

SCIENTIFIC NOTE

Caracterização da Resistência de *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae) a Deltametrina e Clorpirifós e Relações de Resistência Cruzada com Fipronil

ELOISA SALMERON E CELSO OMOTO

Depto. Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Av. Pádua Dias 11, 13418-900, Piracicaba, SP
e-mail: elosalmeron@ig.com.br

Neotropical Entomology 32(1):177-181 (2003)

Characterization of Deltamethrin and Chlorpyrifos Resistance in *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae) and Cross-Resistance Relationships to Fipronil

ABSTRACT - The objectives of this study were to characterize the resistance of *Blattella germanica* (L.) to deltamethrin and chlorpyrifos and to evaluate their cross-resistance relationships to fipronil. The isolation of resistance was done under laboratory conditions from field-collected populations. Three cycles of selection pressure with deltamethrin and chlorpyrifos were conducted to obtain the Deltamethrin-R and Chlorpyrifos-R strains. The estimated LD₅₀ for the susceptible (SUS) strain was 0.24 (IC 95% 0.18 – 0.31) and for Deltamethrin-R strain was 10.26 (IC 95% 7.28 – 14.17) µg deltametrina/mg. For chlorpyrifos, LD₅₀ for the SUS strain was 4.16 (IC 95% 2.80 – 5.33) and for Chlorpyrifos-R strain was 24.98 (IC 95% 20.90 – 30.28) µg chlorpyrifos/mg. Therefore, the resistance ratios were approximately 43- and 6-fold to deltamethrin and chlorpyrifos, respectively. A low intensity of cross-resistance (approximately 2-fold) was observed between fipronil and the insecticides deltamethrin and chlorpyrifos. Thus, fipronil can be used as a good candidate in resistance management programs of *B. germanica* to deltamethrin and chlorpyrifos.

KEY WORDS: Insecta, German cockroach, urban pest, insecticide

RESUMO - Os objetivos deste trabalho foram o de caracterizar a resistência de *Blattella germanica* (L.) aos inseticidas deltametrina e clorpirifós e avaliar as relações de resistência cruzada desses inseticidas com fipronil. O isolamento da resistência foi realizado em condições de laboratório a partir de populações coletadas no campo. Três ciclos de pressão de seleção foram realizados com deltametrina e clorpirifós para a obtenção das linhagens Deltametrina-R e Clorpirifós-R. A DL₅₀ estimada para deltametrina na linhagem suscetível (SUS) foi de 0,24 (IC 95% 0,18 – 0,31) e na linhagem Deltametrina-R de 10,26 (IC 95% 7,28 – 14,17) µg deltametrina/mg. Para clorpirifós, a DL₅₀ estimada para a linhagem SUS foi de 4,16 (IC 95% 2,80 – 5,33) e para a linhagem Clorpirifós-R foi de 24,98 (IC 95% 20,90 – 30,28) µg clorpirifós/mg. Portanto, as razões de resistência foram de aproximadamente 43 e seis vezes para deltametrina e clorpirifós, respectivamente. Uma baixa intensidade de resistência cruzada (de aproximadamente duas vezes) foi verificada entre fipronil e os inseticidas deltametrina e clorpirifós. Sendo assim, fipronil mostrou ser viável como opção de controle em programas de manejo da resistência de *B. germanica* a deltametrina e clorpirifós.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, barata alemã, praga urbana, inseticida

O controle da barata alemã, *Blattella germanica* (L.), tem sido realizado principalmente com inseticidas, e a seleção de populações resistentes aos produtos utilizados tem sido um dos grandes entraves no seu controle, principalmente a produtos do grupo dos organofosforados e piretróides (Milio *et al.* 1987, Cochran 1989, Lee *et al.* 1996).

A resistência de *B. germanica* a organofosforados foi

inicialmente documentada para diazinon em Kentucky (EUA) em 1961 (Georghiou & Lagunes-Tejeda 1991) e o primeiro caso de resistência de *B. germanica* ao clorpirifós foi detectado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 1980 no Canadá (Georghiou & Lagunes-Tejeda 1991). Posteriormente, a resistência a esse inseticida foi confirmada também em outros países, com razões de resistência variando

de 1,4 a 58 vezes (Milio *et al.* 1987, Hemingway *et al.* 1993). Porém, na grande maioria dos casos as intensidades de resistência a clorpirifós têm sido baixas e geralmente inferiores a cinco vezes (Cochran 1989).

A resistência a piretróides também tem se tornado um problema sério em *B. germanica* (Ebbett & Cochran 1997) e o primeiro caso de resistência foi documentado na antiga União Soviética em 1979 para tetrametrina (Georghiou & Lagunes-Tejeda 1991). Outros casos de resistência a piretróides foram detectados em seguida, como por exemplo para cipermetrina (Lin *et al.* 2000), lambdacialotrina (Valles 1999), deltametrina (Lin *et al.* 2000), etc. As intensidades de resistência a piretróides têm atingido valores superiores a 100 vezes (Cochran 1989).

Muitas populações de *B. germanica* têm sido selecionadas para resistência a mais de um inseticida através da resistência cruzada ou resistência múltipla (Cochran 1987), resultando assim em maior dificuldade no seu controle. A resistência cruzada é também um problema potencial que pode limitar a efetividade de alguns novos inseticidas, pois a resistência a um inseticida em *B. germanica* pode ser acompanhada por resistência cruzada a produtos ainda não lançados no mercado (Cochran 1987).

Estudos nessa área no Brasil são escassos, por isso este trabalho teve como objetivo caracterizar a resistência de *B. germanica* aos inseticidas deltametrina e clorpirifós e avaliar as relações de resistência cruzada entre fipronil, um inseticida lançado recentemente para o controle de *B. germanica*.

Nesse estudo, a linhagem suscetível (SUS) de *B. germanica* a inseticidas foi obtida da Bioagri Laboratórios Ltda., em Piracicaba. Essa linhagem era mantida em laboratório por mais de 10 anos sem nunca ter recebido qualquer tratamento com inseticida. As caracterizações de resistência a deltametrina e clorpirifós foram realizadas a partir de populações de *B. germanica* coletadas em estabelecimentos comerciais da cidade do Rio de Janeiro, RJ (populações identificadas como RJ-1 e RJ-2), onde falhas no controle com a aplicação de inseticidas haviam sido relatadas com frequência. A criação de *B. germanica* em laboratório foi realizada através de recipientes de vidro medindo 55 x 25 x 30 cm, cobertos com uma tela de *voil* e vaselina na borda superior interna contendo vários cartuchos de papelão corrugado. 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 (Cornwell 1968). A criação foi mantida em uma sala regulada à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $55 \pm 5\%$ e fotofase de 12h (Lee *et al.* 1996).

As linhas básicas de suscetibilidade de *B. germanica* aos inseticidas deltametrina e clorpirifós foram obtidas mediante a caracterização toxicológica de baratas (machos adultos) da linhagem SUS a esses inseticidas por meio de bioensaio de aplicação tópica. Foram utilizados produtos técnicos de deltametrina (98,5% de pureza, Aventis Environmental Science) e clorpirifós (97% de pureza, Dow AgroSciences Industrial Ltda.) para os testes. O bioensaio consistiu na aplicação individual de 1 μl da solução do inseticida técnico diluído em acetona na face ventral no 1º segmento abdominal (Lee *et al.* 1996, Valles & Yu 1996) por meio do uso de uma

microseringa de vidro de 1 ml acoplada a um microaplicador automático (modelo Arnold LV6 da Burkard Manufacturing Co. Ltda.). Foram testadas seis a oito concentrações que proporcionaram mortalidades entre 5% e 99% utilizando-se aproximadamente 80 indivíduos para cada concentração do inseticida. Após a aplicação do inseticida, as baratas foram colocadas em recipientes plásticos de 500 ml contendo algodão umedecido com água e alimento. Os recipientes foram mantidos em uma câmara climatizada regulada à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $55 \pm 5\%$ e fotofase de 12h (Lee *et al.* 1996). A avaliação da mortalidade foi feita 48h após a aplicação do inseticida, considerando-se como resposta, as baratas incapazes de se locomoverem normalmente e que apresentavam evidências de paralisia ou tombamento.

Para o isolamento e caracterização da resistência de *B. germanica* a deltametrina e clorpirifós, a população RJ-1 foi submetida à pressão de seleção com deltametrina e a população RJ-2 com clorpirifós. Em cada população foram feitas seleções para resistência com machos, fêmeas e ninfas por três ciclos utilizando-se a concentração de 320 μg de deltametrina/ml de acetona e 1000 μg de clorpirifós/ml de acetona por meio de bioensaio de aplicação tópica. Essas concentrações foram determinadas através de testes preliminares, baseados na CL_{99} de cada inseticida para a linhagem SUS. As baratas sobreviventes após cada seleção serviram para a formação de uma nova população. Após três ciclos de seleção com deltametrina, a população obtida a partir dos sobreviventes da última seleção da população RJ-1 foi denominada Deltametrina-R, e após a última seleção com clorpirifós a partir da população RJ-2, a população obtida foi denominada Clorpirifós-R.

Para avaliar a resposta à pressão de seleção após cada ciclo de seleção, as populações obtidas foram submetidas aos bioensaios de aplicação tópica para estimativa da CL_{50} pela análise de Probit (LeOra Software 1987). Em seguida os dados foram transformados em DL_{50} dividindo-se a CL_{50} pelo peso médio dos machos (mg) da linhagem correspondente. Posteriormente, foram estimadas a resposta à pressão de seleção (quociente da DL_{50} da população selecionada pela DL_{50} da população original – anterior à seleção) e a razão de resistência (quociente da DL_{50} população em estudo pela DL_{50} linhagem SUS).

Para estabelecer as relações de resistência cruzada entre fipronil e os inseticidas deltametrina e clorpirifós, as linhagens SUS, Deltametrina-R e Clorpirifós-R foram testadas com fipronil. As caracterizações toxicológicas dessas populações para o fipronil foram realizadas por meio de bioensaio de aplicação tópica com o produto técnico (89% de pureza, Aventis Environmental Science). Os dados de mortalidade de cada linhagem com fipronil foram submetidos à análise de Probit pelo programa estatístico POLO-PC (LeOra Software 1987) para estimar a DL_{50} . A presença ou não de resistência cruzada foi avaliada pelo teste de igualdade de respostas ao fipronil entre a linhagem SUS e as duas linhagens resistentes (Deltametrina-R e Clorpirifós-R) (LeOra Software 1987) e pela avaliação da sobreposição ou não do intervalo de confiança (IC) das DL_{50} estimadas para as linhagens resistentes em estudo e a da

linhagem suscetível. A sobreposição do IC foi interpretada como ausência de resistência cruzada. O nível de significância dos testes foi de $\alpha = 0,05$.

A população RJ-1 respondeu significativamente à pressão de seleção com deltametrina (Tabela 1). A estimativa da DL_{50} da população RJ-1 (antes da seleção) e da linhagem Deltametrina-R (após três ciclos de seleção) indicaram decréscimo de aproximadamente quatro vezes na suscetibilidade. A razão de resistência de *B. germanica* a deltametrina foi de aproximadamente 43 vezes. O coeficiente angular da curva de regressão, obtida a partir da análise de Probit a cada ciclo de seleção, aumentou significativamente, evidenciando o aumento da homogeneidade da população por meio da eliminação de indivíduos suscetíveis da população RJ-1.

Tabela 1. Respostas à pressão de seleção da população RJ-1 de *B. germanica* ao inseticida deltametrina.

Linhagem/ população	n ¹	DL ₅₀ ² (IC 95%)	Coefficiente angular (± dp)	χ^2	gl ³	RR ⁴
SUS	740	0,24 (0,18-0,31)	2,83 (± 0,17)	12,34	4	-
RJ-1	880	2,58 (1,67-3,66)	1,62 (± 0,11)	20,63	6	10,75
RJ-1 I ⁵	957	6,42 (4,79-5,22)	1,74 (± 0,11)	18,55	7	26,75
RJ-1 II ⁶	1080	8,72 (5,55-12,48)	1,75 (± 0,10)	66,21	10	36,33
Deltametrina-R ⁷	570	10,26 (7,28-14,17)	2,35 (± 0,19)	25,14	7	42,75

¹n = número de insetos testados

²Dose letal média – µg deltametrina/mg do inseto

³gl = graus de liberdade

⁴RR = razão de resistência (DL₅₀ da população em estudo/DL₅₀ da linhagem suscetível-SUS)

⁵Após um ciclo de seleção

⁶Após dois ciclos de seleção

⁷Após três ciclos de seleção

A rápida resposta de seleção a deltametrina encontrado no presente estudo reflete o intenso uso desse produto no controle de *B. germanica* no Brasil. Possivelmente, os resultados obtidos podem ser explicados também por inseticidas utilizados anteriormente, como o DDT que apresenta o mesmo mecanismo de ação dos piretróides. Vários estudos têm comprovado a presença de resistência cruzada entre piretróides e DDT através do mecanismo de resistência do tipo *kdr* (insensibilidade do sítio de ação) (Siegfried & Scott 1992).

A população RJ-2 não respondeu à pressão de seleção com clorpirifós (Tabela 2) na concentração testada em laboratório. No entanto, a população obtida após três ciclos de seleção com clorpirifós foi denominada linhagem Clorpirifós-R. A razão de resistência a clorpirifós foi de aproximadamente seis vezes. A ausência de resposta da população RJ-2 à pressão de seleção com clorpirifós pode estar relacionada ao método utilizado (dose e aplicação) no presente estudo. Sem dúvida, outros métodos de contato da

Tabela 2. Respostas à pressão de seleção da população RJ-2 de *B. germanica* ao inseticida clorpirifós.

Linhagem/ População	n ¹	DL ₅₀ ² (IC 95%)	Coefficiente angular (± dp)	χ^2	gl ³	RR ⁴
SUS	520	4,16 (2,80-5,33)	4,71 (± 0,46)	13,19	4	-
RJ-2	707	27,54 (24,80-30,50)	3,29 (± 0,21)	8,89	8	6,62
RJ-2 I ⁵	619	27,43 (25,17-29,98)	3,21 (± 0,23)	3,07	6	6,59
RJ-2 II ⁶	690	24,72 (21,82-27,74)	3,25 (± 0,22)	8,80	7	5,94
Clorpirifós-R ⁷	574	24,98 (20,90-30,28)	3,28 (± 0,29)	9,80	5	6,00

¹n = número de insetos testados

²Dose letal média – µg clorpirifós/mg do inseto

³gl = graus de liberdade

⁴RR = razão de resistência (DL₅₀ da população em estudo/DL₅₀ da linhagem suscetível-SUS)

⁵Após um ciclo de seleção

⁶Após dois ciclos de seleção

⁷Após três ciclos de seleção

barata com o produto (por exemplo contato residual) deverão ser testados futuramente para possibilitar uma melhor discriminação da resistência.

Um aspecto importante da resistência de *B. germanica* a organofosforados é que níveis de resistência extremamente altos não têm sido observados e a baixa intensidade de resistência a clorpirifós pode ser devida aos mecanismos de resistência envolvidos (Cochran 1995). A resistência ao clorpirifós parece ser controlada de maneira mais complexa, com dois ou mais genes envolvidos (Cochran 1989 e Milio *et al.* 1987). Segundo Roush & McKenzie (1987), estudos de seleção em laboratório tendem a selecionar para resistência com herança poligênica devido à incorporação de genes secundários que não se manifestariam no campo. Sendo assim, a evolução da resistência poligênica seria observada de modo mais lento, o que poderia explicar parcialmente os resultados obtidos no presente estudo.

Baixa intensidade de resistência cruzada (de aproximadamente duas vezes) foi observada entre fipronil e o inseticida deltametrina, baseado nas respostas das linhagens SUS e Deltametrina-R a fipronil (Tabela 3). Segundo Scott & Wen (1997), a resistência cruzada pode se tornar um problema sério somente para casos em que os valores da razão de resistência são superiores a 4,0. Os valores dos coeficientes angulares para as linhagens resistentes (Deltametrina-R e Clorpirifós-R) foram significativamente inferiores ao da linhagem SUS, o que evidencia certa heterogeneidade das linhagens resistentes com relação à suscetibilidade a fipronil. Provavelmente algum mecanismo de resistência presente na linhagem Deltametrina-R também confere resistência a fipronil. Para clarificar os resultados, seria necessário conduzir os trabalhos com linhagens isogênicas e realizar estudos de pressão de seleção dessas linhagens com fipronil. Uma possibilidade de resistência cruzada entre os inseticidas deltametrina e fipronil poderia ser devido ao mecanismo

Tabela 3. Respostas de dose-mortalidade das linhagens suscetível (SUS), Deltametrina-R e Clorpirifós-R de *B. germanica* quando testadas com o inseticida fipronil.

Linhagem	n ¹	DL ₅₀ ² (IC 95%)	Coefficiente angular (± ep)	χ ²	gl ³	RR ⁴
SUS	520	0,033 (0,023 - 0,043)	6,03 (± 0,45)	14,77	3	-
Deltametrina-R	610	0,068 (0,043 - 0,12)	3,12 (± 0,25)	76,64	7	2,06
Clorpirifós-R	515	0,067 (0,061 - 0,075)	4,41 (± 0,35)	10,85	7	2,03

¹n = número de insetos testados

²Dose letal média (µg fipronil/mg)

³gl = graus de liberdade

⁴RR = razão de resistência (DL₅₀ população em estudo/DL₅₀ linhagem SUS)

secundário de ação da deltametrina por meio da ação tóxica exercida pela interação com os canais de cloro mediados pelo sistema GABA (ácido gama-aminobutírico), que é o principal sítio de ação para fipronil (Valles *et al.* 1997). Estudos realizados por Scott & Wen (1997) mostraram que uma população de *Musca domestica* L. resistente a deltametrina (razão de resistência superior a 2000 vezes) apresentou resistência cruzada de 15 vezes com o inseticida fipronil.

O inseticida fipronil mostrou ser viável como opção de controle dentro de um programa de manejo da resistência de *B. germanica* aos inseticidas deltametrina e clorpirifós. Com a confirmação da resistência de *B. germanica* a deltametrina e clorpirifós nas nossas condições, fica evidente a necessidade de implementação de estratégias de manejo da resistência de *B. germanica* a inseticidas para preservar a vida útil dos produtos utilizados na área domissanitária. Embora fipronil seja um inseticida relativamente novo no mercado, os resultados obtidos sugerem que o uso irracional desse produto (assim como de outros) pode inviabilizar o controle de *B. germanica* devido à resistência.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da pesquisa (Processo 1999/0687-7) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo (Processo 142502/98-7) para E. Salmeron no curso de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ/USP.

Literatura Citada

- Cochran, D.G. 1987.** Selection of pyrethroid resistance in the German cockroach *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 1117-1121.
- Cochran, D.G. 1989.** Monitoring for insecticide resistance in field-collected "strains" of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* 82: 337-341.
- Cochran, D.G. 1995.** Insecticide resistance, p.171-192. In M.K. Rust, J.M. Owens & D.A. Reiersen (eds.), *Understanding and controlling the German cockroach*. Cambridge, Oxford University Press, 430p.
- Cornwell, P.B. 1968.** The cockroach: a laboratory insect and an industrial pest. London, The Rentokil Library, v.1, 391p.
- Ebbett, R. & D.G. Cochran. 1997.** Inheritance of resistance to pyrethroids in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 1458-1461.
- Georghiou, G.P. & A. Lagunes-Tejeda. 1991.** The occurrence of resistance to pesticides in Arthropods. Rome, FAO, 318 p.
- Hemingway, J., G.J. Small & A.G. Monro. 1993.** Possible mechanisms of organophosphorus and carbamate insecticide resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) from different geographical areas. *J. Econ. Entomol.* 86: 1623-1630.
- Lee, C.Y., H.H. Yap & N.L. Chong. 1996.** Insecticide resistance and synergism in field collected German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) in Peninsular Malaysia. *Bull. Entomol. Res.* 86: 675-682.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit Logit analysis. Leora Software, Berkely, CA.
- Lin, L.F., W.C. Lu & S.W. Cai. 2000.** Monitoring for insecticide resistance in field-collected strains of the German cockroach in Guangdong. *Chinese J. Vector Biol. Control.* 11: 32-34.
- Milio, J.F., P.G. Koehler & R.S. Patterson. 1987.** Evaluation of three methods for detecting chlorpyrifos resistance in German cockroach (Orthoptera: Blattellidae) populations. *J. Econ. Entomol.* 80: 44-46.
- Roush, R.T. & J.A. McKenzie. 1987.** Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Ann. Rev. Entomol.* 32: 361-380.
- Rust, M.K. & D.A. Reiersen. 1991.** Chlorpyrifos resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) from restaurants. *J. Econ. Entomol.* 84: 736-740.
- Schal, C. 1988.** Relation among efficacy of insecticides, resistance levels and sanitation in the control of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* 81: 536-544.
- Scott, J.G., D.G. Cochran & B.D. Siegfried. 1990.** Insecticide toxicity, synergism, and resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* 83: 1698-1703.

- Scott, J.G. & Z. Wen. 1997.** Toxicity of fipronil to susceptible and resistant strains of german cockroach (*Blattella germanica*) and house fly (*Musca domestica*). J. Econ. Entomol. 90: 1152-1156.
- Siegfried, B.D. & J.G. Scott. 1992.** Insecticide resistance mechanisms in the German cockroach, *Blattella germanica* (L.), p. 219-230. In C.A. Mullin & J.G. Scott, Molecular mechanisms of insecticide resistance: diversity among insects. New York, American Chemical Society, (ACS. Symposium Series, 505).
- Valles, M.V. 1999.** λ -Cyhalothrin resistance detection in the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). J. Econ. Entomol. 92: 293-297.
- Valles, S.M., P.G. Koehler & R.J. Brenner. 1997.** Antagonism of fipronil toxicity by piperonyl butoxide and S,S,S-tributyl phosphorotrithioate in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). J. Econ. Entomol. 90: 1254-1258.
- Valles, S.M. & S.J. Yu. 1996.** Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). J. Econ. Entomol. 89: 21-26.

Received 22/01/02. Accepted 11/10/02.
