

MONITORAMENTO DA SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *BLATTELLA GERMANICA* (LINNAEUS, 1767) (DICTYOPTERA: BLATTELLIDAE) A INSETICIDAS¹

E. Salmeron² & C. Omoto

Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Av. Pádua Dias, 11, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil. E-mail: esalmero@esalq.usp.br ou elosalmeron@ig.com.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a suscetibilidade de populações de *Blattella germanica* (L.) aos inseticidas deltametrina e clorpirifós e também ao novo inseticida fipronil. Para tanto, técnicas de bioensaio de aplicação tópica e de contato tarsal foram contrastadas. O bioensaio de aplicação tópica possibilitou uma melhor discriminação entre a linhagem suscetível e as populações de campo de *B. germanica*. Para deltametrina, as razões de resistência (RR) encontradas foram de 10,32; 14,08 e 100,80 vezes com o bioensaio de aplicação tópica e de 2,21; 2,25 e 1,98 vezes com o de contato tarsal para as populações RJ-1, RJ-2 e SP-1, respectivamente. Para clorpirifós, as RR foram de 4,98; 6,62 e 30,06 vezes com o bioensaio de aplicação tópica e de 1,35; 1,47 e 1,70 vezes com o de contato tarsal, respectivamente. Resultados do monitoramento da suscetibilidade de *B. germanica* a inseticidas evidenciaram a presença de variabilidade genética que confere resistência a deltametrina, clorpirifós e fipronil em populações coletadas em alguns estabelecimentos comerciais dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro. As RR variaram de 10,32 a 100,80 vezes para a deltametrina, de 4,98 a 30,06 vezes para o clorpirifós e de 2,00 a 6,36 vezes para o fipronil.

PALAVRAS-CHAVE: Barata alemã, bioensaio, clorpirifós, deltametrina, fipronil.

ABSTRACT

MONITORING THE SUSCEPTIBILITY OF *BLATTELLA GERMANICA* (LINNAEUS, 1767) (DICTYOPTERA: BLATTELLIDAE) POPULATIONS TO INSECTICIDES. This work aimed to evaluate the susceptibility of *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) (L.) populations to deltamethrin and chlorpyrifos, and also to a recently registered insecticide fipronil. For this purpose, topical and tarsal contact bioassays were contrasted. Topical contact bioassay gave better discrimination between the susceptible strain and field-collected populations of *B. germanica*. For deltamethrin, the resistance ratios (RR) were 10.32; 14.08 and 100.80-fold with topical bioassay and 2.21; 2.25 and 1.98-fold with tarsal contact for RJ-1, RJ-2 and SP-1 populations, respectively. For chlorpyrifos, the RR were 4.98; 6.62 and 30.06-fold with topical bioassay and 1.35; 1.47 and 1.70-fold with tarsal contact, respectively. Results from a survey of *B. germanica* susceptibility to insecticides revealed the presence of genetic variability that confers resistance to deltamethrin, chlorpyrifos and fipronil in field-collected populations of *B. germanica* from the states of São Paulo and Rio de Janeiro. The RR varied from 10.32 to 100.80-fold for deltamethrin, 4.98 to 30.06-fold for chlorpyrifos and 2.00 to 6.36-fold for fipronil.

KEY WORDS: German cockroach, bioassay, chlorpyrifos, deltamethrin, fipronil.

INTRODUÇÃO

A aplicação de inseticidas no controle de *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae) tem se tornado cada vez mais intensa e o perigo associado com essa prática exige que constantes inovações sejam implantadas, fazendo com que a procura por novos inseticidas e

métodos de aplicação sejam um processo contínuo dependente de muitos fatores, incluindo a habilidade dos insetos de desenvolver resistência a inseticidas. Os inseticidas organofosforados e piretróides têm sido bastante usados no controle de *B. germanica*, e sendo assim, a resistência ao organofosforado clorpirifós, por exemplo, tem sido largamente difundida (MILIO *et al.*,

¹Pesquisa financiada pela FAPESP (Processo 1999/0687-7)

²Bolsista do CNPq. Parte da tese de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

1987; RUST & REIERSON, 1991), assim como a resistência aos piretróides permetrina, cipermetrina e lambdacialotrina (HEMINGWAY *et al.*, 1993; VALLES, 1998).

Uma das principais etapas dentro de um programa de manejo da resistência de pragas a pesticidas é definir uma técnica de bioensaio que permita uma maior separação entre as linhagens suscetível e resistente da praga (DENNEHY *et al.*, 1983; FRENCH-CONSTANT & ROUSH, 1990). As duas técnicas de bioensaio mais comumente usadas para detectar a resistência a inseticidas em *B. germanica* têm sido os métodos de aplicação tópica e de contato tarsal. O método de aplicação tópica tem sido usado para monitorar resistência em numerosas espécies de insetos (FRENCH-CONSTANT & ROUSH, 1990), enquanto que o método de contato tarsal (KELLER *et al.*, 1956) foi especificamente desenvolvido para o uso em *B. germanica*, sendo este mais realístico do que o método de aplicação tópica porque os insetos entram em contato com o resíduo de inseticida. As intensidades de resistência a inseticidas reportadas para *B. germanica* têm variado de acordo com o método de bioensaio utilizado; e em geral, a aplicação tópica tem possibilitado uma melhor detecção da resistência (MILIO *et al.*, 1987; COCHRAN, 1989; RUST & REIERSON, 1991).

Apesar de inúmeros trabalhos de monitoramento da resistência de *B. germanica* a vários inseticidas no âmbito mundial, pesquisas nesta área ainda são bastante carentes no Brasil. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a suscetibilidade de populações de *B. germanica* aos inseticidas deltametrina e clorpirifós, e também ao novo inseticida fipronil. Para tanto, técnicas de bioensaio de aplicação tópica e de contato tarsal foram avaliadas para a detecção da resistência. Posteriormente, um monitoramento da suscetibilidade de *B. germanica* a esses inseticidas foi realizado a partir de populações coletadas em alguns estabelecimentos comerciais dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Populações de *B. germanica* foram coletadas em estabelecimentos comerciais nas cidades de Piracicaba e São Paulo, SP, e Rio de Janeiro, RJ, (Quadro 1), sendo posteriormente mantidas em criação no laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas no Setor de Entomologia do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP) em Piracicaba, SP.

As baratas foram coletadas através de armadilhas segundo procedimentos relatados por CORNWELL (1976). Foram coletados pelo menos 50 indivíduos em vários estágios de desenvolvimento sem considerar sexo ou idade para o estabelecimento de uma determinada população no laboratório. A linhagem suscetível

(denominada de SUS) foi obtida da Bioagri Laboratórios Ltda., Piracicaba, SP, onde a população era mantida em laboratório por mais de dez anos sem nunca ter recebido qualquer tratamento com inseticida. A criação de *B. germanica* em laboratório seguiu os procedimentos reportados por CORNWELL (1968). A dieta das baratas consistiu de ração para cachorro, gelatina e leite em pó, além de um fornecimento ininterrupto de água através de bebedouros plásticos. A criação foi mantida em uma sala regulada à temperatura de 28 ± 1 °C, umidade relativa de $55 \pm 5\%$ e fotofase de 12 h (LEE *et al.*, 1996).

Os bioensaios foram realizados com os inseticidas deltametrina (98,5% de pureza, Aventis Environmental Science); clorpirifós (97% de pureza, Dow Agrosciences Industrial Ltda.) e fipronil (89% de pureza, Aventis Environmental Science). Inicialmente foram testadas a linhagem suscetível (SUS) e 3 populações de campo (RJ-1, RJ-2 e SP-1) coletadas em estabelecimentos comerciais cujo controle já mostrava-se difícil após contínuo e intenso uso de inseticidas nessas localidades. Todos os testes foram realizados somente com machos de *B. germanica*.

No bioensaio de aplicação tópica, os inseticidas deltametrina, clorpirifós e fipronil foram aplicados na forma de produto técnico diluído em acetona, testando-se de 6 a 8 concentrações, espaçadas em escala logarítmica, que proporcionaram mortalidades entre 5 e 99% para cada inseticida e população.

As baratas foram inicialmente separadas e distribuídas em recipientes plásticos de 500 mL previamente etiquetados. Para cada concentração do inseticida foram testados cerca de 80 indivíduos (8 grupos de 10 baratas por recipiente). Após a separação das baratas, estas foram anestesiadas com CO₂ (20s a 10 L/min.) (VALLES & KOEHLER, 1994) e submetidas à aplicação de 1 µL da solução do inseticida por barata através de uma microseringa de vidro de 1 mL acoplada a um microaplicador automático (modelo Arnold LV6 da Burkard Manufacturing Co. Ltda.). A gotícula foi aplicada na face ventral no 1º segmento abdominal (LEE *et al.*, 1996; VALLES & YU, 1996). No tratamento controle as aplicações foram feitas utilizando-se apenas a acetona e testando-se apenas a metade do número de insetos utilizados nos tratamentos. Após a aplicação, as baratas foram transferidas em um recipiente contendo algodão embebido em água e alimento. Em seguida, os recipientes foram fechados com tampas plásticas contendo orifícios para a circulação de ar e acondicionados em uma câmara climatizada regulada à temperatura de 28 ± 1 °C, umidade relativa de $55 \pm 5\%$ e fotofase de 12 h (LEE *et al.*, 1996). A avaliação da mortalidade foi realizada com 24, 48 e 72 h após a aplicação do inseticida, adotando-se como critério de resposta as baratas incapazes de se locomoverem normalmente, mostrando evidências de paralisia ou tombamento.

Quadro 1 - Local e data de coleta das populações de *B. germanica*. ESALQ/USP.

População	Local de coleta	Cidade	Data de coleta
SUS	Laboratório	Piracicaba, SP	—
PIR - 1	Restaurante	Piracicaba, SP	Agosto/98
PIR - 2	Bar		Maió/99
RJ - 1	Refeitório industrial	Rio de Janeiro, RJ	Abril/93
RJ - 2	Supermercado		Outubro/96
RJ - 3	Restaurante		Fevereiro/00
SP - 1	Refeitório industrial	São Paulo, SP	Setembro/97
SP - 2	Residência		Janeiro/98
SP - 3	Porão de edifício residencial		Janeiro/99
SP - 4	Empório		Outubro/99

Os dados de mortalidade para cada tempo de avaliação foram submetidos à análise de Probit, através do programa estatístico POLO-PC (LEORA SOFTWARE, 1987) para a estimativa da CL_{50} . Posteriormente, o valor obtido para a CL_{50} foi dividido pelo peso médio das baratas (mg) da população correspondente, de forma a expressar os dados em termos de DL_{50} (μg ia/mg). A razão de resistência foi obtida por meio do quociente entre a DL_{50} da população em estudo pela DL_{50} da linhagem SUS.

Para avaliar a suscetibilidade das populações de *B. germanica* a deltametrina e clorpirifós através do bioensaio de contato tarsal (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1970), frascos de vidro de 500 mL (294,52 cm^2 de superfície interna) foram previamente tratados com 2,5 mL da solução de inseticida (produto técnico diluído em acetona). Os frascos foram tratados com 200 μg deltametrina/mL de acetona (1,70 μg deltametrina/ cm^2) e 1000 μg clorpirifós/mL de acetona (8,49 μg clorpirifós/ cm^2) e, em seguida, foram colocados numa capela para exaustão de gases até a manhã do dia seguinte para a evaporação do solvente. Para o tratamento controle, os frascos foram tratados apenas com a acetona. Posteriormente, 10 baratas foram infestadas por frasco tratado. Após a infestação foi avaliado o efeito de choque (*knock-down*) para a deltametrina ou insetos moribundos para o clorpirifós, em intervalos de tempo espaçados logaritmicamente, variando entre 3 e 560 minutos. Posteriormente, a mortalidade foi avaliada com 12 e 24 h após a

infestação. Após a permanência dos insetos no resíduo por 24 h, tanto para a deltametrina como para o clorpirifós, os sobreviventes foram retirados e colocados em recipientes plásticos com tampa contendo algodão embebido em água e alimento. A mortalidade foi avaliada com 48 e 72 h após a infestação. Os indivíduos incapazes de se locomoverem normalmente mostrando evidências de paralisia ou tombamento foram considerados mortos.

Os testes foram conduzidos à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $55 \pm 5\%$ e fotofase de 12 h. Os dados de resposta foram submetidos à análise de Probit, por meio do programa estatístico POLO-PC (LEORA SOFTWARE, 1987) para estimativa do tempo de "*knock-down*" (KD_{50}) para a deltametrina e tempo letal (TL_{50}) para o clorpirifós. Posteriormente, foi calculada a razão de resistência (quociente da KD_{50} ou TL_{50} da população em estudo pela KD_{50} ou TL_{50} da linhagem suscetível).

Um monitoramento da suscetibilidade de *B. germanica* aos inseticidas deltametrina e clorpirifós foi realizado em 9 populações de campo e em 3 populações para o inseticida fipronil coletadas em diversos estabelecimentos comerciais (Quadro 1). O método de bioensaio utilizado foi o de aplicação tópica avaliado com 48 h, pois mostrou ser o melhor método para detecção da resistência de *B. germanica* a inseticidas.

Os dados de resposta foram submetidos à análise de Probit, através do programa estatístico POLO-PC (LEORA SOFTWARE, 1987) para estimativa da CL_{50} e, em seguida, transformados em DL_{50} e cálculo da razão de resistência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados de concentração-mortalidade da linhagem SUS e das populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 de *B. germanica* avaliadas com 24, 48 e 72 h após aplicação tópica com o inseticida deltametrina, foram observados que o melhor tempo para avaliação das suscetibilidades nas populações testadas foi com 48 h (Tabela 1). Um aumento na resposta foi observado com o tempo de avaliação, porém optou-se pela avaliação com 48 h, por proporcionar resultados mais consistentes (menor intervalo de confiança para os parâmetros estimados) e respostas mais rápidas do que com 72 h (FRENCH-CONSTANT & ROUSH, 1990). Em alguns casos não foi possível estimar o intervalo de confiança (IC) da DL_{50} , pois os dados não se adequaram ao modelo de Probit, como por exemplo para a avaliação com 24 h na população SP-1 para a deltametrina. Foram observadas reduções significativas na suscetibilidade a deltametrina em populações de campo de *B. germanica*, quando comparadas com a

suscetibilidade da linhagem SUS (Tabela 1). Para a avaliação com 48 h, as razões de resistência (RR) calculadas para as populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 foram de 10,32; 14,08 e 100,80 vezes; respectivamente. Os coeficientes angulares da curva de regressão obtidos pela análise de Probit em populações de campo testadas com o inseticida deltametrina foram sempre menores do que o coeficiente angular da linhagem SUS (Tabela 1). Segundo HOSKINS & GORDON (1956), uma interpretação biológica do coeficiente angular está relacionada à homogeneidade de uma determinada população, isto é, quanto maior o coeficiente angular, maior a homogeneidade dessa população. Portanto, há indícios da presença de indivíduos resistentes em frequências relativamente altas nas populações de *B. germanica* testadas no presente trabalho, principalmente, na população SP-1.

Para o inseticida clorpirifós foi verificado também que o melhor tempo de avaliação foi com 48 h após a aplicação tópica (Tabela 2) embora as diferenças não sejam significativas entre os tempos de avaliação. Em alguns casos não foi possível estimar o IC, pois os dados não se adequaram ao modelo de Probit, como por exemplo na avaliação com 24 h na linhagem SUS para o clorpirifós. Os resultados da análise de Probit para o clorpirifós (Tabela 2) mostraram também uma redução significativa na suscetibilidade a esse inseticida em populações de campo de *B. germanica*. As razões de resistência (RR) calculadas para as populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 foram de 4,98; 6,62 e 30,06 vezes; respectivamente. Ao contrário dos resultados com deltametrina, os coeficientes angulares das populações de campo testadas com o inseticida clorpirifós foram bastante próximos ao coeficiente angular da linhagem SUS.

Nos resultados de concentração-mortalidade dessas mesmas linhagens de *B. germanica* avaliadas com 24, 48 e 72 h após aplicação tópica com o inseticida fipronil também foi observado que o melhor tempo de avaliação foi com 48 h (Tabela 3). A resposta com fipronil em *B. germanica* foi mais lenta do que com deltametrina e clorpirifós. Resultados consistentes de resposta foram possíveis somente a partir da avaliação com 48 h após a aplicação. Em algumas avaliações também não foi possível estimar o IC, pois os dados não se adequaram ao modelo de Probit, como por exemplo com 24 e 72 h para a linhagem SUS. Os resultados da análise de Probit para o fipronil mostraram diferenças significativas na suscetibilidade de *B. germanica* a esse inseticida (Tabela 3). As razões de resistência (RR) calculadas para as populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 foram de 2,09; 2,00 e 2,70 vezes; respectivamente. Os coeficientes angulares das populações de campo testadas com o inseticida fipronil também foram menores do que o coeficiente angu-

lar da linhagem SUS. Esses resultados sugerem a presença de variabilidade genética que confere resistência a fipronil nas populações de *B. germanica* avaliadas.

O método de bioensaio de contato tarsal não proporcionou uma boa discriminação entre a linhagem suscetível (SUS) e as populações de *B. germanica* testadas com os inseticidas deltametrina e clorpirifós. As respostas da linhagem SUS e das populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 de *B. germanica* encontram-se na Tabela 4 para a deltametrina e Tabela 5 para o clorpirifós. Para o inseticida deltametrina, observa-se através da Tabela 4 que o método de contato tarsal possibilitou uma menor discriminação entre a linhagem SUS e as populações de campo quando comparado com os resultados obtidos com o método de aplicação tópica (Tabela 1). O critério de avaliação baseado no efeito "knock-down" não proporcionou discriminação entre as populações. O critério de mortalidade com 12, 24, 48 e 72 h também não foi eficiente para detectar a resistência, pois não apresentaram diferenças significativas entre si e nem mesmo entre as populações. A mortalidade obtida para o inseticida deltametrina (1,70 µg deltametrina/cm²) foi de 100%, 99,81%, 99,84% e 100% para a linhagem SUS e populações RJ-1, RJ-2 e SP-1, respectivamente. As razões de resistência obtidas através do bioensaio de contato tarsal para as populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 foram de 2,21; 2,25 e 1,98 vezes; respectivamente (Tabela 4). As baixas razões de resistência obtidas neste experimento foram semelhantes aos obtidos por WADLEIGH *et al.* (1989) quando testaram resíduos de cipermetrina na dose de 1,92 µg/cm².

O método de contato tarsal, avaliado através do critério de insetos moribundos também não permitiu a separação entre as populações para o inseticida clorpirifós testado na dose de 8,40 µg clorpirifós/cm². A mortalidade com 12, 24, 48 e 72 h foi de 100% para todos os tempos de avaliações nas populações testadas. As razões de resistência obtidas através do bioensaio de contato tarsal para as populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 foram de apenas 1,35; 1,47 e 1,70 vezes; respectivamente (Tabela 5). Os dados obtidos neste experimento foram semelhantes aos obtidos por MILIO *et al.* (1987); SCHAL (1988) e WADLEIGH *et al.* (1989) ao testarem resíduos de clorpirifós nas doses de 5,0; 16,5 e 4,81 µg/cm², respectivamente.

A Tabela 6 mostra um resumo comparativo das razões de resistência obtidas com os 2 tipos de bioensaio para os inseticidas deltametrina e clorpirifós nas populações testadas. O bioensaio de aplicação tópica, através da estimativa da DL₅₀, mostrou ser uma técnica mais eficiente do que o de contato tarsal para se detectar a resistência aos 2 inseticidas testados devido a melhor discriminação entre a linhagem suscetível e as populações de campo.

Tabela 1 - Respostas de dose-mortalidade da linhagem suscetível (SUS) e das populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 de *B. germanica* avaliadas com 24, 48 e 72h após aplicação tópica com o inseticida deltametrina. ESALQ/USP.

Linhagem/ Populações	Tempo de avaliação	n ^a	DL ₅₀ ^b (IC 95%)	Coefficiente angular (± ep)	χ ²	gl ^c	RR ^d
SUS	24 h	740	0,34 (0,26 - 0,45)	2,96 (±0,19)	15,42	4	—
	48 h		0,25 (0,18 - 0,31)	2,83 (±0,17)	12,34	4	—
	72 h	590	0,19 (0,16 - 0,22)	2,99 (±0,29)	0,42	4	—
RJ-1	24 h	880	3,55 (2,54 - 4,83)	1,56 (±0,10)	18,87	6	10,44
	48 h		2,58 (1,67 - 3,66)	1,62 (±0,11)	20,63	6	10,32
	72 h		2,28 (1,58 - 3,08)	1,67 (±0,12)	14,03	6	12,00
RJ-2	24 h	709	4,91 (3,93 - 6,00)	1,67 (±0,11)	6,26	6	14,44
	48 h		3,52 (2,57 - 4,57)	1,56 (±0,11)	8,70	6	14,08
	72 h		3,19 (2,40 - 4,05)	1,54 (±0,11)	6,00	6	16,79
SP-1	24 h	450	51,49 (-) ^e	1,03 (±0,13)	37,28	6	151,44
	48 h		25,20 (13,21 - 63,24)	1,25 (±0,13)	27,36	6	100,80
	72 h		20,04 (8,32 - 43,01)	1,53 (±0,16)	31,49	6	105,47

^a n = número de insetos testados

^b dose letal média (µg deltametrina/mg) para cada tempo de avaliação

^c gl = graus de liberdade

^d RR = razão de resistência (DL₅₀ da população em estudo/DL₅₀ da linhagem SUS)

^e não foi possível estimar o IC

As razões de resistência a deltametrina na população SP-1 foram de 100 vezes com o bioensaio de aplicação tópica e somente de 2 vezes com o bioensaio de contato tarsal (Tabela 6). Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por ZHAI & ROBINSON (1996) que encontraram razões de resistência a cipermetrina em *B. germanica* de 123 vezes com o bioensaio de aplicação tópica e somente 3 vezes com o bioensaio de contato tarsal.

Para o clorpirifós na população SP-1, foi obtida a mesma tendência para as razões de resistência. Maiores razões de resistência foram obtidas com o bioensaio de aplicação tópica (30 vezes) do que com o bioensaio de contato tarsal (aproximadamente 2 vezes). Resultados semelhantes foram reportados por MILIO *et al.* (1987) que encontraram uma razão de resistência ao inseticida clorpirifós em *B. germanica* da ordem de 14,3 e 7,8 vezes com os bioensaios de aplicação tópica e contato tarsal, respectivamente.

Tabela 2 - Respostas de dose-mortalidade da linhagem suscetível (SUS) e das populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 de *B. germanica* avaliadas com 24, 48 e 72h após aplicação tópica com o inseticida clorpirifós. ESALQ/USP.

Linagem/ Populações	Tempo de avaliação	n ^a	DL ₅₀ ^b (IC 95%)	Coefficiente angular (± ep)	χ ²	gl ^c	RR ^d
SUS	24 h	520	4,49 (-) ^e	3,45 (±0,25)	95,09	4	—
	48 h		4,16 (2,80 - 5,33)	4,71 (±0,46)	13,19	4	—
	72 h	370	4,32 (2,26 - 6,45)	4,41 (±0,51)	16,87	4	—
RJ-1	24 h	589	21,95 (19,41 - 24,95)	4,13 (±0,30)	5,26	6	4,89
	48 h		20,72 (18,99 - 22,58)	4,14 (±0,32)	5,26	6	4,98
	72 h		20,56 (18,00 - 23,32)	4,14 (±0,34)	7,11	6	4,76
RJ-2	24 h	707	28,71 (26,02 - 31,63)	3,30 (±0,21)	8,01	8	6,39
	48 h		3,52 (24,80 - 30,50)	3,29 (±0,21)	8,89	8	6,62
	72 h		27,09 (24,16 - 30,28)	3,30 (±0,21)	10,55	8	6,27
SP-1	24 h	380	132,69 (114,18 - 163,21)	4,39 (±0,45)	4,99	4	29,55
	48 h		25,20 (106,83 - 154,92)	4,45 (±0,13)	6,00	4	30,06
	72 h		112,10 (102,03 - 125,04)	4,07 (±0,40)	3,65	4	25,95

^a n = número de insetos testados

^b dose letal média (µg clorpirifós/mg) para cada tempo de avaliação

^c gl = graus de liberdade

^d RR = razão de resistência (DL₅₀ da população em estudo/DL₅₀ da linhagem SUS)

^e não foi possível estimar o IC

Apesar de ser recomendada pela ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (1970) para a detecção da resistência de *B. germanica* a inseticidas, a técnica de bioensaio de contato tarsal não foi um método eficiente, pois não foi possível discriminar as populações apresentando razões de resistência baixas. O bioensaio de contato tarsal pode ser considerado um método mais realístico do que o bioensaio de aplicação tópica, embora no campo os insetos não fiquem continuamente em contato com o resíduo do inseticida. O efeito "knock-down" como critério de resposta para a deltametrina (Tabela

4) e insetos moribundos para o clorpirifós (Tabela 5), proporcionaram baixas intensidades de resistência. A mortalidade como critério de avaliação para o bioensaio de contato tarsal também não foi eficiente, pois todos os insetos das populações testadas morreram.

Muitos trabalhos reportados têm sugerido que o método de contato tarsal pode não detectar adequadamente a resistência em populações que apresentem falhas no controle indicando que poderiam não ser resistentes (MILIO *et al.*, 1987; SCHAL, 1988; ZHAI & ROBINSON, 1992), porque pelo método de contato tarsal,

Tabela 3 - Respostas de dose-mortalidade da linhagem suscetível (SUS) e das populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 de *B. germanica* avaliadas com 24, 48 e 72h após aplicação tópica com o inseticida fipronil. ESALQ/USP.

Linagem/ Populações	Tempo de avaliação	n ^a	DL ₅₀ ^b (IC 95%)	Coefficiente angular (± ep)	χ ²	gl ^c	RR ^d			
SUS	24 h	520	0,066 (-) ^e	5,29 (±1,12)	3,89	3	—			
	48 h		0,033 (0,0230 - 0,43)	6,03 (±0,45)				14,78	3	—
	72 h	370	0,026 (-) ^e	5,94 (±0,54)	20,05	3	—			
RJ-1	24 h	424	0,12 (0,079 - 0,18)	4,32 (±0,35)				43,29	6	1,82
	48 h		0,069 (0,053 - 0,064)	4,05 (±0,34)	21,73	6	2,09			
	72 h		0,051 (0,039 - 0,064)	4,2 (±0,39)						
RJ-2	24 h	525	0,13 (0,11 - 0,17)	3,58 (±0,26)	18,95	7	1,97			
	48 h		0,066 (0,056 - 0,078)	3,75 (±0,30)				15,24	7	2,00
	72 h		0,056 (0,044 - 0,067)	3,50 (±0,30)						
SP-1	24 h	401	0,21 (0,17 - 0,26)	2,54 (±0,22)	6,78	6	3,18			
	48 h		0,089 (0,045 - 0,16)	2,70 (±0,24)				51,72	6	2,70
	72 h		0,072 (0,029 - 0,13)	2,49 (±0,23)						

^a n = número de insetos testados

^b dose letal média (µg fipronil/mg) para cada tempo de avaliação

^c gl = graus de liberdade

^d RR = razão de resistência (DL₅₀ da população em estudo/DL₅₀ da linhagem SUS)

^e não foi possível estimar o IC

o nível de sensibilidade ao inseticida pode ser influenciado pelas diferenças no caminhar das baratas provenientes do campo. As baratas caminham na superfície tratada e elas são expostas ao inseticida que penetra através do seu tarso. Um aumento na locomoção resulta num aumento da quantidade de inseticida acumulado no tarso de cada perna (ZHAI & ROBINSON, 1992).

RUST & REIERSON (1991) concluíram que os resultados obtidos nos métodos de aplicação tópica e de contato tarsal, nem sempre possam ser diretamente

comparáveis, porque as razões de resistência obtidas através do método de aplicação tópica tendem a ser superiores as obtidas pelo método de contato tarsal, especialmente, com certos organofosforados como o clorpirifós, onde a resistência parece não atingir altos níveis. A explicação apresentada para esse fato foi devido à diferença de penetração do inseticida no corpo do inseto, especialmente, entre os métodos de aplicação tópica e de contato tarsal, pois eles podem não estar medindo o mesmo fenômeno ou estar medindo por diferentes meios.

Tabela 4 - Resultados de tempo-resposta da linhagem suscetível (SUS) e das populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 de *B. germanica* através do bioensaio de contato tarsal com resíduo de 1,70 µg deltametrina/cm² de superfície.

Linhagem/ Populações	n ^a	KD ₅₀ ^b (IC 95%)	Coefficiente angular ± (ep)	χ ²	gl ^c	RR ^d
SUS	448	5,25 (4,57- 5,96)	5,90 (±0,17)	205,90	9	—
RJ-1	439	11,62 (5,29 – 16,73)	2,94 (±0,91)	589,73	8	2,21
RJ-2	543	11,80 (5,58 – 17,03)	3,13 (±0,87)	787,34	8	2,25
SP-1	450	10,41 (8,17 – 13,05)	3,42 (±0,88)	298,91	8	1,98

^a n=número médio de indivíduos testados

^b tempo *knock-down* médio (minutos)

^c gl= graus de liberdade

^d RR= razão da resistência (KD₅₀ da população em estudo/KD₅₀ da linhagem SUS)

Tabela 5 - Resultados de tempo-resposta da linhagem suscetível (SUS) e das populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 de *B. germanica* através do bioensaio de contato tarsal com resíduo de 8,49 µg clorpirifós/cm² de superfície.

Linhagem/ Populações	n ^a	TL ₅₀ ^b (IC 95%)	Coefficiente angular ± (ep)	χ ²	gl ^c	RR ^d
SUS	727	33,56 (31,32- 36,22)	8,30 (±0,19)	60,31	5	—
RJ-1	542	45,48 (43,33 – 47,77)	9,70 (±0,27)	60,30	9	1,35
RJ-2	479	49,45 (48,58 – 50,59)	10,25 (±0,30)	12,57	7	1,47
SP-1	415	57,58 (43,81 – 78,02)	6,11 (±0,17)	941,72	10	1,70

^a n=número médio de indivíduos testados

^b tempo *knock-down* médio (minutos)

^c gl= graus de liberdade

^d RR= razão da resistência (TL₅₀ da população em estudo/TL₅₀ da linhagem SUS)

SCOTT *et al.* (1986) mostraram que uma linhagem de *B. germanica* resistente a piretróides foi resistente a cipermetrina e ciflutrina pelo método de bioensaio de aplicação tópica, porém não foi pelo método de contato tarsal. Isso pode ser explicado se a taxa de penetração do inseticida for mais lenta pelo método

de aplicação tópica do que pelo método de contato tarsal, fazendo com que o mecanismo de resistência possa controlar doses aparentemente mais altas e produzir razões de resistência maiores pelo método de aplicação tópica. A outra explicação seria possivelmente a forma de absorção do inseticida

através do método de contato tarsal, porque inseticida adicional está sendo continuamente absorvido do substrato, com isso o mecanismo de resistência poderia ser superado resultando em intensidades de resistência mais baixas (COCHRAN, 1995). Por outro lado, COCHRAN (1995) relatou que a discrepância das razões de resistência entre os métodos de bioensaio testados somente seria um problema quando as intensidades de resistência são baixas, pois se uma concentração excessivamente alta for usada no bioensaio de contato tarsal, seria equivalente a realizar testes com concentrações que matem todos os insetos (COCHRAN, 1997). A concentração do inseticida usada no método de contato tarsal é crítica porque é possível sobrepor o mecanismo de resistência com um excesso de inseticida. Portanto, as baixas razões de resistência observadas no presente estudo podem estar associadas à dose dos inseticidas avaliados.

Tabela 6 - Comparação da razão de resistência das populações RJ-1, RJ-2 e SP-1 de *B. germanica* para os inseticidas deltametrina e clorpirifós obtida através dos bioensaios de aplicação tópica e contato tarsal. ESALQ/USP.

Populações	Razão de Resistência			
	Deltametrina		Clorpirifós	
	Aplicação tópica	Contato tarsal	Aplicação tópica	Contato tarsal
RJ-1	10,32	2,21	4,98	1,35
RJ-2	14,08	2,25	6,62	1,47
SP-1	100,80	1,98	30,06	1,70

Tabela 7 - Respostas de dose-mortalidade da linhagem suscetível (SUS) e das populações de *B. germanica* coletadas em diferentes locais após aplicação tópica com o inseticida deltametrina. ESALQ/USP.

Linhagem/ Populações	n ^a	DL ₅₀ ^b (IC 95%)	Coefficiente angular ± (ep)	χ ²	gl ^c	RR ^d
SUS	740	0,25 (0,18- 0,17)	2,83 (±0,17)	12,34	4	—
PIR-1	716	2,87 (2,27 - 2,57)	1,95 (±0,14)	15,79	9	11,57
PIR-2	480	6,55 (4,14 - 9,44)	1,62 (±0,15)	7,50	5	26,41
SP-1	450	25,20 (13,21 - 62,24)	1,25 (±0,13)	27,36	6	105,00
SP-2	579	8,32 (4,17 - 13,68)	1,41 (±0,12)	15,46	5	33,55
SP-3	770	5,39 (4,00 - 7,15)	1,39 (±0,087)	10,50	7	21,73
SP-4	449	5,62 (3,97 - 7,37)	2,04 (±0,20)	10,32	6	22,48
RJ-1	880	2,58 (1,67 - 3,66)	1,62 (±0,11)	20,63	6	10,75
RJ-2	709	3,52 (2,57 - 4,57)	1,66 (±0,11)	8,70	6	14,67
RJ-3	320	7,81 (0,63 - 24,48)	0,90 (±0,14)	11,93	5	31,49

^a n = número de indivíduos testados

^b dose letal média (µg deltametrina/mg)

^c gl = graus de liberdade

^d RR = razão de resistência (DL₅₀ da população em estudo/DL₅₀ da linhagem SUS)

Tabela 8 - Respostas de dose-mortalidade da linhagem suscetível (SUS) e das populações de *B. germanica* coletadas em diferentes locais após aplicação tópica com o inseticida clorpirifós. ESALQ/USP.

Linhagem/ Populações	n ^a	DL ₅₀ ^b (IC 95%)	Coefficiente angular ± (ep)	χ ²	gl ^c	RR ^d
SUS	520	4,16 (2,80- 5,33)	4,71 (±0,46)	13,19	4	—
PIR-1	520	32,44 (29,06 - 36,48)	2,60 (±0,21)	2,48	5	7,80
PIR-2	530	42,65 (35,23 - 51,08)	3,45 (±0,24)	9,13	5	10,25
SP-1	380	125,08 (106,83 - 154,92)	4,45 (±0,45)	6,00	4	30,06
SP-2	664	28,38 (24,67 - 32,17)	2,19 (±0,18)	1,83	7	6,82
SP-3	600	41,08 (36,12 - 46,48)	3,15 (±0,21)	8,58	7	9,87
SP-4	385	108,40 (89,66 - 136,25)	3,04 (±0,33)	7,22	5	26,06
RJ-1	589	20,72 (18,99 - 22,58)	4,14 (±0,32)	5,26	6	4,98
RJ-2	707	27,54 (24,80 - 30,50)	3,29 (±0,21)	8,89	8	6,62
RJ-3	673	47,75 (39,78 - 56,76)	1,64 (±0,15)	4,43	6	11,48

^a n = número de indivíduos testados

^b dose letal média (µg deltametrina/mg)

^c gl = graus de liberdade

^d RR = razão de resistência (DL₅₀ da população em estudo/DL₅₀ da linhagem SUS)

Diferenças estatísticas significativas na suscetibilidade aos inseticidas deltametrina (Tabela 7), clorpirifós (Tabela 8) e fipronil (Tabela 9) foram encontradas em populações de campo de *B. germanica* por meio de bioensaio de aplicação tópica.

Os resultados de monitoramento da suscetibilidade a deltametrina mostraram diferenças significativas entre as populações (Tabela 7). As intensidades de resistência variaram de 10,32 (RJ-1) a 100,80 (SP-1) vezes. Os valores do coeficiente angular das regressões de concentração-resposta obtidas através da análise de Probit foram todos menores que o da linhagem suscetível, evidenciando a heterogeneidade das populações com respeito à resistência a deltametrina.

Diferenças significativas na suscetibilidade entre as populações foram também observadas para o clorpirifós (Tabela 8) e fipronil (Tabela 9). As razões de resistência para clorpirifós variaram de 4,98 (RJ-1)

a 30,06 (SP-1) vezes e para fipronil de 2,00 (RJ-2) a 6,36 (RJ-3). As intensidades de resistência de *B. germanica* a clorpirifós e fipronil foram menores do que as obtidas para deltametrina.

Pode ser observado que não houve sobreposição dos intervalos de confiança das DL₅₀ das populações testadas com a DL₅₀ da linhagem suscetível para os 3 produtos testados, evidenciando a presença de resistência de *B. germanica* a esses inseticidas, principalmente, com a população SP-1 que apresentou uma RR muito alta para o clorpirifós (30,06 vezes) e para a deltametrina (100,80 vezes). Com relação ao fipronil, apesar de ser um produto relativamente novo no mercado foi observada uma razão de resistência de 6,36 vezes na população RJ-3 (Tabela 9). Possivelmente, há problemas de resistência cruzada entre fipronil e outros inseticidas utilizados há mais tempo no controle de *B. germanica* no Brasil.

Tabela 9 - Respostas de dose-mortalidade da linhagem suscetível (SUS) e das populações de *B. germanica* coletadas em diferentes locais após aplicação tópica com o inseticida fipronil. ESALQ/USP.

Linagem/ Populações	n ^a	DL ₅₀ ^b (IC 95%)	Coefficiente angular ± (ep)	χ ²	gl ^c	RR ^d
SUS	520	0,033 (0,023 - 0,043)	6,03 (±0,45)	14,77	3	—
RJ-1	424	0,069 (0,053 - 0,091)	4,05 (±0,34)	21,73	6	2,09
RJ-2	525	0,066 (0,056 - 0,078)	3,75 (±0,30)	15,24	7	2,00
RJ-3	409	0,21 (0,13 - 0,33)	1,64 (±0,15)	15,38	6	6,36

^a n = número de indivíduos testados

^b dose letal média (µg deltametrina/mg)

^c gl = graus de liberdade

^d RR = razão de resistência (DL₅₀ da população em estudo/DL₅₀ da linhagem SUS)

Os resultados obtidos no presente estudo confirmaram a presença de variabilidade genética nas populações de *B. germanica* no Brasil que conferem resistência a deltametrina, clorpirifós e fipronil, evidenciando a necessidade de implementação de estratégias de manejo da resistência para a preservação da vida útil desses produtos na área domissanitária. A utilização de mistura dos inseticidas deltametrina e clorpirifós, como estratégia de manejo da resistência nessas populações deve ser avaliada com cautela, pois os resultados mostraram resistência em diferentes intensidades aos 2 produtos. A utilização de mistura pode selecionar os indivíduos resistentes a esses 2 inseticidas.

Se medidas de manejo da resistência de *B. germanica* a diferentes produtos não forem tomadas, o problema de controle desta praga poderá se agravar ainda mais, comprometendo novas moléculas em desenvolvimento. Trabalhos semelhantes devem ser conduzidos com outros produtos que estão sendo comercializados para o controle de *B. germanica* de modo a implementar estratégias efetivas de manejo da resistência. Sem dúvida, condições ótimas de sanitização devem ser incorporadas em um programa de manejo da resistência da barata alemã a inseticidas.

CONCLUSÕES

- O bioensaio de aplicação tópica é mais eficiente do que o bioensaio de contato tarsal para detectar a resistência em populações de *B. germanica* a deltametrina e clorpirifós.

- Há diferenças na suscetibilidade de populações de *B. germanica* testadas a deltametrina, clorpirifós e fipronil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COCHRAN, D.G. Monitoring for insecticide resistance in field-collected "strains" of the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, v.82, n.2, p.337-341, 1989.
- COCHRAN, D.G. Insecticide resistance. In: RUST, M.K.; OWENS, J.M.; REIERSON, D.A. *Understanding and controlling the German cockroach*. Cambridge: Oxford University Press, 1995. p.171-192.
- COCHRAN, D.G. Misuse of the tarsal-contact method for detecting insecticide resistance in the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, v.90, n.6, p.1441-1444, 1997.
- CORNWELL, P.B. *The cockroach: a laboratory insect and an industrial pest*. London: The Rentokil Library, 1968. v.1, 391p.
- CORNWELL, P.B. *The cockroach: insecticides and cockroach control*. London: The Rentokil Library, 1976. v.2, 557p.
- DENNEHY, T.J.; GRANETT, J.; LEIGH, T.F. Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. *J. Econ. Entomol.*, v.76, n.4, p.1225-1230, 1983.
- FRENCH-CONSTANT, R.H. & ROUSH, R.T. Resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assays. In: ROUSH, R.T.; TABASHNIK, B.E. (Ed.). *Pesticide resistance in arthropods*. New York: Chapman and Hall, 1990. p.4-38.
- HEMINGWAY, J.; DUNBAR, S.J.; MONRO, A.G.; SMALL, G.J. Pyrethroid resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae): resistance levels and underlying mechanisms. *J. Econ. Entomol.*, v.86, n.6, p.1631-1638, 1993.

- HOSKINS, W.M. & GORDON, H.T. Arthropod resistance to chemicals. *Ann. Rev. Entomol.*, v.1, p.89-122, 1956.
- KELLER, J.C.; CLARK, P.H.; LOFGREN, C.S.; WILSON, H.G. Results of USDA-s sponsored research on cockroach control. *Pest Control*, v.24, n.12,14,17,19-20, 1956.
- LEE, C.Y.; YAP, H.H.; CHONG, N.L. Insecticide resistance and synergism in field collected German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) in Peninsular Malaysia. *Bull. Entomol. Res.*, v.86, p.675-682, 1996.
- LEORA SOFTWARE. *POLO-PC*: a user's guide to probit or logit analysis. Berkely: Leora Software, 1987. 20p.
- MILIO, J.F.; KOEHLER, P.G.; PATTERSON, R.S. Evaluation of three methods for detecting Chlorpyrifos resistance in German Cockroach (Orthoptera: Blattellidae) populations. *J. Econ. Entomol.*, v.80, n.1, p.44-46, 1987.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. *Resistencia a los Insecticidas y lucha contra los vectores*: 17. informe. Ginebra: OMS, 1970. 306p. (Serie de Informes Tecnicos, 443).
- RUST, M.K. & REIERSON, D.A. Chlorpyrifos resistance in German Cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) from restaurants. *J. Econ. Entomol.*, v.84, n.3, p.736-740, 1991.
- SCHAL, C. Relation among efficacy of insecticides, resistance levels and sanitation in the control of the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, v.81, n.2, p.536-544, 1988.
- SCOTT, J.G.; RAMASWAMY, S.B.; MATSUMURA, F.; TANAKA, K. Effect of method of application on resistance to pyrethroid insecticides in *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, v.79, n.3, p.571-575, 1986.
- VALLES, M.V. Toxicological and biochemical studies with field populations of the German Cockroach, *Blattella germanica*. *Pest. Biochem. Physiol.*, v.62, p.190-200, 1998.
- VALLES, M.V. & KOEHLER, P.G. Influence of carbon Dioxide anesthesia on Chlorpyrifos toxicity in the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, v.87, n.3, p.709-713, 1994.
- VALLES, S.M. & YU, S.J. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, v.89, n.1, p.21-26, 1996.
- WADLEIGH, R.W.; KOEHLER, P.G.; PATTERSON, R.S. Comparative susceptibility of North American *Blattella* (Orthoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, v.82, n.4, p.1130-1133, 1989.
- ZHAI, J. & ROBINSON, W.H. Measuring cypermethrin resistance in the German cockroach (Orthoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, v.85, n.2, p.348-351, 1992.
- ZHAI, J. & ROBINSON, W.H. Instability of cypermethrin resistance in a field population of the German Cockroach (Orthoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, v.89, n.2, p.332-336, 1996.

Recebido em 5/2/02

Aceito em 12/7/02