

ESTUDO DA RESISTÊNCIA AO PIRETRÓIDES DELTAMETRINA EM *Tribolium Castaneum* (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

Maria Paula Martins Januário (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Fernanda Moura Calderón, Daiani Rodrigues Moreira, Adriana Aparecida Sinópolis Giglioli, Ana Silvia Lapenta (Orientador), e-mail: aslapenta@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas/ Maringá, PR.

Ciências Biológicas/Genética/Genética Animal.

Palavras-chave: *T. castaneum*, Mortalidade, Esterase.

Resumo

O inseto-praga *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) pode ser encontrado em produtos estocados, normalmente se alimentando de farinhas, grãos e farelos, gerando perdas qualitativas e quantitativas na produção e grandes prejuízos econômicos para produtores e comerciantes. O uso intensivo de inseticidas no controle de pragas de grãos armazenados tem contribuído para o desenvolvimento de resistência, por meio de mecanismos fisiológicos, comportamentais e bioquímicos. O mecanismo bioquímico talvez seja um dos mais importantes, uma vez que são realizados por enzimas, tais como as esterases. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a susceptibilidade de uma linhagem natural de *T. castaneum* (Lab-S) e outra resistente ao organofosforado (F5Org) por meio da estimativa da CL₅₀, avaliar a ocorrência de resistência cruzada ou múltipla entre esses compostos e o possível envolvimento das esterases nos mecanismos de resistência para esse inseticida. As linhagens variaram na resistência de deltametrina, com CL₅₀ de $1,226 \times 10^{-3}$ (F5Org) e $8,13 \times 10^{-4}$ (LabS). Duas principais esterases estão envolvidas na resistência (EST-3 e EST-5), atuando na detoxificação.

Introdução

O inseto-praga *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) pode ser encontrado em produtos estocados, normalmente se alimentando de farinhas, grãos e farelos, gerando perdas qualitativas e quantitativas na produção e, conseqüentemente, um grande prejuízo econômico para produtores e comerciantes. As condições climáticas e infraestruturas inadequadas de armazenamento principalmente nas pequenas propriedades do nosso país favorecem a rápida disseminação de diferentes pragas em grãos e subprodutos armazenados. Dentre as várias espécies, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) é de grande importância porque,

tem elevado potencial biótico e causa danos aos grãos tanto na fase larval quanto na fase adulta. Desta forma, o controle desse inseto praga é uma das operações mais importantes durante o armazenamento de grãos e alimentos. O método de controle mais utilizado é o químico, porém, o uso intensivo de inseticidas tem contribuído para o desenvolvimento de resistência, por meio de mecanismos fisiológicos, comportamentais e bioquímicos, o qual é realizado principalmente por enzimas, como as esterases. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a susceptibilidade de uma linhagem natural de *T. castaneum* (Lab-S) e outra resistente ao organofosforado (FOrg), ao piretróide deltametrina por meio da estimativa da CL₅₀, avaliar a ocorrência de resistência cruzada ou múltipla entre esses compostos e o possível envolvimento das esterases nos mecanismos de resistência para esse inseticida.

Materiais e métodos

Manutenção das linhagens de Tribolium castaneum.

As linhagens foram criadas em laboratório a temperatura de 30° ± 2° C no escuro e mantidas em recipientes de vidro contendo farinha de trigo como dieta alimentar. A linhagem FOrg foi previamente selecionado em meio contendo o organofosforado pirimifós-metil por cinco gerações.

Bioensaios para cálculo da CL₅₀ e obtenção de insetos expostos.

Para avaliar a taxa de mortalidade, foram realizados bioensaios, nos quais 25 insetos adultos não sexados e sem idade definida foram colocados em uma placa de Petri sobre um papel filtro (150 mm diâmetro) impregnado com concentrações subletais de Deltametrina previamente diluída em 10 ml de água.

Identificação das esterases.

Após 24h de exposição ao deltametrina, os insetos vivos foram congelados e posteriormente utilizados como amostra para realização da eletroforese em gel vertical de poli(acrilamida) (PAGE) para análise da ação das esterases. As esterases foram visualizadas nos géis como bandas pretas ou vermelhas, indicativas da presença de α e β-esterases

Resultados e Discussão

No presente trabalho, foi verificada a variação no grau de resistência ao piretróide deltametrina entre as linhagens de *T. castaneum*. A linhagem F5Org com CL₅₀ de 1,226 x 10⁻³ foi 1,51 vezes mais resistente que LabS, linhagem mais sensível ao deltametrina com CL₅₀ estimada em 8,13 x 10⁻⁴.

As esterases têm sido identificadas e caracterizadas em várias espécies, principalmente por meio da eletroforese em gel de poli(acrilamida) (PAGE), uma técnica rápida e eficiente que permite verificar indiretamente os genes para esse sistema isoenzimático (Rossiter et al., 2001).

Dependendo da intensidade e duração de exposição aos inseticidas, a consequência sobre indivíduos de uma população pode ser manifestada a curto prazo. Isto pode ser observado por meio do aumento ou diminuição na quantidade e na atividade de enzimas, ou a longo prazo resultar no efeito de seleção e alteração das frequências alélicas (Poly, 1997). Neste trabalho foi analisada a relação das esterases com a resistência de cada linhagem ao piretróide deltametrina e foi verificado que, a EST-5, classificada como carboxilesterases, presente nos insetos da linhagem resistente, parece atuar na resposta dos insetos a exposição a deltametrina por meio da detoxificação metabólica, e a EST-3, classificada como colinesterase, presente nos insetos, está presente no sistema nervoso dos insetos, atuando provavelmente em funções não colinérgicas, como a detoxificação de inseticidas (Gigliolli, 2011). Ambas responderam de maneira parecida, sendo inibida com a presença do inseticida, como pode ser visto nas figuras abaixo.

Tabela 1- Comportamento da EST-3 em insetos adultos, de duas linhagens de *Tribolium castaneum*, em diferentes concentrações de deltametrina (g i.a/mL). Graus de inibição: ++ = parcial, +++= total, S/A= sem alteração.

EST-3	$2,5 \times 10^{-4}$	$2,5 \times 10^{-3}$	5×10^{-3}
LabS	+++	S/A	++
F5Org	Não analisado	+++	S/A

Tabela 2- Comportamento da EST-5 em insetos adultos, de duas linhagens de *Tribolium castaneum*, em diferentes concentrações de deltametrina (g i.a/mL). Graus de inibição: ++ = parcial, +++= total, S/A= sem alteração.

EST-5	$2,5 \times 10^{-4}$	$2,5 \times 10^{-3}$	5×10^{-3}
LabS	Não analisado	+++	++
F5Org	Não analisado	Não analisado	S/A

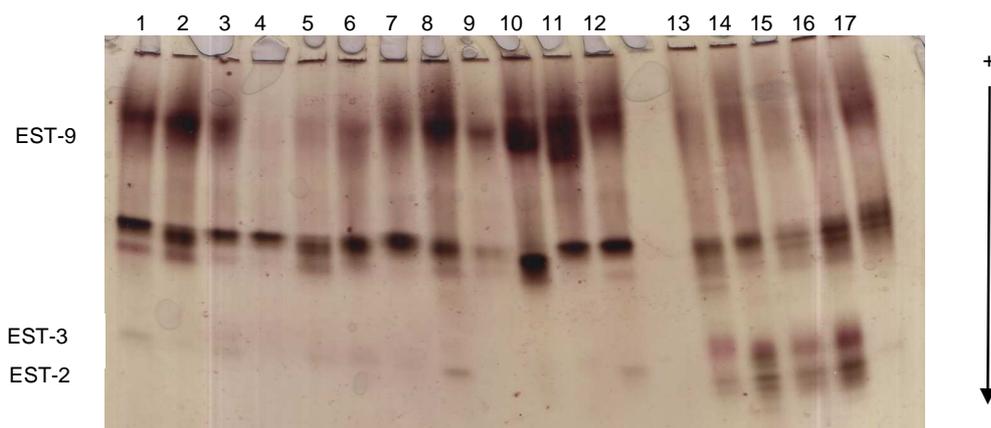


Figura 1. Gel de poliacrilamida (PAGE) de insetos adultos das linhagens, LabS expostas a $2,5 \times 10^{-4}$ de deltametrina (g i.a/MI) (1 a 12) e LabS controle (13 a 17).

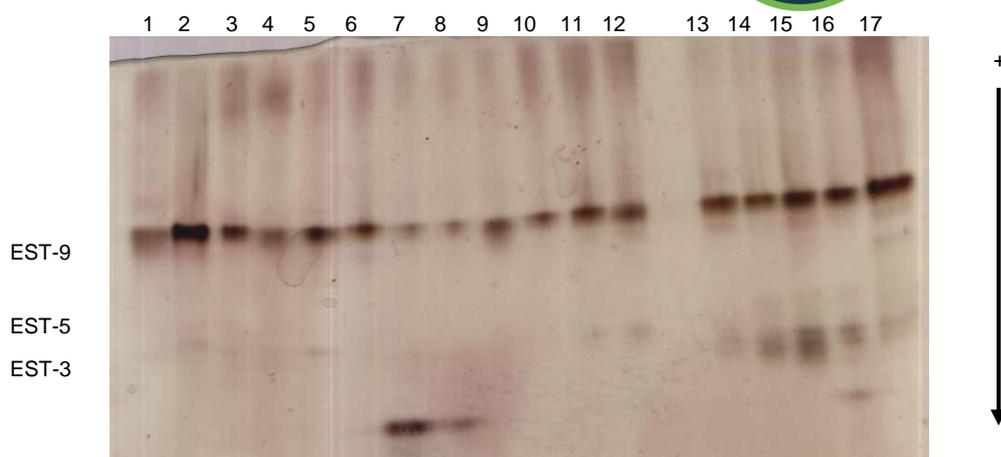


Figura 2. Gel de poliacrilamida (PAGE) de insetos adultos das linhagens, F5Org expostas a $2,5 \times 10^{-3}$ de deltametrina (g i.a/mL) (1 a 12) e F5Org controle (13 a 17).

Conclusões

A partir dos dados obtidos mostrando que a linhagem F5Org com CL_{50} de $1,226 \times 10^{-3}$ foi 1,51 vezes mais resistente que LabS, linhagem mais sensível ao deltametrina com CL_{50} estimada em $8,13 \times 10^{-4}$, além de uma diferença mínima na expressão das esterases, pode-se concluir que os insetos da linhagem F5Org apresentaram uma resistência pouco maior que a linhagem LabS.

Agradecimentos

Agradeço a minha orientadora e demais membros do laboratório, juntamente a Fundação Araucária por financiar o presente projeto.

Referências

Gigliolli A. A. S, Lucena A. L. M, Lapenta A. S. Identificação e Caracterização Das Esterases em *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **SaBios (Faculdade Integrado de Campo Mourão. Online)**, v. 06, p. 25-35, 2011.

Poly, W. J. Nongenetic Variation, Genetic-environmental Interactions and Altered Gene Expression. II. Diase, Parasite and Pollution Effects. **Comparative Biochemistry Physiology** v.117, p. 61-74, 1997.

Rossiter, L. C., Conyers, C. M., Macnicoll, A. D., Rose, H. A. Two Qualitatively Different B- esterases From Two Organophosphate- Resistant Strains of *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and Their Roles in Fenitrothion and Chlorpyrifos-Methyl Resistance. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 69, p. 118-130, 2001.

26º Encontro Anual de Iniciação Científica
6º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



16 e 17 de outubro de 2017

