE	576	1,30 (7)	0,89 $\pm$ 0,08	7,17 (5,08-11,07)	2924,8 (896,66-16338,0)	
Espinectoram	Mossoró-RN	576	0,76 (8)	1,72 $\pm$ 0,20	0,04 (0,03-0,06)	1,01 (0,63-2,85)	7,03 (4,81 - 10,28)*
	Camocim-PE	576	7,03 (8)	1,42 $\pm$ 0,09	0,32 (0,25-0,39)	13,66 (8,62-24,70)	

1214 <sup>a</sup> Número total de insetos. <sup>b</sup> Grau de liberdade. <sup>c</sup> Erro padrão da média. <sup>d</sup> Miligramas de ingrediente ativo por litro de água <sup>e</sup> Qui-  
 1215 quadrado. <sup>f</sup> Razão de resistência: razão da CL<sub>50</sub> estimada entre as populações tolerantes e população mais suscetível, determinado pelo  
 1216 método de Robertson & Preisler (1992) e a razão do intervalo confiança de a 95%. \* A razão de resistência significativa porque o  
 1217 intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.  
 1218

1219 Tabela 3. Suscetibilidade de larvas de *Liriomyza sativae* em folha de feijão de porco após 72 horas de exposição a inseticidas usando  
 1220 bandeja (Bioassay tray).

Inseticida	Populações	n <sup>a</sup>	$\chi^2$ <sup>e</sup> (GL) <sup>b</sup>	Inclinação ± EP <sup>c</sup>	CL <sub>50</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>99</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	RR <sub>50</sub> (IC95%) <sup>f</sup>
Abamectina	Mossoró-RN	576	5,41 (7)	1,81 ± 0,14	3,13 (2,53-3,81)	59,78 (40,00-102,33)	0,51 (0,38 – 0,68)*
	Camocim-PE	576	1,76 (7)	1,70 ± 0,13	1,60 (1,28-1,97)	37,04 (24,48-64,21)	
Ciantraniliprole	Mossoró-RN	576	3,44 (7)	2,97 ± 0,31	0,68 (0,57-0,79)	4,14 (3,08- 6,39)	0,63 (0,49 – 0,82)*
	Camocim-PE	576	3,93 (7)	1,56 ± 0,11	0,43 (0,35-0,53)	13,46 (8,66-23,99)	
Ciromazina	Mossoró-RN	576	7,17 (7)	1,15 ± 0,09	0,90 (0,61-1,25)	93,70 (43,44-291,21)	1,69 (1,10 – 2,46)*
	Camocim-PE	576	5,72 (7)	1,20 ± 0,08	1,52 (1,21-1,92)	128,27 (69,49-287,51)	
Espinectoram	Mossoró-RN	576	2,82 (8)	1,32 ± 0,10	0,14 (0,11-0,18)	8,58 (5,18-16,83)	1,22 (0,87 – 1,70)
	Camocim-PE	576	6,17 (8)	1,42 ± 0,10	0,18 (0,14-0,22)	7,86 (4,89-14,71)	

1221 <sup>a</sup> Número total de insetos. <sup>b</sup> Grau de liberdade. <sup>c</sup> Erro padrão da média. <sup>d</sup> Miligramas de ingrediente ativo por litro de água. <sup>e</sup> Qui-  
 1222 quadrado. <sup>f</sup> Razão de resistência: razão da CL<sub>50</sub> estimada entre as populações tolerantes e população mais suscetível, determinado pelo  
 1223 método de Robertson & Preisler (1992) e a razão do intervalo confiança de a 95%. \* A razão de resistência significativa porque o  
 1224 intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.  
 1225

1226 Tabela 4. Suscetibilidade de larvas de *Liriomyza sativae* em folha de feijão de porco após 72 horas de exposição usando placas de  
 1227 acrílico.

Inseticida	Populações	n <sup>a</sup>	$\chi^2$ <sup>e</sup> (GL) <sup>b</sup>	Inclinação ± EP <sup>c</sup>	CL <sub>50</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>99</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	RR <sub>50</sub> (IC95%) <sup>f</sup>
Abamectina	Mossoró-RN	576	3,31 (7)	1,68 ± 0,12	1,83 (1,48-2,24)	44,57 (29,39-77,11)	1,62 (1,20 - 2,19)*
	Camocim-PE	576	3,61 (7)	1,34 ± 0,09	2,99 (2,40-3,69)	162,30 (82,39-97,16)	
Ciantraniliprole	Mossoró-RN	576	1,75 (7)	1,71 ± 0,14	0,67 (0,52-0,83)	15,22 (9,99-26,90)	0,91 (0,66 – 1,25)
	Camocim-PE	576	3,03 (7)	1,64 ± 0,13	0,61(0,48-0,75)	15,65 (10,19-27,27)	
Ciromazina	Mossoró-RN	576	2,02 (7)	1,13 ± 0,08	1,09 (0,86-1,39)	121,90 (64,25-285,57)	3,01 (1,94 – 4,66)*
	Camocim-PE	576	0,77 (7)	0,90 ± 0,09	3,30 (2,31-4,79)	1220,8 (414,43-6090,3)	
Espineteram	Mossoró-RN	576	0,84 (8)	1,76 ± 0,29	0,02 (0,01-0,03)	0,48 (0,29-1,20)	9,67 (5,57 - 16,77)*
	Camocim-PE	576	3,38 (8)	1,71 ± 0,12	0,22 (0,18-0,27)	5,15 (3,43-8,73)	

1228 <sup>a</sup> Número total de insetos. <sup>b</sup> Grau de liberdade. <sup>c</sup> Erro padrão da média. <sup>d</sup> Miligramas de ingrediente ativo por litro de água. <sup>e</sup> Qui-  
 1229 quadrado. <sup>f</sup> Razão de resistência: razão da CL<sub>50</sub> estimada entre as populações tolerantes e população mais suscetível, determinado pelo  
 1230 método de Robertson & Preisler (1992) e a razão do intervalo confiança de a 95%. \* A razão de resistência significativa porque o  
 1231 intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.  
 1232

1233 Tabela 5. Análise de custo do material usados para realização do bioensaio com *Liriomyza sativae*.

Material <sup>a</sup>	Quantidades (uni) <sup>b</sup>		Valores de unidade em dólar (\$) <sup>c</sup>		Total em dólar (\$) <sup>d</sup>	
	Acrílico	Bioassay tray	Acrílico	Bioassay tray	Acrílico	Bioassay tray
Bandeja Bioassay Tray	---	18	---	1,02	---	18,36
Canaletas plásticas	---	18	---	0,47	---	8,46
Placa de Acrílico-Nest® 35x12 mm	288	--	0,31	---	89,28	---
Folha de papel filtro	6	6	1,13	1,13	6,78	6,78
Micropipeta Optipette de 1000 mL	1	1	112,12	112,12	112,12	112,12
Micropipeta Optipette de 100 mL	1	1	123,51	123,51	123,51	123,51
Ponteira para micropipeta de 1000 mL	1	1	4,21 pacote	4,21 pacote	4,21	4,21
Ponteira para micropipeta de 100 mL	1	1	5,48 pacote	5,48 pacote	5,48	5,48
Backers Uniclass de 250 mL	9	9	1,86	1,86	16,74	16,74
Backers Uniclass de 1000 mL	1	1	5,60	5,60	5,60	5,60
Jornal	1	1	1,35	1,35	1,35	1,35
Conjunto de vazador de aço inoxidável	1	1	80,04	80,04	80,04	80,04
Pincel Pilot da cor azul	1	1	1,07	1,07	1,07	1,07
Pincel Pilot da cor vermelha	1	1	1,07	1,07	1,07	1,07
Bandejas plásticas	9	9	1,86	1,86	16,74	16,74
Pinça dissecação em aço inoxidável	2	2	12,44	12,44	24,88	24,88
Proveta Uniclass de 100 mL± 1mL	1	1	3,01	3,01	3,01	3,01
Proveta Laborglas de 1000mL±10 mL	1	1	11,92	11,92	11,92	11,92
Custo Fixo Total	---	---	---	---	503,80	441,34

1234 <sup>a</sup> Materiais usados para elaboração do bioensaio, assim como seu modelo e marca

1235 <sup>b</sup> Quantidade de unidades do material usada para realização do bioensaio

1236 <sup>c</sup> Valor unitário de cada item ou por porção(pacote) do mesmo

1237 <sup>d</sup> Valor total em dólar gasto com cada item total do bioensaio

1238

1239 Tabela 6. Suscetibilidade de larvas da população de *Liriomyza sativae* de Mossoró Lab a inseticidas em folha de meloeiro.

Inseticida	Exposição (h)	n <sup>a</sup>	$\chi^2$ <sup>e</sup> (GL) <sup>b</sup>	Inclinação $\pm$ EP <sup>c</sup>	CL <sub>50</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>80</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>99</sub> (IC95%) <sup>d</sup>
Ciantraniliprole	48	576	2,12 (7)	1,11 $\pm$ 0,19	0,02 (0,005-0,041)	0,11 (0,061-0,169)	2,40 (1,23-8,53)
	72	576	3,00 (7)	1,19 $\pm$ 0,25	0,01 (0,002-0,035)	0,07 (0,029-0,120)	0,17 (0,10-0,27)
Espineteram	48	576	4,72 (8)	3,52 $\pm$ 0,29	0,38 (0,339-0,434)	0,66 (0,578-0,788)	1,75 (1,38-2,44)
	72	576	2,61 (8)	4,37 $\pm$ 0,53	0,30 (0,271-0,348)	0,48 (0,424-0,570)	1,05 (0,83-1,53)

1240 <sup>a</sup> Número total de insetos.

1241 <sup>b</sup> Grau de Liberdade.

1242 <sup>c</sup> Erro padrão da média.

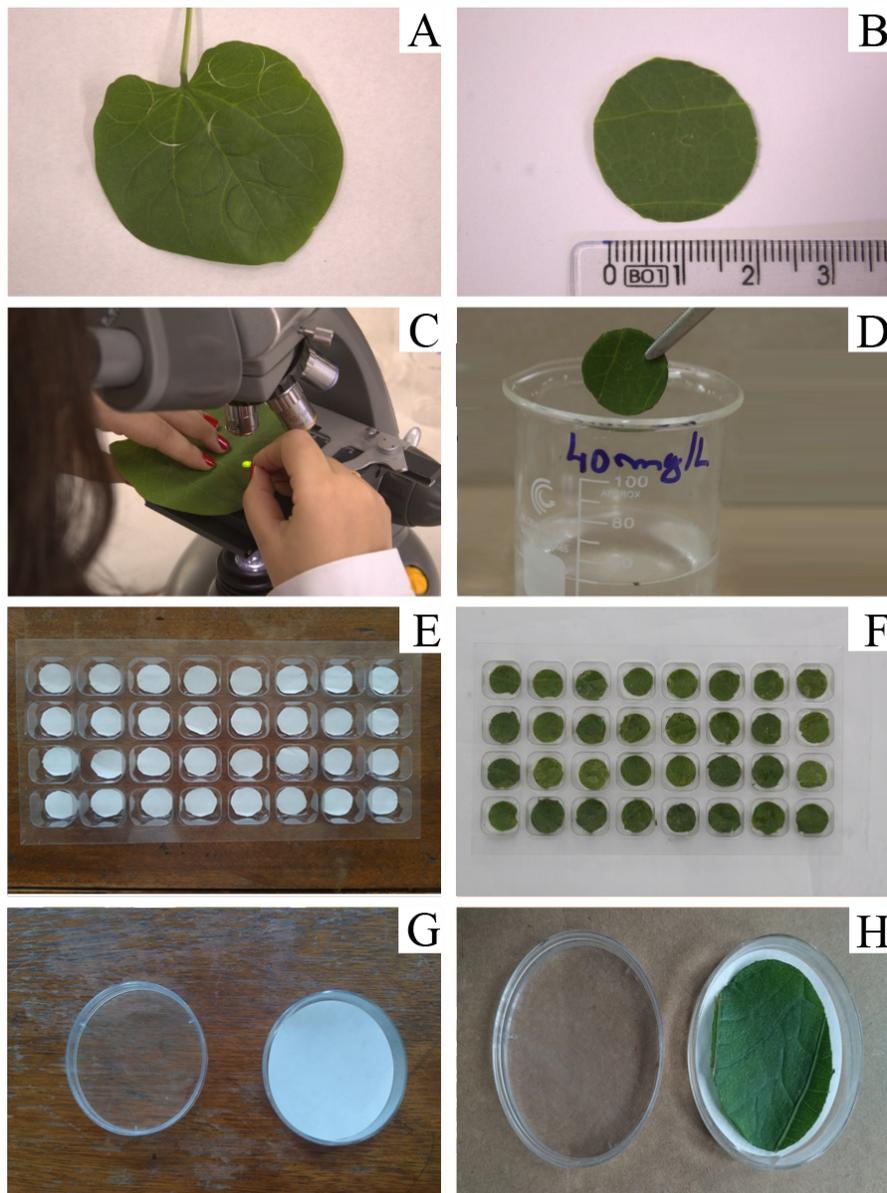
1243 <sup>d</sup> Miligramas de ingrediente ativo por litro de água.

1244 <sup>e</sup> Qui-quadrado.

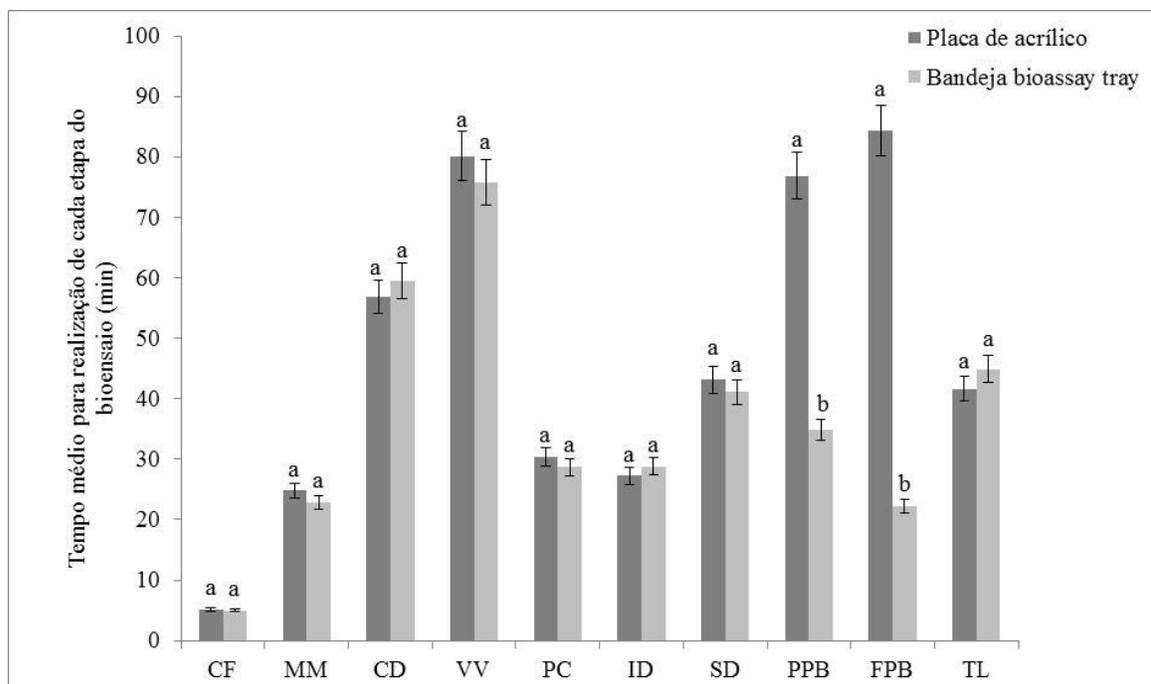
1245



1246  
1247 Figura 1. Larva de segundo instar de *Liriomyza sativae*, em folha de feijão de porco (*Canavalia*  
1248 *ensiformis*).  
1249



1250  
1251 Figura 2. A- discos de *Canavalia ensiformis* sendo preparados para bioensaio, B- Disco de 2 cm  
1252 já destacado da folha, C- verificação de viabilidade da larva de *Liriomyza sativae* em lupa, D-  
1253 preparo das concentrações inseticidas, E- preparação da bandeja *Bioassay Tray* com papel de  
1254 filtro, F- finalização do bioensaio com discos tratados em solução inseticida, já inseridos na  
1255 badeira, G- preparação da placa de acrílico com papel de filtro, H- finalização do bioensaio com  
1256 placa de acrílico, com disco de *C.ensiformis* tratado em solução inseticida.



1257

1258 Figura 3. Tempo médio para realização das etapas dos bioensaios em placa de acrílico e em  
 1259 bandeja “bioassay tray”. Eixo X corresponde a cada uma das etapas do bioensaio, onde: CF- Corte  
 1260 da Folha, MM- Marcação das Minas, CD- Corte do Discos de folhas, VV- Verificação de  
 1261 Viabilidade das larvas, PC- Preparo das Concentrações, ID- Imersão dos Discos de folhas em  
 1262 solução inseticida, SD- Secagem dos Discos, PPB- Preparo das Placas e Bandejas, FPB-  
 1263 Finalização das Placas e Bandejas, TL- Tempo Livre. Barras que possuem mesma letra para  
 1264 determinada etapa do bioensaio, não possuem diferença estatística entre si segundo o teste-t  
 1265 ( $P < 0,05$ ) pelo método de Pooled.

1266

1267  
1268  
1269  
1270  
1271  
1272  
1273  
1274  
1275  
1276  
1277  
1278  
1279  
1280  
1281  
1282  
1283  
1284  
1285  
1286

CAPÍTULO 3  
SUSCETIBILIDADE DE *LIRIOMYZA SATIVAE* BLANCHARD (DIPTERA:  
AGROMYZIDAE) A CIANTRANILIPROLE E ESPINETORAM <sup>1</sup>

ELISABETE ALBUQUERQUE DOS SANTOS<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

1287  
1288  
1289  
1290

---

<sup>1</sup>Santos, E.A. Suscetibilidade de populações de *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) a ciantraniliprole e espinetoram. A ser submetido.

1291 RESUMO – O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma cultura de enorme importância para exportação  
1292 brasileira. A mosca minadora, *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae), é uma  
1293 praga chave dessa cultura e causa elevados prejuízos aos produtores desde 2000. Atualmente, o  
1294 ciantraniliprole e espinetoram são os inseticidas mais empregados para controle direcionado  
1295 principalmente para a fase larval dessa praga. No entanto, o uso indiscriminado de inseticidas  
1296 pode diminuir sua eficácia ao selecionar populações resistentes. Este trabalho objetivou avaliar o  
1297 *status* atual da suscetibilidade de *L. sativae* aos inseticidas mencionados acima. Populações de *L.*  
1298 *sativae* foram coletadas em Rio Grande do Norte e Pernambuco, e submetidas a bioensaios  
1299 toxicológicos de dose diagnóstica e curvas de concentração-mortalidade em laboratório com  
1300 ciantraniliprole e espinetoram, com tempo de avaliação de 48 e 72h após a exposição. Para ambos  
1301 inseticidas a mortalidade foi acima de 90%. Os valores das CL<sub>50</sub> para o ciantraniliprole variaram  
1302 de 0,05 Mossoró5 (MSR5) a 0,32 Baraúna1 (BRN1) após 48h, com razões de resistência variando  
1303 de 2,81 a 6,97 vezes. Para espinetoram variaram de 0,20 Camocim de São Félix1(CSF1) a 1,77  
1304 Mossoró2 (MSR2) e RR variando de 3,30 a 8,83 vezes. Após 72h de exposição, apenas MSR2,  
1305 Tibau1 (TBU1) e BRN1 continuaram apresentando valores significativos de RR para  
1306 ciantraniliprole MSR2= 2,67; TBU1= 4,01 e BRN1= 4,18 vezes; e para espinetoram MSR2=  
1307 7,88; MSR3= 3,52; MSR4= 3,58 e TBU1= 5,38 vezes. Os resultados sugerem evidências de  
1308 resistência em algumas populações de *L. sativae* a ciantraniliprole e espinetoram, demandando  
1309 medidas proativas que retardem a evolução da resistência, garantindo sua eficácia no longo prazo.

1310

1311 PALAVRAS-CHAVE: Inseticida, controle químico, toxicidade, suscetibilidade

1312

1313

1314 SUSCEPTIBILITY OF *LIRIOMYZA SATIVAE* BLANCHARD (DIPTERA: AGROMYZIDAE)  
1315 TO CIANTRANILIPROLE AND SPINETORAM

1316 ABSTRACT – The melon tree (*Cucumis melo* L.) is an extremely important crop for Brazilian  
1317 exports. The mining fly, *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae), is a key pest of  
1318 this crop and has caused great losses to producers since 2000. Currently, cyantraniliprole and  
1319 espinetoram are the most used insecticides for control it and directed mainly to larval stage.  
1320 However, the indiscriminate use of insecticides can decrease their effectiveness while selecting  
1321 resistant populations. This study aimed to assess the current status of *L. sativae*'s susceptibility to  
1322 the insecticides above. The *L. sativae* populations were collected in Rio Grande do Norte and  
1323 Pernambuco states, and submitted to diagnostic dose and concentration-mortality curves bioassays  
1324 in the laboratory with cyantraniliprole and spinetoram, with 48- and 72-hours exposure. The LC<sub>50</sub>  
1325 values for cyantraniliprole ranged from 0.05 Mossoró5 (MSR5) to 0.32 Baraúna1 (BRN1) after 48  
1326 hours of exposure with resistance ratios ranging from 2.81 to 6.97 times. These values ranged  
1327 from 0.20 Camocim de São Félix1 (CSF1) to 1.77 Mossoró2 (MSR2) for spinetoram with  
1328 resistance ratios ranging from 3.30 to 8.83 times. After 72 h of exposure, only MSR 2, TBU1 and  
1329 BRN1 continued to show significant RR values for cyantraniliprole MSR 2 = 2.67, TBU1= 4.01  
1330 and BRN1= 4.18 times; and for spinetoram MSR 2= 7.88; MSR3= 3.52 and MSR4= 3.58 and  
1331 TBU1= 5.38 times. The results suggest evidence of resistance in some populations of *L. sativae* to  
1332 cyantraniliprole and spinetoram, demanding proactive measures that delay the evolution of  
1333 resistance, guaranteeing their long-term effectiveness.

1334

1335 KEY WORDS: Insecticide, chemical control, toxicity, susceptibility

1336

1337

## Introdução

1338 Entre as hortaliças mais exportadas pelo Brasil está o meloeiro (*Cucumis melo* L.),  
1339 alcançando 233.653 mil toneladas/ano e um valor de US\$ 163 milhões (Agrianual 2019). A  
1340 mosca minadora, *Liriomyza sativae* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae), tem se apresentado  
1341 desde o início do ano 2000 como praga chave da cultura, causando elevados prejuízos aos  
1342 produtores (Costa-Lima *et al.* 2015). As perdas são resultantes do ressecamento e desfolha da  
1343 planta (Guimarães *et al.* 2005), redução da área fotossintética da planta (Souza & Reis 2001),  
1344 redução do teor de sólidos solúveis (brix) dos frutos (Parrella 1987, Araujo *et al.* 2007, Fernandes  
1345 *et al.* 2000); abscisão das folhas (Parrella *et al.* 1981) e abertura de portas para a entrada de  
1346 microrganismos patogênicos oportunistas (Palumbo & Kerns 1998, Azevedo *et al.* 2005).

1347 O uso do controle químico é o método mais empregado para controle desta praga,  
1348 direcionado principalmente para a fase larval. Dentre os inseticidas registrados no Brasil para a  
1349 mosca minadora pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) encontram-  
1350 se: abamectina, ciromazina, ciantraniliprole e espinetoram, sendo os dois últimos as moléculas  
1351 mais novas inseridas no mercado (AGROFIT 2020). Ciantraniliprole é um inseticida pertencente a  
1352 nova classe das diamidas antranílicas, que atua por meio da ativação dos receptores de rianodina  
1353 dos canais de cálcio nas fibras musculares, levando a cessação de alimentação, letargia, paralisia e  
1354 por fim a morte (Omoto 2000, Teixeira *et al.* 2009). Este inseticida (com novo modo de ação) foi  
1355 certificado no ano de 2017 e registrado no mesmo ano para uso comercial no Brasil (AGROFIT  
1356 2020). Já o espinetoram possui modo de ação que atua primariamente nos receptores nicotínicos  
1357 da acetilcolina e nos receptores do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) (Orr *et al.* 2009), através do  
1358 contato com o tegumento do inseto e por ingestão do alimento, atuando em todos os estágios de  
1359 vida (Yee 2018). Este inseticida foi certificado em 2014 e registrado no Brasil em 2017

1360 (AGROFIT 2020). Mesmo sendo recentes no comércio o uso indiscriminado desses produtos  
1361 pode levar a ocorrência de populações resistentes aos mesmos.

1362 A resistência a inseticidas caracteriza-se pela habilidade herdada de um organismo em  
1363 tolerar doses de um químico que seriam letais para a maioria dos indivíduos da sua espécie (Croft  
1364 *et al.* 1988). Alguns fatores contribuem para evolução da resistência como: pressão de seleção  
1365 ocasionada por aplicações repetitivas de inseticidas com modo de ação similar; eliminação de  
1366 inimigos naturais e uso indiscriminado dos inseticidas (Guedes *et al.* 1994, Picanço *et al.* 1995,  
1367 Siqueira *et al.* 2000). Certos fatores contribuem para a seleção de populações resistentes de  
1368 minadora aos princípios ativos empregados em campo como por exemplo : O número reduzido de  
1369 produtos autorizados para o controle da mosca minadora o que dificulta a rotação de princípios  
1370 ativos e às características biológicas de *Liriomyza* spp. como ciclo curto e alta fecundidade  
1371 (Parrella 1987, Parrella & Keil 1984, Whalon *et al.* 2008, Guimarães *et al.*, 2009; Umeda *et al.*,  
1372 2011). A resistência de *L. sativae* a inseticidas já foi relatada em alguns países (Mason *et al.* 1987,  
1373 Johansen *et al.* 2003, Ferguson, 2004) e no Brasil foram encontradas populações desta espécie  
1374 com evidências de resistência a abamectina, isso devido a uma variação ampla observada nos  
1375 valores de CL<sub>99</sub> (Silva, 2014).

1376 Relatos de falhas de controle comumente estão relacionados à evolução de populações  
1377 para resistência, o que ocasiona o aumento do número de aplicações e/ou uso de doses acima da  
1378 recomendação levando a um desequilíbrio ambiental como consequência. Desta forma, o objetivo  
1379 do trabalho foi avaliar a suscetibilidade de populações de *L. sativae* do Nordeste brasileiro aos  
1380 inseticidas ciantraniliprole e espinetoram. Esse estudo viabilizará o manejo da resistência em  
1381 campo, oferecendo informações que possibilitem a ação antecipada de táticas que retardem a  
1382 evolução da resistência da praga, evitando assim que inseticidas recentemente inseridos no  
1383 mercado tornem-se ineficientes no controle da mesma.

## Material e Métodos

1384  
1385 **Coleta e Criação das Populações de *Liriomyza sativae*.** Oito populações foram utilizadas neste  
1386 estudo (Tabela 1). Uma população foi coletada em área de produção de pepino (*Cucumis sativus*),  
1387 localizada no município de Camocim de São Félix no Agreste de Pernambuco e sete foram  
1388 coletadas em áreas de produção de melão do Rio Grande do Norte (Fig 1) sendo uma delas  
1389 mantida em laboratório a mais de 50 gerações. Todas as populações foram mantidas no  
1390 Laboratório de Interações Insetos – Tóxicos (LIIT) da Universidade Federal Rural de  
1391 Pernambuco. A identificação taxonômica foi realizada ao nível de espécie através de técnicas  
1392 morfológicas.

1393       Utizando-se da metodologia de criação adaptada de Araujo (2007), os adultos de *L. sativae*  
1394 foram mantidos em gaiolas de 50 x 50 cm de base e 50 cm de altura, com face lateral de tela  
1395 antiafídica. Casais de insetos, em números variáveis, foram liberados no interior das gaiolas de  
1396 criação para que as fêmeas ovipositassem em plantas de feijão de porco (*Canavalia ensiformis*)  
1397 por um período de 24 horas. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%, fornecida  
1398 por capilaridade através de uma esponja acondicionada em recipientes de acrílico. O ambiente  
1399 contendo as gaiolas foi mantido sob condições controladas com temperatura de  $25 \pm 2$  °C, UR de  
1400  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12 h. As plantas, contendo folhas com posturas, foram mantidas em vasos  
1401 de 50 cm de diâmetro e sob as mesmas condições ambientais de temperatura e umidade. Sendo  
1402 acondicionados em grupos de 4 vasos por bandeja plástica, onde permaneceram durante o  
1403 desenvolvimento embrionário com o fornecimento diário de água, a qual era disponibilizada à  
1404 planta por capilaridade.

1405       Após quatro dias, as folhas com larvas em desenvolvimento foram cortadas na região do  
1406 pecíolo e postas em frasco âmbar de 100 mL contendo água + hipoclorito de sódio a 2%  
1407 (assegurando a turgidez da folha). Os frascos foram mantidos em bandejas plásticas, revestidas

1408 com papel manteiga para facilitar a coleta das pupas que se formavam. As pupas foram coletadas  
1409 com pincel e posteriormente transferidas para placas de Petri de 7 cm de diâmetro e 2,5 cm de  
1410 altura sendo posteriormente fechadas com filme plástico para evitar a fuga. Ao emergir o primeiro  
1411 adulto, as placas de Petri com pupas foram postas no interior das gaiolas, onde permaneceram por  
1412 toda a fase adulta.

1413 **Inseticidas.** Os inseticidas utilizados para este estudo foram: ciantraniliprole (Benevia® – 100 g  
1414 i.a./L, suspensão concentrada em óleo, DuPont do Brasil) e espinetoram (Delegate® – 250g  
1415 i.a./Kg, granulado dispersível, Dow Agrosiences Industrial Ltda, São Paulo, Brasil). Utilizou-se  
1416 para todos os ensaios o espalhante adesivo agr'óleo® (Gota Industrial Ltda) a 0,05% para  
1417 possibilitar a penetração dos inseticidas nas folhas. As folhas destinadas ao controle foram  
1418 tratadas apenas com água destilada + agr'óleo®.

1419 **Concentração Diagnóstica.** Plantas de *C. ensiformis* em fase cotiledonar foram postas nas  
1420 gaiolas contendo adultos de *L. sativae*, permanecendo por apenas 2 h, o que permitiu a  
1421 individualização das larvas para o bioensaio. Logo após, as plantas foram depositadas em uma  
1422 bandeja plástica e após 3 dias, quando o segundo ínstar larval estava visível, discos de 2 cm de  
1423 diâmetro contendo uma larva de *L. sativae* foram excisados com o auxílio de um tubo de aço  
1424 inoxidável. A viabilidade das larvas foi verificada com o auxílio de uma lupa com aumento de  
1425 40x, tocando a larva com um pincel de cerdas macias e observando-se o movimento do aparelho  
1426 bucal da mesma. Caso houvesse mais de uma larva por disco, a excedente seria eliminada com um  
1427 alfinete entomológico, assegurando a permanência de apenas uma larva no disco de 2 cm.

1428 Os discos foram imersos por um período de 2 s em solução contendo inseticida na  
1429 concentração de 10 mg i.a./L, determinada com base nos valores admitidos para manejar as  
1430 mudanças iniciais na suscetibilidade de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepdoptera: Gelechiidae) as  
1431 diâmidas antranílicas e fitálicas (Campos *et al.* 2015). Os discos foram mantidos a temperatura

1432 ambiente para secagem, sendo posteriormente acondicionados em bandejas bioassay tray, modelo  
1433 Clear Rearing Tray, contendo 32 células cada e preenchidas previamente por discos de papel filtro  
1434 umedecidos com 200µL de água destilada. Um disco de folha contendo uma larva de segundo  
1435 ínstar da mosca minadora foi adicionado em cada célula da bandeja, em seguida foram mantidas  
1436 em câmara de crescimento onde permaneceram por um período de 48 h e 72 h, assegurando a  
1437 ação inseticida de moléculas de ação mais lenta; a  $25 \pm 2$  °C, UR  $65 \pm 10\%$  e um fotoperíodo de  
1438 12:12 h. As avaliações foram realizadas com o auxílio de uma lupa (Opton 5x, Alemanha). O  
1439 critério utilizado nas avaliações foi o seguinte: larvas que conseguiram mover o aparelho bucal  
1440 após serem tocadas cuidadosamente com um pincel de cerdas macias foram consideradas vivas.  
1441 Para cada bioensaio foram realizadas 2 repetições com 32 larvas de segundo instar  
1442 correspondendo a uma repetição, totalizando 160 larvas por bioensaio.

1443 **Bioensaios de Suscetibilidade a Inseticidas.** Os discos de feijão de porco, obtidos conforme  
1444 descrito no tópico concentração diagnóstica, foram imersos por 2 s em concentrações seriadas do  
1445 inseticida avaliado, um a um com o uso de pinça inoxidável. Para as diluições do inseticida  
1446 ciantraniliprole a concentração inicial foi de 20mg/L, que em seguida foi diluído em ordem  
1447 decrescente, resultando nas concentrações de 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125; 0,15625 e 0,078125  
1448 mg/L. Já para espinetoram a concentração inicial foi de 160 mg/L, que em seguida foi diluída em  
1449 ordem decrescente, obtendo as concentrações de 160, 80, 40, 20, 10, 5; 2,5; 1,25 e 0,625 mg/L.

1450 Posteriormente, os discos foram dispostos em superfície plana revestida por folhas de  
1451 jornal até sua completa secagem, então foram usadas 10 bandejas Bioassay tray, modelo Clear  
1452 Rearing Tray, contendo 32 células cada que foram preenchidas previamente por discos de papel  
1453 filtro umedecido com 200 µL de água potável com o auxílio de uma pipeta de 1000 µL. Cada  
1454 bandeja correspondeu a uma concentração do inseticida avaliado, utilizou-se portanto 9  
1455 concentrações, sendo uma bandeja para o controle do ensaio. Por fim, as bandejas foram vedadas

1456 por paletas de plástico, possibilitando assim um microclima que mantinha a turgidez das folhas  
1457 até a avaliação, sendo identificadas e acondicionadas em BOD com temperatura de  $25 \pm 1$  °C, UR  
1458 de  $60 \pm 5\%$  e fotofase de 12 h. Após um período de 48 h cada disco foi observado em lupa para  
1459 verificação da mortalidade e registro dos resultados, sendo novamente avaliado no período de 72  
1460 h após a realização do ensaio, isso garantiu a atuação de inseticidas que apresentavam ação mais  
1461 lenta. Para a realização dos bioensaios com o inseticida ciantraniliprole a população de MSR 5 foi  
1462 a utilizada como padrão de suscetibilidade e para espinetoram utilizou-se a população de CSF 1.  
1463 Para cada inseticida foram realizadas 2 repetições, 32 larvas de segundo instar em cada bandeja,  
1464 totalizando 576 larvas por ensaio.

1465 **Análise estatística.** Os dados de mortalidade obtidos no monitoramento foram usados para calcular  
1466 a percentagem de mortalidade, que posteriormente foi corrigida pela percentagem de mortalidade  
1467 do controle usando a fórmula de Abbott (1925). Para estimar curvas de concentração-resposta, os  
1468 dados de mortalidade foram corrigidos pela mortalidade observada no controle (Abbott 1925) e  
1469 submetidos à análise de Probit (Finney 1971), usando o programa POLO-Plus (LeOra Software  
1470 Co., Petaluma, CA, USA). As razões de resistência ( $RR_{50}$ ) foram calculadas com base no valor de  
1471  $CL_{50}$  da população mais suscetível a cada inseticida e, portanto, usadas como referência. Os  
1472 intervalos de confiança da razão de resistência foram calculados pelo método de Robertson *et al.*  
1473 (2007) e  $RR_{50}$  considerados significativos quando o intervalo de confiança em 95% não incluiu o  
1474 valor um, conforme proposto por Robertson & Preisler (1992).

1475

## Resultados

1476 **Concentração Diagnóstica.** Com relação a dose diagnóstica para ciantraniliprole após 48 e 72 h  
1477 de exposição, todas as populações apresentaram mortalidade acima de 90% (Figura 2). Após as 72  
1478 h de exposição ao espinetoram, os resultados foram semelhantes ao inseticida ciantraniliprole,  
1479 possuindo todas as populações valores de mortalidade maiores que 90% (Figura 3).

1480 **Bioensaios de Suscetibilidade a Inseticidas.** Os dados de mortalidade das populações de *L.*  
1481 *sativae* se ajustaram ao modelo de Probit para todos os inseticidas ( $\chi^2$  não foi significativo,  $P >$   
1482 0,05). A população de MSR 5 foi a mais suscetível para ciantraniliprole, com uma  $CL_{50}$  de 0,05 mg  
1483 i.a./L às 48 h de exposição (Tabela 2), e uma  $CL_{50}$  de 0,04 mg i.a./L (Tabela 3) às 72 h. Para  
1484 espinetoram a população de CSF 1 foi a mais suscetível, com uma  $CL_{50}$  de 0,20 mg i.a./L após 48 h  
1485 de exposição ao inseticida (Tabela 4) e uma  $CL_{50}$  de 0,20 mg i.a./L as 72 h (Tabela 5). Embora  
1486 estes valores tenham sido iguais, houve um aumento na inclinação da curva, alterando os valores  
1487 de CL em torno da  $CL_{50}$ . As respostas das  $CL_{50}$  das populações utilizadas no estudo para a diamida  
1488 foram homogêneas de acordo com o tempo de avaliação, apenas mudando significativamente  
1489 segundo os intervalos de confiança a 95% para as populações de MSR 2, TBU 1 e BRN 1. Os  
1490 valores obtidos por meio das  $CL_{50}$  para ciantraniliprole entre todas as populações de *L. sativae*  
1491 variaram de 0,05 – 0,32 mg i.a./L às 48 h e de 0,04 – 0,23 mg i.a./L as 72 h. Os coeficientes  
1492 angulares das curvas apresentaram em geral um aumento nas avaliações com 72 horas de exposição  
1493 ao espinetoram [variando de 1,60 (CSF1) a 3,53 (TBU1)] comparado com 48 horas [variando de  
1494 1,42 (CSF1) a 3,67 (TBU1)]. Para o ciantraniliprole, os coeficientes angulares das curvas  
1495 apresentaram também em geral um aumento nas avaliações com 72 horas de exposição [variando  
1496 de 1,09 (CSF1) a 2,26 (MSR2)] comparado com 48 horas [variando de 0,47 (MSR5) a 2,14  
1497 (MSR3)]. Observa-se portanto uma homogeneização das respostas no tempo maior de exposição  
1498 para ambos inseticidas.

1499 As razões de resistência ( $RR_{50}$ ) para ciantraniliprole, variaram de 2,81 – 6,97 vezes após  
1500 exposição de 48 h e de 1,15 – 4,18 vezes após 72 h. Baseado no limite de confiança a 95% de  
1501 probabilidade, as razões de resistência de todas as populações foram significativas na avaliação  
1502 após 48 h de exposição (Tabela 2), porém após 72 h apenas as populações de CSF 1 ( $RR = 1,73$   
1503 vezes), MSR 2 ( $RR = 2,67$  vezes), TBU 1 ( $RR = 4,01$  vezes) BRN 1 ( $RR = 4,18$  vezes) exibiram

1504 razões de resistência significantes para clorantraniliprole (Tabela 3). Para espinetoram as  
1505 populações avaliadas apresentaram valores das  $CL_{50}$  variando de 0,20 – 1,77 mg i.a./L às 48 h e de  
1506 0,20 – 1,57 mg i.a./L às 72 h. Os valores de  $RR_{50}$  para espinetoram variaram de 3,30 – 8,83 vezes  
1507 às 48 h; e de 1,63 – 7,88 vezes as 72 h. Baseado no limite de confiança a 95% de probabilidade, as  
1508 razões de resistência de todas as populações foram significantes na avaliação após 48 h de  
1509 exposição (Tabela 4), mas as 72 h apenas as populações de MSR 3 ( $RR = 3,52$  vezes), MSR 4 ( $RR$   
1510  $= 3,58$  vezes), TBU 1 ( $RR = 5,38$  vezes) e MSR 2 ( $RR = 7,88$  vezes) , exibiram razões de  
1511 resistência altas e significantes para espinetoram (Tabela 5).

1512

1513

### Discussão

1514 A ocorrência de resistência tem sido um dos principais entraves para a eficiência dos  
1515 inseticidas em campo, assim como para sua comercialização. O pequeno portfólio de produtos  
1516 registrados para o controle de *L. sativae* dificulta ainda mais o manejo da resistência, por diminuir  
1517 a possibilidade de rotação de produtos com diferentes modos de ação, prática que retardaria a  
1518 evolução das populações para resistência aos inseticidas atualmente empregados em campo.  
1519 Associado a isto, o estabelecimento da suscetibilidade a novos modos de ação é importante como  
1520 ponto de partida no monitoramento da evolução da resistência. Neste estudo, realizou o  
1521 levantamento da suscetibilidade de *L. sativae* a novos modos de ação, utilizando metodologia  
1522 aprimorada de bioensaio (Santos 2020, cap 1) mostrou que populações desta praga se apresentam  
1523 ainda suscetíveis a ambos, ciantraniliprole e espinetoram. Ainda, alterações na metodologia de  
1524 bioensaio usualmente praticada para este gênero promoveram uma maior reprodutibilidade dos  
1525 resultados, em contraste com os resultados obtidos por Cox *et al.* 1995, Ferguson 2004 e Silva  
1526 2014.

1527

1528           As menores doses recomendadas em rótulo de ciantraniliprole e espinetoram para controle  
1529 de *L. sativae* em melão são 31,25 e 30 mg/L respectivamente (MAPA, 2020). A dose diagnóstica  
1530 de 10 mg/L não matou 100% das populações, sugerindo que pequena frequência de resistência já  
1531 esteja presente em algumas populações como MSR2 para ambos inseticidas, além de MSR3 e  
1532 TBU1 para espinetoram. O espinetoram vem sendo utilizado há mais tempo que a diamida na  
1533 região de Mossoró, além do uso prévio de espinosade na região, produto com modo de ação  
1534 similar, evidenciando um início de evolução de resistência nestas populações. A pressão com  
1535 espinetoram na região parece ser um fato mais comum do que com ciantraniliprole, e  
1536 aparentemente não há pelo menos um manejo rotativo direcionado com estas ou outras moléculas.  
1537 Outros trabalhos feitos com a espécie sugerem que a diamida, recentemente registrada no país, já  
1538 apresenta risco de evolução a resistência (Silva 2014, Damasceno 2017). Por outro lado, casos de  
1539 resistência de *Liriomyza* ao espinosade foram relatados há alguns anos nos Estados Unidos  
1540 (Ferguson, 2004). A resistência a espinosinas encontra-se em níveis incipientes nas áreas  
1541 avaliadas neste estudo, sendo necessárias medidas para conter sua evolução rápida. Além disso, os  
1542 resultados sugerem um levantamento urgente da suscetibilidade de populações brasileiras de  
1543 *Liriomyza* em outras áreas do país, no sentido de promover programas de manejo da resistência,  
1544 uma vez que o comércio de inseticidas entre os estados pode agravar o *status* da resistência nas  
1545 populações em geral.

1546           As populações de *L. sativae* responderam homogeneamente aos novos inseticidas  
1547 registrados, mas se apresentaram mais sensíveis a ciantraniliprole do que a espinetoram, no  
1548 entanto com valores de CL<sub>99S</sub> com amplas variações nos IC<sub>95%</sub> o que sugere um aumento na  
1549 frequência de indivíduos tolerantes ao inseticida. Por isso, práticas que reduzam essa evolução  
1550 devem ser imediatamente adotadas nas áreas de produção, para retardar e/ou evitar a resistência  
1551 ao ciantraniliprole. A evidência de declínio da suscetibilidade dessas populações da mosca

1552 minadora ao ciantraniliprole pode ser explicado pela prévia exposição das populações a outra  
1553 diamida, o clorantraniliprole. Mesmo não possuindo registro para uso no controle da mosca  
1554 minadora, os produtores têm usado com frequência em meloeiro e outras hortaliças devido à  
1555 relativa eficácia a esta praga. Além disso, o clorantraniliprole possui registro e é utilizado para  
1556 broca-das-cucurbitáceas (*Diaphania hyalinata*), praga que ocorre em cultivos adjacentes e na  
1557 própria cultura do melão. Desta forma, a pressão com diamidas nestas áreas pode estar  
1558 selecionando para a resistência populações de *L. sativae*, devido ao modo de ação similar (Lahm  
1559 *et al.* 2007). Contrário ao panorama das diamidas, as espinosinas apresentaram uma diminuição na  
1560 toxicidade frente as populações, com quase todas apresentando um aumento na tolerância a estas  
1561 moléculas. O uso de espinetoram foi antecipado em função de registro anterior (no ano de 2014)  
1562 ao ciantraniliprole (registrado em 2017), o que levou produtores a usá-lo com mais frequência,  
1563 aumentando o risco de falhas de controle no curto prazo se medidas proativas para manejar a  
1564 resistência não sejam implementadas. O uso irracional de inseticidas e a não adoção de rotação  
1565 com produtos de diferentes modos de ação pode ter contribuído para essa queda na eficiência do  
1566 espinetoram. No estudo de Silva (2014), ao se avaliar populações de minadora da mesma região  
1567 expostas ao espinetoram, a máxima  $RR_{50}$  encontrada foi de 3,1 vezes, enquanto neste trabalho  
1568 apresentou  $RR_{50} = 7,88$  vezes. Um aumento de 2,5 vezes na tolerância, demandando particular  
1569 atenção ao uso de espinetoram nestas áreas e às boas práticas agrícolas para retardar o processo de  
1570 evolução de resistência.

1571           Para um controle químico eficiente da minadora, inseticidas com diferentes modos de ação  
1572 devem ser rotacionados nos cultivos. Enquanto a efetividade de espinosinas e diamidas pode  
1573 ainda conter os surtos de *L. sativae*, outros produtos podem ser beneficiados com o retorno da  
1574 suscetibilidade a estes e inseridos racionalmente no controle da praga. Pelo menos quatro grupos  
1575 químicos (com diferentes modos de ação) podem ser utilizados no seu controle: espinosinas,

1576 diamidas, ciromazinas e avermectinas, produtos ainda em uso frente à praga. Além deste, os  
1577 derivados de nereistoxinas possam ainda ser inseridos em programa de rotação. Ainda com  
1578 relação ao manejo, aspectos como a ação desses inseticidas aos principais inimigos naturais da  
1579 praga, por exemplo: *Opius scabriventris* e *Neochrysocharis* sp. devem ser observados. Como  
1580 algumas populações de *L. sativae*, ainda, se mostram suscetíveis a diamidas e ao espinetoram  
1581 deve-se estabelecer um plano de manejo com estratégias que busquem retardar a evolução da  
1582 resistência nessas populações com baixo impacto aos inimigos naturais, contribuindo com a  
1583 mitigação da resistência e o aumento no tempo de vida destas moléculas. Desta forma, a avaliação  
1584 da suscetibilidade destes inimigos naturais a estes grupos traria informações cruciais no manejo  
1585 correto destes. Adicionalmente, o uso de práticas como a destruição de restos culturais; uso de  
1586 níveis de controle contribuem para retardar a resistência a inseticidas. Por fim, estudos adicionais  
1587 devem ser realizados para se obter mais informações que venham a contribuir para o programa de  
1588 manejo da resistência da *L. sativae* no Brasil, iniciando por um levantamento em larga escala no  
1589 país.

1590

1591

### **Agradecimentos**

1592 À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) que possibilitou a realização desta  
1593 pesquisa, ao CNPq pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste estudo, por meio do projeto  
1594 311372/2017-1 e 438341/2018-0.

1595

### **Literatura Citada**

1596 **Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol.  
1597 18: 265-267.

1598  
1599 **Agrianual, 2019.** Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: Instituto FNP- Consultoria e  
1600 comércio. 33p.

1601

- 1602 **Agrofit, 2020.** Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e  
1603 Abastecimento. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br>. Acesso em: 02 de jan. de  
1604 2020.  
1605
- 1606 **Araujo, E.L., D.R.R. Fernandes, L.D. Geremias, A.C. Menezes Netto & M.A. Filgueira.**  
1607 **2007.** Mosca minadora associada à cultura do meloeiro no semiárido do Rio Grande do  
1608 Norte. R. Caatinga 20: 210-212.  
1609
- 1610 **Azevedo, F.R. de., J.A. Guimarães, D. Terao, L.G. Pinheiro Neto & J.A.D. de Freitas. 2005.**  
1611 Distribuição vertical de minas de *Liriomyza sativae* Blanchard, 1938 (Díptera:  
1612 Agromyzidae) em folhas de meloeiro, em plantio comercial. Revista de Ciência  
1613 Agronômica 36: 322-326.  
1614
- 1615 **Campos, M. R., T.B.M. Silva, W.M. Silva, J.E. Silva & H.A.A. Siqueira. 2015.** Susceptibility  
1616 of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) Brazilian populations to ryanodine receptor  
1617 modulators. Pest Manag Sci. 4: 537-44.  
1618
- 1619 **Costa-Lima, T.C., A.C. Silva & J.R.P. Parra. 2015.** Moscas-minadoras do gênero *Liriomyza*  
1620 (Diptera: Agromyzidae): aspectos taxonômicos e biologia. Petrolina: Embrapa Semiárido.  
1621 36p. (Documento 268)  
1622
- 1623 **Croft, B.A., B.A. Roft & B. Van. 1988.** Ecological and genetic factors influencing evolution of  
1624 pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. Exp. Appl. Acarol. 4: 277-300.  
1625
- 1626 **Damasceno, G.C.C., A.C. Oliveira & T.C. Costa-Lima. 2017.** Suscetibilidade de *Liriomyza*  
1627 *sativae* (Diptera: Agromyzidae) em meloeiro a inseticidas. Petrolina, Embrapa semiárido,  
1628 5p. (Documento 279).  
1629
- 1630 **Ferguson, J.S. 2004.** Development and stability of insecticide resistance in the leafminer  
1631 *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine, abamectin and spinosad. J. Econ.  
1632 Entomol. 97: 112-119.  
1633
- 1634 **Fernandes, O.F., C.C. Ferreira & M.A. Montagna. 2000.** Manejo integrado de pragas do  
1635 meloeiro: manual de reconhecimento das pragas e táticas de controle. Jaboticabal, Funep-  
1636 CNPq, 28p.  
1637
- 1638 **Finney, D.J. 1971.** Probit Analysis. London, Cambridge University Press, 333p.  
1639
- 1640 **Georghiou, G.P. 1990.** Overview of insecticide resistance, p. 18-41. In M.B. Brown, H.M.  
1641 LeBarom & W.K. Moberg (Eds.) Managing resistance to agrochemicals: from fundamental  
1642 research to practical strategies. Washington, American Chemical Society, 483p.  
1643
- 1644 **Guantai, K.M.M., C.P.K.O. Ogol, D. Salifu, J.M. Kasina, K.S. Akutse & K.K.M. Fiaboe.**  
1645 **2015.** Differential effects of pesticide applications on *Liriomyza huidobrensis* (Diptera:  
1646 Agromyzidae) and its Parasitoids on Pea in Central Kenya. J. Econ. Entomol. 108: 662-671.  
1647

- 1648 **Guedes, R.N.C., M.C. Picanço, A.L. Matioli & R.M. Rocha. 1994.** Efeito de inseticidas e  
1649 sistemas de condução do tomateiro no controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:  
1650 Gelechiidae). An. Soc. Entomol. Bras. 23: 321-325.  
1651
- 1652 **Guimarães, J.A., F.R. Azevedo, R.B. Sobrinho & A.L. Mesquita. 2005.** Recomendações para o  
1653 Manejo das Principais Pragas do Meloeiro na Região do Semi-Árido Nordeste. Fortaleza,  
1654 Embrapa Agroindústria Tropical, 9p. (Circular Técnica 24).  
1655
- 1656 **Guimarães, J.A., M.M. Filho, V.R. Oliveira, R.S. Liz & E.L. Araujo. 2009.** Biologia e manejo  
1657 de mosca minadora no meloeiro. Brasília, Embrapa Hortaliças, 9p. (Circular técnica 77).  
1658
- 1659 **Johansen, N.S., T.M. Tuan, L.T.K. Oanh & E. Nordhus. 2003.** Susceptibility of *Liriomyza*  
1660 sativae (Diptera: Agromyzidae) larvae to some insecticides scheduled for their control in  
1661 North Vietnam. Grønn kunnskap 7: 17.  
1662
- 1663 **Lahm, G.P., T.M. Stevenson, T.P. Selby, J.H. Freudenberger, D. Cordova, L. Flexner,  
1664 C.A. Bellin, C.M. Dubas, B.K. Smith,, K.A. Hughes, J.G. Hollinghaus, C.E. Clarck  
1665 & E.A. Benner. 2007.** Rynaxypir™: A new insecticidal anthranilic diamide that acts as a  
1666 potente and selective ryanodine receptor activator. Bioorg. Med. Chem. Lett. 17: 6274-  
1667 6279.  
1668
- 1669 **Mason, G.A, M.W. Johnson & B.E. Tabashnik. 1987.** Susceptibility of *Liriomyza sativae* and  
1670 *L. trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to Permethrin and Fenvalerate. J. Econ. Entomol.. 80:  
1671 1262-1266.  
1672
- 1673 **Omoto, C. 2000.** Modo de ação de inseticidas e resistência de insetos a inseticidas, p. 30-49. In  
1674 J.C. Guedes, I.D. Costa, & E. Castiglioni. (Eds.). Bases e técnicas de manejo de insetos. ,  
1675 Santa Maria, Univ. Federal de Santa Maria, 248p.  
1676
- 1677 **Orr, N., A.J. Shaffner, K. Richey & G.D. Crouse. 2009.** Novel mode of action of spinosad:  
1678 Receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target  
1679 sites. Pest. Biochem. Physiol. 95: 1-5.  
1680
- 1681 **Palumbo, J.C. & D.L. Kerns. 1998.** Melon insect pest management in Arizona. Tucson, University  
1682 of Arizona Cooperative Extension, 7p. (IPM Séries 11).  
1683
- 1684 **Parrella, M.P., W.A.V. Allen, & P. Morishita. 1981.** Leafminer species causes California mum  
1685 growers new problem. California Agriculture 35: 28-30.  
1686
- 1687 **Parrella, M.P. & C.B. Keil. 1984.** Insect pest management: the lesson of *Liriomyza*. Bull.  
1688 Entomol. Soc. Am. 30: 22-25.  
1689
- 1690 **Parrella, M.P. 1987.** Biology of *Liriomyza*. A. Rev. Entomol. 32: 201-224.  
1691
- 1692 **Picanço M., R.N.C. Guedes, G.L.D. Leite, P.C.R. Fontes & E.A. Silva. 1995.** Incidência de  
1693 *Scrobipalpuloides absoluta* em tomateiro sob diferentes sistemas de tutoramento e de  
1694 controle químico. Hort. Bras. 13: 180-183.

1695  
1696 **Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. 1st ed. CRC, Press,  
1697 1618 Boca Raton, FL, 127 p.  
1698  
1699 **Robertson, J.L., R.M. Russell, H.K. Preisler & N.E. Savin. 2007.** Bioassays with Arthropods.  
1700 Boca Raton, CRC Press Taylor & Francis Group, 224p.  
1701  
1702 **Silva, P.A.F. 2014.** Bases para o manejo da resistência de *Liriomyza sativae* (blanchard) (Diptera:  
1703 Agromyzidae) a inseticidas de risco reduzido. Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife,  
1704 46p.  
1705  
1706 **Siqueira H.A.A., R.N.C. Guedes & M.C. Picanço. 2000.** Insecticide resistance in populations of  
1707 *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Agric. For. Entomol. 2: 147-153.  
1708  
1709 **Souza, J.C. de & P.R. Reis. 2001.** Minador-das-folhas: Importante praga na cultura da batata.  
1710 Revista ABBA 2: 31-32.  
1711  
1712 **Teixeira, L.A.F., L.J. Gut, J.C. Wise & R. Isaacs. 2009.** Lethal and sublethal effects of  
1713 chlorantraniliprole on three species of *Rhagoletis* fruit flies (Diptera: Tephritidae). Pest  
1714 Management Science. 65: 137–143.  
1715  
1716 **Umeda, K., G.Gal & B. Strickland. 2011.** Leafminer control in cantaloupe. Disponível em:  
1717 <[http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1101/az1101\\_18.html](http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1101/az1101_18.html)> Acesso em: 13 de Mai de 2017.  
1718  
1719 **Whalon, M.E., D. Mota-Sanchez & R.M. Hollingworth. 2008.** Global pesticide rersistance in  
1720 arthropods. London, CABI, 208p.  
1721  
1722 **Yee, L. W. 2018.** Spinosad Versus Spinetoram Effects on Kill and Oviposition of *Rhagoletis*  
1723 *indifferens* (Diptera: Tephritidae) at Differing Fly Ages and Temperatures. J. Insect Sci. 18:  
1724 1-10.  
1725

1726 Tabela 1. Locais de coleta das populações de *Liriomyza sativae* (Blanchard).

População	Sigla	Cultura	Coordenadas	Data de coleta	Histórico de aplicações
Baraúna - RN	BRN 1	Melão	4° 55'4,8" S 37° 30'19,9" O	Dezembro/2018	Abamectina, deltametrina, espinetoram, cloridrato de cartape, espinosade, ciantraniliprole, ciromazina, clorantraniliprole
Camocim de São Felix - PE	CSF 1	Pepino	8° 24'37" S 36° 52'45" W	Julho/2017	Abamectina, espinetoram, espinosade, clorantraniliprole, deltametrina, <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i>
Mossoró - RN	MSR 1	Melão	5° 12'5,7" S 37° 19'31,6" W	+ de 10 anos	Ausência de pressão de seleção a mais de 10 anos
Mossoró - RN	MSR 2	Melão	4° 50'41,6" S 37° 16'7" O	Janeiro/2019	Abamectina, piriproxifen, deltametrina, espinetoram, cloridrato de cartape, espinosade, ciantraniliprole, acetamiprido, ciromazina, clorantraniliprole
Mossoró - RN	MSR 3	Melão	5° 12'5,3" S 37° 19'31,9" O	Dezembro/2018	Abamectina, deltametrina, espinetoram, cloridrato de cartape
Mossoró - RN	MSR 4	Melão	4° 53'56" S 37° 24'25,6" O	Dezembro/2018	Abamectina, deltametrina, espinetoram, cloridrato de cartape, espinosade, ciantraniliprole, ciromazina, clorantraniliprole
Mossoró - RN	MSR 5	Melão	5° 5'17,8" S 37° 36'11,6" O	Dezembro/2018	Abamectina, deltametrina, espinetoram, cloridrato de cartape, espinosade, ciantraniliprole, ciromazina, clorantraniliprole
Tibau - RN	TBU 1	Melão	4° 54'20" S 37° 22'1" O	Janeiro/2019	Abamectina, deltametrina, espinetoram, cloridrato de cartape, espinosade, ciantraniliprole, ciromazina, clorantraniliprole

1727  
1728  
1729

1730 Tabela 2. Suscetibilidade de larvas de *Liriomyza sativae* após 48 h de exposição ao inseticida ciantraniliprole.

População	n <sup>a</sup>	$\chi^2$ GL <sup>b</sup>	Inclinação ± EP <sup>c</sup>	CL <sub>50</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>80</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>99</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	RR <sub>50</sub> (IC95%) <sup>f</sup>
MSR 5	576	1,03 (7)	0,47 ± 0,48	0,05 (0,03 - 0,07)	0,11 (0,08 - 0,12)	0,28 (0,20 - 0,62)	-
CSF 1	576	8,68 (7)	1,15 ± 0,11	0,13 (0,07 - 0,19)	0,70 (0,49 - 1,08)	13,62 (6,25 - 48,72)	2,81 (1,51 - 5,21)*
MSR 1	576	3,37 (7)	1,77 ± 0,16	0,17 (0,14 - 0,21)	0,53 (0,43 - 0,67)	3,62 (2,36 - 6,57)	3,79 (2,19 - 6,55)*
MSR 2	576	3,48 (7)	1,31 ± 0,11	0,19 (0,14 - 0,24)	0,83 (0,65 - 1,11)	11,28 (6,63 - 23,57)	4,08 (2,30 - 7,26)*
MSR 4	576	4,36 (7)	1,79 ± 0,15	0,21 (0,17 - 0,26)	0,63 (0,51 - 0,80)	4,26 (2,81 - 7,56)	4,56 (2,65 - 7,84)*
MSR 3	576	5,01 (7)	2,14 ± 0,17	0,28 (0,23 - 0,33)	0,70 (0,58 - 0,87)	3,45 (2,41 - 5,60)	6,02 (3,54 - 10,22)*
TBU 1	576	4,40 (7)	1,14 ± 0,09	0,30 (0,22 - 0,39)	1,65 (1,25 - 2,28)	32,53 (17,77 - 74,30)	6,48 (3,64 - 11,51)*
BRN 1	576	2,04 (7)	0,94 ± 0,08	0,32 (0,23 - 0,44)	2,52 (1,83 - 3,75)	92,51 (43,04 - 70,80)	6,97 (3,82 - 12,69)*

1731 <sup>a</sup> Número total de insetos.

1732 <sup>b</sup> Grau de liberdade.

1733 <sup>c</sup> Erro padrão da média.

1734 <sup>d</sup> Miligramas de ingrediente ativo por litro de água.

1735 <sup>e</sup> Qui-quadrado. <sup>f</sup> Razão de resistência: razão da CL<sub>50</sub> e CL<sub>80</sub> estimada entre as populações tolerantes e população mais suscetível,  
 1736 determinado pelo método de Robertson & Preisler (1992) e a razão do intervalo de confiança a 95%. \* A razão de resistência  
 1737 significativa porque o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

1738

1739

1740 Tabela 3. Suscetibilidade de larvas de *Liriomyza sativae* após 72 h de exposição ao inseticida ciantraniliprole.

População	n <sup>a</sup>	$\chi^2$ <sup>e</sup> GL <sup>b</sup>	Inclinação ± EP <sup>c</sup>	CL <sub>50</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>80</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>99</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	RR <sub>50</sub> (IC95%) <sup>f</sup>
MSR 5	576	2,74 (7)	1,64 ± 0,25	0,04 (0,02 - 0,07)	0,10 (0,11 - 0,20)	1,22 (0,20 - 0,62)	-
MSR 4	576	4,81 (7)	1,35 ± 0,17	0,06 (0,03 - 0,09)	0,26 (0,19 - 0,35)	3,28 (1,87 - 8,01)	1,15 (0,65 - 2,05)
MSR 3	576	1,14 (7)	1,70 ± 0,22	0,07 (0,04 - 0,09)	0,21 (0,17 - 0,28)	1,62 (1,01 - 3,52)	1,27 (0,77 - 2,09)
MSR 1	576	6,75 (7)	1,16 ± 0,12	0,08 (0,05 - 0,14)	0,44 (0,33 - 1,60)	8,45 (4,56 - 21,34)	1,53 (0,88 - 2,65)
CSF 1	576	8,08 (7)	1,09 ± 0,11	0,09 (0,04 - 0,15)	0,55 (0,38 - 0,89)	12,47 (5,62 - 47,27)	1,73 (1,00 - 2,98)
MSR 2	576	3,15 (7)	2,26 ± 0,23	0,14 (0,12 - 0,17)	0,34 (0,28 - 0,43)	1,56 (1,08 - 2,67)	2,67 (1,81 - 3,94)*
TBU 1	576	4,76 (7)	1,28 ± 0,11	0,22 (0,16 - 0,28)	0,99 (0,77 - 1,33)	14,11 (8,22 - 29,72)	4,01 (2,59 - 6,19)*
BRN 1	576	4,91 (7)	1,15 ± 0,10	0,23 (0,16 - 0,30)	1,22 (0,93 - 1,67)	23,37 (12,85 - 53,49)	4,18 (2,66 - 6,57)*

1741 <sup>a</sup> Número total de insetos.

1742 <sup>b</sup> Grau de liberdade.

1743 <sup>c</sup> Erro padrão da média.

1744 <sup>d</sup> Miligramas de ingrediente ativo por litro de água.

1745 <sup>e</sup> Qui-quadrado. <sup>f</sup> Razão de resistência: razão da CL<sub>50</sub> e CL<sub>80</sub> estimada entre as populações tolerantes e população mais suscetível,  
 1746 determinado pelo método de Robertson & Preisler (1992) e a razão do intervalo confiança de a 95%. \* A razão de resistência  
 1747 significativa porque o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

1748

1749 Tabela 4. Suscetibilidade de larvas de *Liriomyza sativa* após 48 h de exposição ao inseticida espinetoram.

População	n <sup>a</sup>	$\chi^2$ GL <sup>b</sup>	Inclinação $\pm$ EP <sup>c</sup>	CL <sub>50</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>80</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>99</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	RR <sub>50</sub> (IC95%) <sup>f</sup>
CSF 1	576	3,26 (7)	1,42 $\pm$ 0,28	0,20 (0,05 - 0,37)	0,77 (0,44 - 1,10)	8,52 (4,79 - 28,30)	—
MSR 5	576	1,53 (7)	1,62 $\pm$ 0,19	0,66 (0,44 - 0,88)	2,18 (1,73 - 2,82)	18,01 (11,05 - 38,60)	3,30 (1,33 - 8,16)*
MSR 3	576	3,11 (7)	1,85 $\pm$ 0,22	0,71 (0,50 - 0,91)	2,02 (1,64 - 2,57)	12,82 (8,19 - 26,02)	3,54 (1,45 - 8,62)*
MSR 1	576	0,30 (7)	2,87 $\pm$ 0,30	1,10 (0,92 - 1,28)	2,17 (1,85 - 2,64)	7,13 (5,21 - 11,32)	5,50 (2,34 - 12,95)*
BRN 1	576	5,14 (7)	1,85 $\pm$ 0,17	1,36 (1,08 - 1,66)	3,89 (3,17 - 4,96)	24,68 (16,22 - 44,67)	6,80 (2,86 - 16,18)*
TBU 1	576	0,80 (7)	3,67 $\pm$ 0,36	1,54 (1,36 - 1,74)	2,61 (2,27 - 3,12)	6,61 (5,10 - 9,62)	7,68 (3,28 - 17,96)*
MSR 4	576	2,35 (7)	2,32 $\pm$ 0,21	1,69 (1,43 - 1,98)	3,90 (3,26 - 4,86)	16,97 (11,95 - 27,60)	8,45 (3,59 - 19,90)*
MSR 2	576	3,78 (7)	2,10 $\pm$ 0,18	1,77 (1,47 - 2,10)	4,46 (3,69 - 5,61)	22,71 (15,62 - 38,07)	8,83 (3,74 - 20,86)*

1750 <sup>a</sup> Número total de insetos.

1751 <sup>b</sup> Grau de liberdade.

1752 <sup>c</sup> Erro padrão da média.

1753 <sup>d</sup> Miligramas de ingrediente ativo por litro de água.

1754 <sup>e</sup> Qui-quadrado. <sup>f</sup> Razão de resistência: razão da CL<sub>50</sub> e CL<sub>80</sub> estimada entre as populações tolerantes e população mais suscetível,  
 1755 determinado pelo método de Robertson & Preisler (1992) e a razão do intervalo confiança de a 95%. \* A razão de resistência  
 1756 significativa porque o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

1757

1758 Tabela 5. Suscetibilidade de larvas de *Liriomyza sativa* após 72 h de exposição ao inseticida espinetoram.

População	n <sup>a</sup>	$\chi^2$ GL <sup>b</sup>	Inclinação $\pm$ EP <sup>c</sup>	CL <sub>50</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>80</sub> (IC95%) <sup>d</sup>	CL <sub>99</sub> (IC95%) <sup>f</sup>	RR <sub>50</sub> (IC95%) <sup>f</sup>
CSF 1	576	2,92 (7)	1,60 $\pm$ 0,35	0,20 (0,04 - 0,36)	0,66 (0,35 - 0,94)	5,60 (3,28 - 19,35)	–
MSR 5	576	1,68 (7)	1,62 $\pm$ 0,27	0,32 (0,14 - 0,50)	1,07 (0,76 - 1,42)	8,84 (5,23 - 23,81)	1,63 (0,57 - 4,61)
BRN 1	576	1,17 (7)	2,47 $\pm$ 0,47	0,42 (0,23 - 0,57)	0,93 (0,73 - 1,16)	3,72 (2,50 - 8,42)	2,13 (0,82 - 5,54)
MSR 1	576	0,20 (7)	2,93 $\pm$ 0,53	0,48 (0,31 - 0,61)	0,94 (0,77 - 1,14)	3,02 (2,14 - 5,98)	2,43 (0,96 - 6,10)
MSR 3	576	5,08 (7)	2,45 $\pm$ 0,33	0,70 (0,53 - 0,86)	1,55 (1,29 - 1,92)	6,24 (4,28 - 11,60)	3,52 (1,43 - 8,66)*
MSR 4	576	2,76 (7)	2,07 $\pm$ 0,26	0,71 (0,52 - 0,89)	1,82 (1,49 - 2,29)	9,46 (6,23 - 18,54)	3,58 (1,44 - 8,88)*
TBU 1	576	3,93 (7)	3,53 $\pm$ 0,40	1,07 (0,93 - 1,22)	1,86 (1,61 - 2,24)	4,89 (3,70 - 70,48)	5,38 (2,23 - 12,95)*
MSR 2	576	4,64 (7)	2,14 $\pm$ 0,19	1,57 (1,30 - 1,86)	3,89 (3,23 - 4,90)	19,19 (13,19 - 32,47)	7,88 (3,25 - 19,13)*

1759 <sup>a</sup> Número total de insetos.

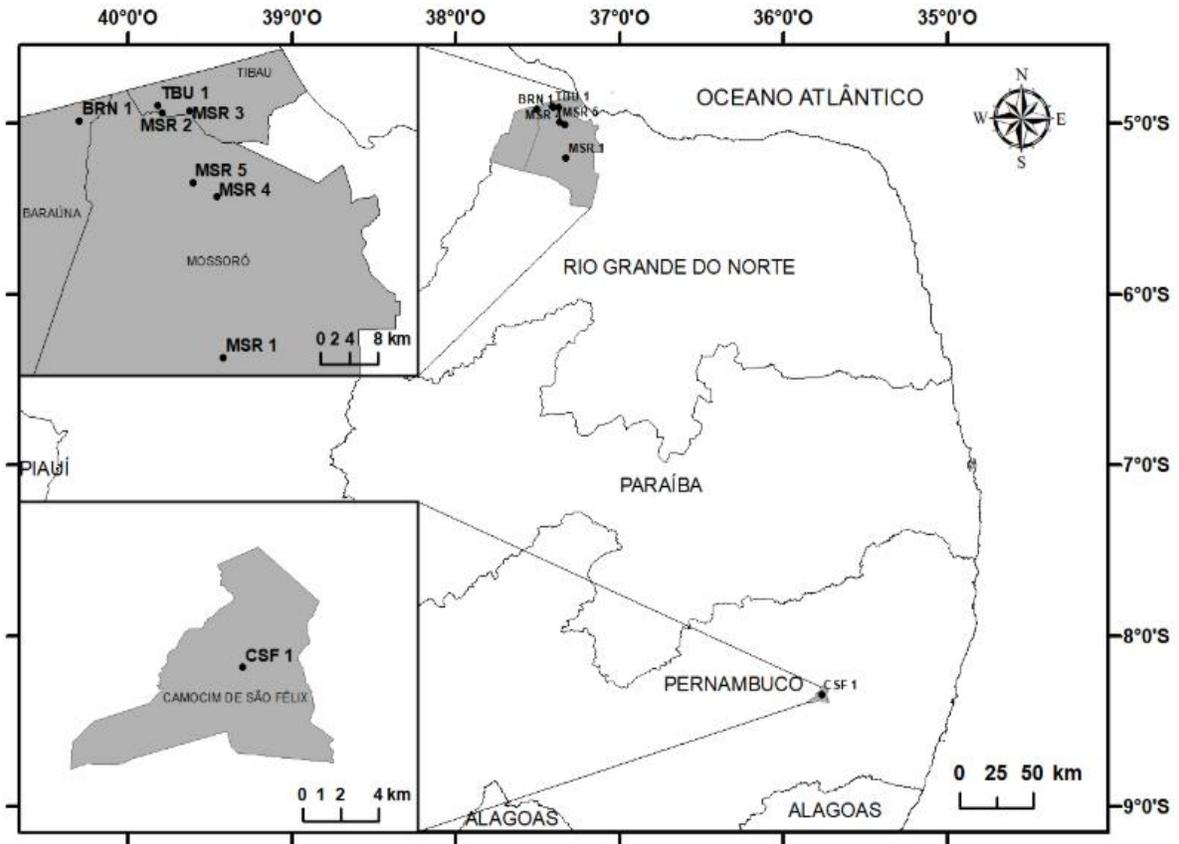
1760 <sup>b</sup> Grau de liberdade.

1761 <sup>c</sup> Erro padrão da média.

1762 <sup>d</sup> Miligramas de ingrediente ativo por litro de água.

1763 <sup>e</sup> Qui-quadrado. <sup>f</sup> Razão de resistência: razão da CL<sub>50</sub> e CL<sub>80</sub> estimada entre as populações tolerantes e população mais suscetível,  
 1764 determinado pelo método de Robertson & Preisler (1992) e a razão do intervalo confiança de a 95%. \* A razão de resistência  
 1765 significativa porque o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0.

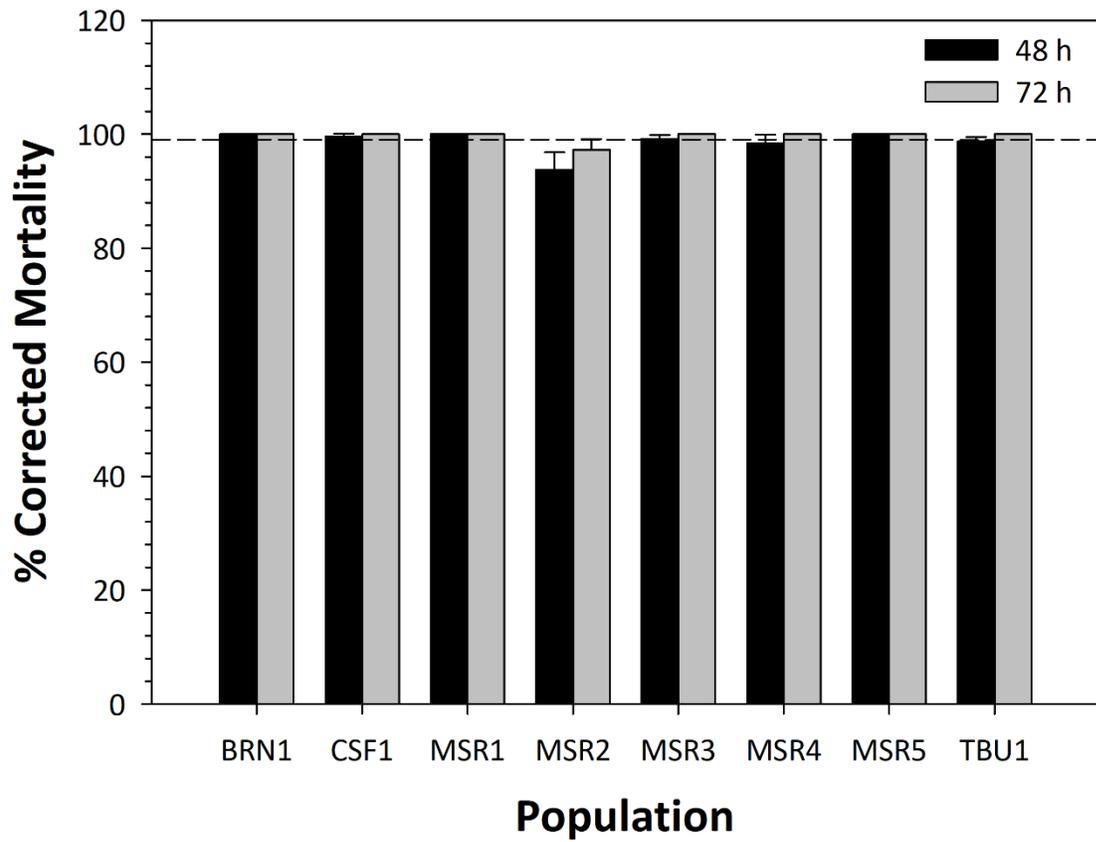
1766



1767

1768 Figura 1. Distribuição geográfica dos pontos de coleta das populações de *Liriomyza sativae*.

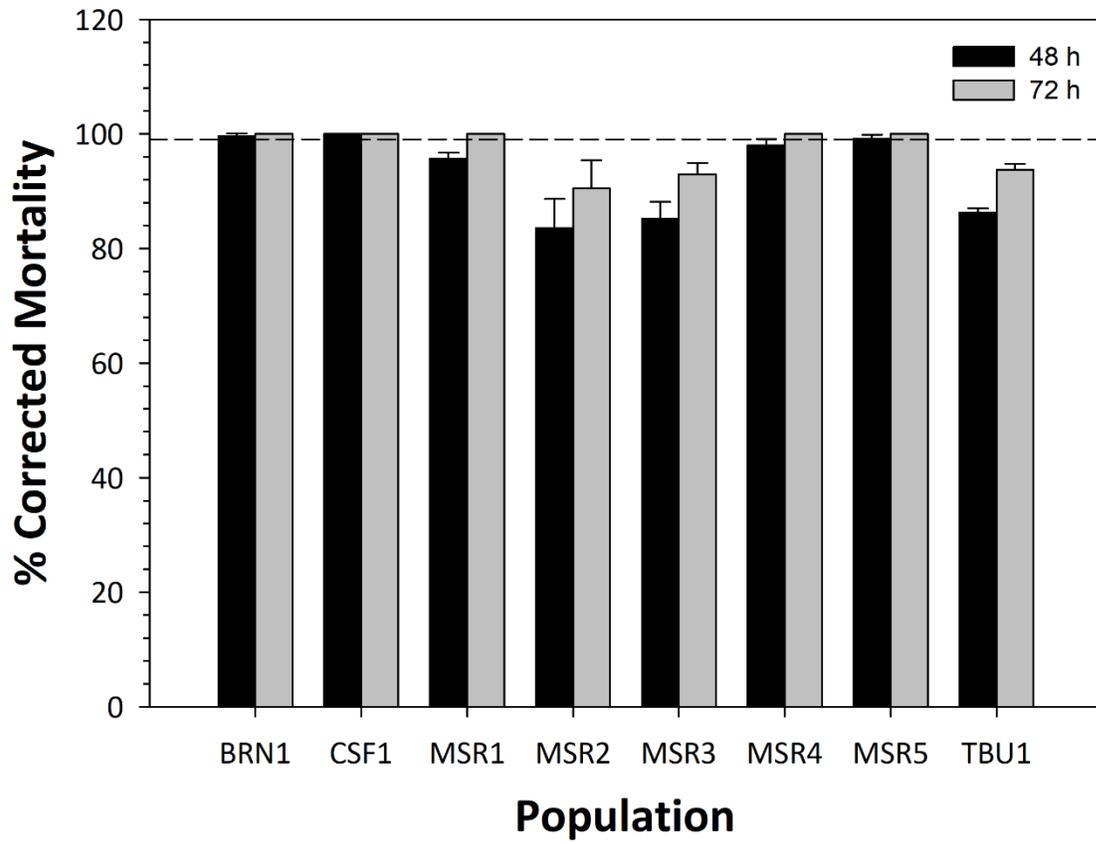
1769



1770  
 1771 Figura 2. Suscetibilidade de diferentes populações de *Liriomyza sativae* em diferentes tempos de  
 1772 exposição à dose diagnóstica de 10 mg /L de ciantraniliprole.

1773  
 1774  
 1775

1776



1777

1778 Figura 3. Suscetibilidade de diferentes populações de *Liriomyza sativae* em diferentes tempos de  
1779 exposição à dose diagnóstica de 10 mg/L de espinetoram.

1780

## CAPÍTULO 4

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

1781  
1782  
1783       A *Liriomyza sativae* é uma das principais pragas para a cultura do meloeiro no Brasil. Seu  
1784 controle é praticamente feito com o uso de inseticidas como abamectina, ciromazina, espinetoram  
1785 e ciantraniliprole, que possuem registro junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e  
1786 Abastecimento (MAPA). O uso indiscriminado desses inseticidas possibilita o surgimento de  
1787 populações de *Liriomyza* resistentes as moléculas de inseticidas comercializadas para seu  
1788 controle. Esse problema pode estar ocorrendo por diversos fatores, entre eles a aplicação  
1789 sucessiva de doses maiores que as recomendadas para os produtos, além da não rotação de  
1790 inseticidas com diferentes sítios de ação. .

1791       A elaboração de bioensaios toxicológicos é necessário para realização de estudos  
1792 toxicológicos que permitam a descoberta do status da suscetibilidade de populações da mosca  
1793 minadora. No entanto, esse é um dos principais entraves para as pesquisas, a carência de  
1794 metodologias viáveis e padronizadas para realização de bioensaio. A metodologia aprimorada  
1795 nesse trabalho solucionou diversas inapropriações nas metodologias anteriores, foram essas: a  
1796 padronização do número de indivíduos avaliados em cada repetição, permitindo a sua  
1797 individualização em discos de áreas conhecidas (2 cm), evitando assim a morte da larva por  
1798 competição ou canibalismo (fenômeno comum em insetos); praticidade de elaboração, o tempo  
1799 total para finalização do bioensaio empregando bandejas foi reduzido quando comparado ao uso  
1800 de placas de acrílico, sendo um ensaio de fácil elaboração; menor custo de execução, pois foi  
1801 usado menor quantidade de materiais já que as bandejas já comportam 32 discos que continham  
1802 as larvas, usando assim somente uma bandeja por concentração testada, enquanto ao usar placa de  
1803 acrílico seriam necessárias 32 placas para cada concentração; e por fim, a metodologia com uso  
1804 de bandejas foi validada pelos resultados das populações de *L. sativae* submetidas a ação dos

1805 inseticidas acima citados, apresentando essas homogeneidade de slope, baixos valores de qui  
1806 quadrado, alto número de indivíduos testados e valores consistentes das CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub> fidelizando a  
1807 segurança e confiabilidade do método. A aplicabilidade da metodologia com o uso de bandejas  
1808 quando comparada a metodologia de utilização de trechos da folha, apresentou a interferência de  
1809 demandar mais tempo e mão de obra para a individualização das larvas, precisando ser realizada a  
1810 confecção dos discos de folhas um a um, tornando o bioensaio um pouco mais cansativo de ser  
1811 realizado. E ainda apresentou alguns episódios de condensação da água na parte superior da  
1812 bandeja que foi sobreposta, sendo necessário sua secagem as 24h após a realização do bioensaio  
1813 para se evitar o encharcamento do disco de folha e conseqüentemente da mina.

1814 Ao serem avaliadas populações de *L. sativae* expostas aos inseticidas ciantraniliprole e ao  
1815 espinetoram que são os produtos registrados mais recentemente para o controle da minadora,  
1816 observamos maior toxicidade do ciantraniliprole. Já a espinosina espinetoram apresentou valores  
1817 mais altos de CL<sub>50</sub> e de RR, o que relata uma menor suscetibilidade das populações testadas a este  
1818 inseticida. Sendo necessário a adoção imediata de práticas que reduzam ou retardem a evolução  
1819 da resistência dessas populações, garantindo assim a eficácia por mais tempo dos inseticidas  
1820 testados. Diante disto, recomenda-se adoção racional do controle químico, fazendo uso de  
1821 estratégias como rotação de produtos com diferentes modos de ação, práticas culturais como  
1822 destruição de restos culturais, não usar doses maiores que as recomendadas e monitorar a  
1823 suscetibilidade das populações por meio de bioensaios toxicológicos.

1824

1825