


Conteúdo adaptado por Helvio Campoy e Oderlei Bernardi com base nos dados disponibilizados pelo IRAC Internacional (www.irac-online.org) - maio/2020

Detalhes:

Metodologia:	030	 <p><i>Euschistus heros</i> Foto: J.J. Silva</p>
Situação:	Aprovado	
Espécie:	Percevejos – Vial test (Hemiptera: Pentatomidae) Validado para: <i>Euschistus heros</i>	
Estágio de desenvolvimento:	Adultos	
Grupos químicos indicados:	Carbamatos (IRAC MoA 1A) Organofosforados (IRAC MoA 1B) Piretróides (IRAC MoA 3A) Neonicotinóides (IRAC MoA 4A)	

Objetivos:

Linha básica de suscetibilidade: Monitoramento da resistência:

Descrição:

Materiais:

Recipientes arejados para coleta dos insetos (garrafas Pet ou “tupperware” contendo furos possibilitando a passagem do ar), pinça ou pincel para transferência dos insetos, béqueres de vidro para preparar para o preparo das concentrações, frascos de vidro (volume aproximado 100–150 ml) com tampas, rolator de frascos (ou “hotdog roller”), acetona, pipeta para dosagem dos ingredientes ativos líquidos ou balança analítica para pesagem de produtos sólidos, gaiolas ventiladas para manutenção dos insetos e termômetro.

Metodologia:

- a) Coletar os percevejos adultos em vários locais, de maneira aleatória na área infestada. Manter os insetos em recipientes arejados. Certifique-se que os insetos não fiquem excessivamente expostos a situações de estresses após a coleta, como variações abruptas de temperatura, falta ou excesso de umidade e falta de alimentação. Transportar os insetos para o laboratório assim que possível.

Observação: Utilize uma ficha para reportar os detalhes das amostragens e outras informações que podem ser úteis para a rastreabilidade das amostras e posterior interpretação dos resultados de suscetibilidade.

- b) Após a chegada no laboratório, mantenha os insetos em gaiolas contendo dieta apropriada, com feijão-vagem (*P. vulgaris*) e uma mistura de sementes de soja, amendoim e girassol (Figura 1). Manter os insetos no laboratório de um dia para o outro, antes da instalação dos bioensaios.

- c) Os recipientes utilizados nos bioensaios, são frascos de vidro contendo a área da superfície interna de 100–150 cm².

A área da superfície interna dos frascos de vidro é determinada por:

Área da superfície = Área do fundo do frasco + Área da lateral

Área da superfície = $\pi r^2 + (2 \pi r) * h$

Sendo: h a altura do frasco e r o raio da circunferência do fundo do frasco.

- d) Preparar as diluições dos produtos técnicos em acetona. Aplicar um volume de 500–1500 µl da concentração a ser testada nos frascos de vidro para cobrir uniformemente toda a área interna do frasco (a solução deve cobrir a base do frasco, e também a área superior “pescoço do frasco”, onde a tampa é colocada). Colocar os frascos abertos no rolator de frascos para rolares em temperatura ambiente até a acetona evaporar completamente (certifique-se que todo vapor de acetona tenha sido eliminado) (Figura 2).

Utilizar no mínimo três repetições por concentração, bem como no tratamento controle. Utilizar apenas acetona no tratamento controle.

- e) **Dose-resposta:** Preparar as diluições em acetona apropriadamente. Selecionar uma série de concentrações que proporcione uma faixa de mortalidade de modo que fique claro o efeito de dose resposta do(s) inseticida(s) avaliado(s). No mínimo 3 concentrações devem proporcionar uma faixa de mortalidade entre 30% e 95%, com o objetivo de construir uma curva precisa de dose resposta.

Concentração diagnóstica: concentrações diagnósticas podem fornecer informações da suscetibilidade dos insetos em campo. Antes de determinar as concentrações diagnósticas, é importante determinar as variações naturais na suscetibilidade do inseto ao inseticida (linha básica de suscetibilidade). Recomenda-se testar de 10 a 20 populações do inseto alvo, coletadas de várias localidades, realizando bioensaios de dose-resposta.

As concentrações diagnósticas são frequentemente selecionadas como um valor fixo de suscetibilidade, como a concentração do inseticida que ocasiona mortalidade de 90%, 95% ou 99% e multiplicações desse valor, como 10x a dose que confere 90% de mortalidade. É importante observar que a sobrevivência nessa dose não indica necessariamente resistência e a variação natural na suscetibilidade também deve ser considerada.

Como alternativa, uma dose considerada equivalente à dose de campo recomendada e múltiplos dessa dose são algumas vezes usados como doses diagnósticas (por exemplo, 20%, 100% e 200% da dose aplicada a campo). Doses de campo (g ingrediente ativo/ha), pode ser convertida em µg/cm² simplesmente multiplicando por 0,01, mas os pesquisadores devem considerar que a exposição a um inseticida, produto técnico, em uma superfície de vidro não representa necessariamente o mesmo nível de exposição a inseticidas que um inseto pode estar exposto sob a cultura tratada com um produto comercial do mesmo inseticida.

NOTA: Concentrações de campo provavelmente serão diferentes para cada ingrediente ativo que está sendo testado. Ao preparar as concentrações, consulte a concentração rotulada para o ingrediente ativo que está sendo testado. Concentrações adicionais são necessárias se o objetivo for a obtenção de dados precisos de suscetibilidade, para a estimativa de uma curva de dose-resposta completa (valores de CL₅₀).

- f) Coloque pelo menos 5 percevejos adultos por frasco, tampe deixando folga para entrada de ar e mantenha a 20 ± 5°C (Figura 3). Evitar a exposição a umidade excessiva, uma fonte de luz irregular ou luz solar direta. A colocação de um grande número de insetos no frasco de vidro pode levar ao efeito de "pegar carona", quando um inseto se posiciona sobre o outro, evitando seu contato com o

inseticida depositado no frasco, provocando variabilidade no sistema de teste. Evite isso, não colocando muitos insetos por frasco.

- g) As ninfas de percevejos também podem ser testadas usando o mesmo método de bioensaio, no entanto, observe que a suscetibilidade dos diferentes estágios de desenvolvimento pode ser diferente e, portanto, uma concentração diagnóstica desenvolvida para um estágio de desenvolvimento pode não ser apropriada para outros estágios de desenvolvimento.
- g) O número de percevejos afetados (mortos e moribundos) deve ser avaliado após um período de 24 horas para piretroides e neonicotinoides. Um período de 48 horas é recomendado para a avaliação de organofosforados e carbamatos. A avaliação pode ser feita visualmente através do frasco, ou retirando os insetos do frasco de vidro, despejando os mesmos no centro de um pedaço de papel, com um círculo de 15 cm de diâmetro, previamente desenhado. A avaliação deve ser feita sob luz forte para estimular o movimento dos percevejos para fora do círculo, e os percevejos que não conseguirem sair do círculo antes de um minuto, devem ser considerados gravemente afetados.
- h) Expresse os resultados como porcentagem de percevejos afetados (mortos + morimundos). Se mais de 20% do tratamento controle for severamente afetado, o estudo deverá ser considerado inválido.

É esperado um grau de variabilidade natural em resultados biológicos. Esse nível esperado de variabilidade natural será indicado na pesquisa da linha básica de suscetibilidade. Se os dados de suscetibilidade da linha básica não estiverem disponíveis, as populações de insetos com suspeita de resistência devem ser comparadas com uma população de insetos coletada a campo que teve uma exposição mínima a inseticidas (suscetível de campo) ou menos preferencialmente a uma população suscetível de laboratório.

Precauções e Observações:

- a) Quando equipamentos de vidro forem utilizados, estes devem ser limpos adequadamente com solvente orgânico apropriado antes de serem reutilizados, para prevenir contaminação cruzada.
- b) Lotes diferentes de produtos técnicos de inseticidas podem variar sua concentração de ingrediente ativo (normalmente entre 85–99% i.a.). É recomendado utilizar a maior pureza de i.a. possível. A pureza precisa ser levada em consideração nos cálculos para o preparo das concentrações.
- c) A utilização de produtos formulados deve ser evitada devido às reações químicas ao ser diluído em acetona serem desconhecidas em diferentes tipos de formulações, dificultando a comparação dos dados obtidos entre diferentes regiões e anos.



Figura 1. Percevejos mantidos em feijão-vagem e sementes no laboratório (Fotos: Ourofino Agrociência).



Figura 2. Frascos de vidro dispostos sobre o equipamento rolar de frascos para secagem da acetona (Fotos: Ourofino Agrociência).



Figura 3. Frasco de vidro contendo 5 percevejos (Foto: Promip Holding).

Modelo de ficha de coleta:

Detalhes da amostragem	
Problema de suscetibilidade observado:	
Data de coleta dos insetos:	
Endereço:	
Nome do coletor	
Rua	
CEP	
Município	
Estado	
Posição geográfica (GPS), se disponível:	
Cultura:	
Número médio de aplicações de inseticida na região:	
Aplicações recentes de inseticidas na área de coleta:	
Produto	
Data da aplicação	
Número de aplicações	