

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**Morfologia do intestino médio e corpo gorduroso larval de *Grumichella boraceiae* (Trichoptera: Leptoceridae) e danos causados pelo inseticida deltametrina**

Álvaro Domingues Ataíde  
*Magister Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025**

**ÁLVARO DOMINGUES ATAIDE**

**Morfologia do intestino médio e corpo gorduroso larval de *Grumichella boraceiae* (Trichoptera: Leptoceridae) e danos causados pelo inseticida deltametrina**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Jose Eduardo Serrao

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A862m  
2025 Ataide, Álvaro Domingues, 1997-  
Morfologia do intestino médio e corpo gorduroso larval de  
*Grumichella boraceiae* (Trichoptera: Leptoceridae) e danos  
causados pelo inseticida deltametrina / Álvaro Domingues  
Ataide. – Viçosa, MG, 2025.

1 dissertação eletrônica (39 f.): il. (algumas color.).

Orientador: José Eduardo Serrão.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Entomologia, 2025.

Referências bibliográficas: f. 30-39.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.236>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Deltametrina (Inseticida). 2. Toxicologia - Modelos  
animais. 3. Insetos nocivos - Controle. I. Serrão, José Eduardo,  
1965-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Entomologia. Programa de Pós-Graduação em Entomologia.  
III. Título.

CDD 22. ed. 638.159

**ÁLVARO DOMINGUES ATAIDE**

**Morfologia do intestino médio e corpo gorduroso larval de *Grumichella boraceiae* (Trichoptera: Leptoceridae) e danos causados pelo inseticida deltametrina**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 20 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

---

Álvaro Domingues Ataide  
Autor

---

Jose Eduardo Serrao  
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 06/05/2025 às 14:36:05 e pelo orientador em 06/05/2025 às 14:39:31. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **UI6U.UJAD.MBZ1** e clique no botão 'Validar documento'.

## AGRADECIMENTOS

Tantos agradecimentos a distribuir que me fizeram pensar em como sou afortunado por ter aqueles que me acompanharam nesse caminho. Todos me ajudaram a crescer e amadurecer, permitindo que eu galgasse meu futuro com mais confiança e certeza do que quero.

Começo pelos meus pais, a base de tudo o que sou. Mesmo quando não penso neles, eles estão em mim: no meu jeito, nas minhas atitudes e nos meus sentimentos. Papai, obrigado por me ensinar a ser justo, íntegro e um homem melhor. Você sempre foi e é meu modelo. Sei que sou uma pessoa melhor porque tive você em minha vida, meu primeiro e melhor amigo. Mamãe, sei que nem sempre concordamos, mas tenho muito orgulho de tê-la como mãe. Admiro profundamente a mulher que você é, principalmente pelo modo como cativa a todos que conhece com sua pura sinceridade, sem medo de ser integralmente você. Laura, ou melhor, hermana, você me entende mais do que todos que conheço. Nossa irmandade é única porque é muito fácil e bom ser seu irmão. Nos piores ou melhores momentos, sei que posso sempre contar com você. Helena, com sua gentileza e espontaneidade, você conquista a todos e tudo. Espero ser o padrinho que você merece e agradeço sempre pelo seu amor. Alex, o homem da minha vida, futuro marido e, espero, eterno companheiro. Te achei sem procurar e descobri que sempre precisei de você. Com você ao meu lado, sinto que posso tudo. Você é a coragem que me faltava e o amor que eu não sabia que poderia ter. Agora, finalmente, vamos construir nossa casa juntos, mas é você quem é o meu lar. Agradeço as amigadas que construí nesse período todos vocês me ensinaram muito e pude ser mais feliz ao caminhar junto de vocês. Mas agradeço especialmente a Laryssa e Giovanna, que nesse período foram imprescindíveis para mim. Laryssa foi a única conhecida quando entrei nesse mundo novo e se tornou o meu porto seguro de todos os momentos a amizade mais sincera e que espero levar pra vida inteira. Giovanna, seu jeito de gato preto me impressionou no primeiro momento, mas assim que tive a oportunidade de conhecer mais vi que é a amiga mais leal e atenciosa que poderia pedir. Aos amigos que fiz no laboratório de Ultraestrutura e principalmente ao meu orientador Serrão, pela paciência e calma em todos os momentos sendo a melhor escolha de orientador que poderia ter.

Por fim agradeço a toda estrutura, a Universidade Federal de Viçosa pelo apoio, aos professores do departamento de Entomologia que de alguma forma contribuíram com a minha formação docente. Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras:

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## RESUMO

ATAIDE, Álvaro Domingues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Morfologia do intestino médio e corpo gorduroso larval de *Grumichella boraceiae* (Trichoptera: Leptoceridae) e danos causados pelo inseticida deltametrina.** Orientador: Jose Eduardo Serrao.

O controle de pragas, especialmente insetos, é fundamental na agricultura para evitar perdas e garantir produtividade, mas o uso excessivo de inseticidas pode afetar os ecossistemas aquáticos. A deltametrina, um inseticida piretróide amplamente utilizado na agricultura, age nos canais de sódio-potássio das células nervosas, comprometendo também o intestino médio e o corpo gorduroso de insetos não-alvo, estruturas essenciais para digestão, detoxificação e armazenamento de energia. Larvas de Trichoptera são sensíveis a alguns pesticidas no ambiente aquático, sendo bons bioindicadores ambientais. Este estudo teve como objetivo descrever os efeitos histopatológicos de concentração subletal de deltametrina no corpo gorduroso e intestino médio de larvas do Trichoptera *Grumichella boraceia*. As larvas foram coletadas e mantidas em laboratório onde a toxicidade da deltametrina estimada para concentração letal 50% (CL50) foi 0,0037 µg L<sup>-1</sup> após 24 horas, inferior à concentração residual encontrada em ambientes aquáticos. No controle, as larvas apresentam o intestino médio com epitélio formado por células digestivas colunares com borda estriada apical evidente e núcleo oval mediano com cromatina descondensada, algumas células caliciformes com cavidade central desenvolvida apresentando borda estriada e núcleo basal. Também ocorreram ninhos de células regenerativas na base do epitélio e externamente músculos circulares e longitudinais. O corpo gorduroso bem desenvolvido com trofócitos apresentando núcleo irregular com cromatina descondensada e citoplasma basófilo rico em gotas lipídicas. Enquanto o corpo gorduroso das larvas expostas à CL50 de deltametrina não apresentou danos histopatológicos, o intestino médio apresentou desorganização epitelial, protrusões celulares apicais, vacuolização citoplasmática, abundância de esferocristais e secreção apócrina. Esta é a primeira descrição histológica do intestino médio e corpo gorduroso de larva do gênero *Grumichella* sendo ela semelhante àquela reportada para lagartas do grupo-irmão Lepidoptera. Os resultados revelam que a deltametrina é tóxica para larvas de *G. boraceiae*, comprometendo sua fisiologia e sobrevivência mesmo em concentrações inferiores àsquelas residuais de campo.

Palavras-chave: Morfologia, ecotoxicologia, deltametrina

## ABSTRACT

ATAIDE, Álvaro Domingues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025.  
**Morphology of the larval midgut and fat body of *Grumichella boraceiae* (Trichoptera: Leptoceridae) and damage caused by the insecticide deltamethrin.**  
Adviser: Jose Eduardo Serrao.

Pest control, especially of insects, is crucial in agriculture to prevent losses and improve productivity. However, the excessive use of insecticides may affect aquatic ecosystems. Deltamethrin, a widely used pyrethroid insecticide in agriculture, acts on the sodium-potassium channels of nerve cells and compromises the midgut and fat body of non-target insects, organs essential for digestion, detoxification, and energy storage. Trichoptera larvae are sensitive to some pesticides in aquatic environments, making them good environmental bioindicators. This study describes the histopathological effects of a sublethal concentration of deltamethrin on the larval fat body and midgut of the *Grumichella boraceia* (Trichoptera). The larvae were collected and maintained in a laboratory, where the toxicity of deltamethrin was estimated at a 50% lethal concentration (LC50) of 0.0037  $\mu\text{g L}^{-1}$  after 24 hours, which is lower than the residual concentration found in aquatic ecosystems. The larval midgut epithelium has columnar digestive cells with apical brush border and median ovoid nucleus with decondensed chromatin, some goblet cells with a central cavity presenting brush border and a basal nucleus with decondensed chromatin. In addition, some nests of regenerative cells occur in the basement of the epithelium and externally circular and longitudinal muscles. The fat body is well-developed with trophocytes presenting irregular nucleus rich in decondensed chromatin and basophilic cytoplasm with lipid droplets. While the fat body of larvae exposed to the LC50 of deltamethrin showed no histopathological damage, the midgut exhibited epithelial disorganization, apical cell protrusions, cytoplasm vacuolization with abundance of spherocrystals, and apocrine secretion. That is the first histological description of the larval fat body and midgut in the genus *Grumichella*, which was found to be similar to that of caterpillars of the sister-group Lepidoptera. The results reveal that deltamethrin is toxic to *G. boraceia* larvae, impairing their physiology and survival even at concentrations lower than residual field levels.

Keywords: Morphology, ecotoxicology, deltamethrin

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2. Objetivo Geral .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Objetivo específico.....</b>	<b>12</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Coleta de Insetos .....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 Criação em Laboratório.....</b>	<b>13</b>
<b>3.3 Teste de Concentração de Mortalidade .....</b>	<b>13</b>
<b>3.4 Teste Subletal.....</b>	<b>14</b>
<b>3.5 Microscopia de Luz .....</b>	<b>14</b>
<b>3.6 Histoquímica.....</b>	<b>15</b>
<b>3.7. Estatística .....</b>	<b>15</b>
<b>4 Resultados .....</b>	<b>16</b>
<b>4.1 Bioensaio de concentração mortalidade.....</b>	<b>16</b>
<b>4.2 Intestino Médio.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3. Corpo Gorduroso .....</b>	<b>20</b>
<b>5. Discussão .....</b>	<b>24</b>
<b>6. Conclusão .....</b>	<b>24</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>30</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Na agricultura, o controle de pragas como plantas daninhas, fungos, bactérias e insetos é fundamental para garantir uma produção economicamente viável. Entre essas pragas, os insetos são os que mais causam danos, pois além de se alimentarem dos produtos agrícolas, também atuam como vetores de doenças. Portanto, os inseticidas são essenciais na agricultura moderna, sendo uma das principais formas de controlar a população de insetos-praga. Entretanto, o uso intensivo e inadequado destes químicos e a falta de mata ciliar são fatores que potencializam a contaminação de ecossistemas aquáticos (Dellamatrice e Monteiro, 2014).

Dentre os inseticidas, os piretróides atuam nos canais de sódio-potássio nas células nervosas dos insetos, interrompendo a transmissão do sinal elétrico causando a morte (Soderlund, 2012). Além disso, esses piretróides, como a deltametrina, tem efeito inibitório na enzima glutathione S-transferase que atua na detoxificação e, portanto, é um indicador da toxicidade desse composto (Ribeiro et al., 2022). A deltametrina tem sido encontrada em concentrações residuais em solo, plantas e em corpos d'água (Hunt et al., 2016, Zhou et al., 2014, Reiber et al., 2021, Dellamatrice e Monteiro, 2014).

A contaminação dos ecossistemas aquáticos por inseticidas pode mudar abruptamente as características físico-químicas da água, além de adicionar compostos exógenos ao ambiente, o que pode afetar negativamente a fauna aquática, como os insetos aquáticos (Reiber et al., 2021). Os efeitos causados variam de acordo com a forma de entrada do inseticida no ambiente aquático, além da fisiologia, morfologia e tempo de processamento desse tóxico pelos insetos, que se mostram sensíveis a alguns inseticidas (Antwi e Reddy, 2015).

Insetos não-alvos na agricultura são comumente afetados pela aplicação de inseticidas, embora desempenhem papéis importantes como polinizadores, predadores,

parasitoides e coprófagos (Serrão et al., 2022). Larvas de *Chironomus columbiensis* Wülker et al., 1989 (Diptera: Chironomidae) expostas a concentrações subletais de deltametrina apresentaram redução na taxa de reprodução e alterações na morfologia das asas na fase adulta (Montaño-Campaz et al., 2022). Inimigos naturais de pragas, representantes de Chrysopidae (Neuroptera), Coccinellidae (Coleoptera) e Miridae (Hemiptera), tiveram redução de abundância em plantações de pêssegos após a aplicação de piretróides (Hafsi et al., 2016). A exposição a inseticidas também afeta o comportamento das larvas de insetos aquáticos não-alvo como de *Hydropsyche slossonae* Banks, 1905 (Trichoptera: Leptoceridae:), tornando suas redes de captura de alimentos não funcionais (Tessier et al., 2000).

Os Trichoptera são insetos aquáticos, grupo irmão de Lepidoptera cujas lagartas são pragas comuns na agricultura, com larvas que constroem abrigos, redes de captura ou podem ser de vida livre (Flint et al., 1999; Pes et al., 2005). Essas larvas são comuns em lagos e rios, com funções ecológicas variadas, com hábitos predador, detritívoros ou raspador (Pimentel et al., 2020; Cobo, 2005). As fases larvais desempenham um papel fundamental nas teias alimentares de água doce e como bioindicadores de ambientes limpos (Ruiz-Garcia et al., 2022).

Dentre os Trichoptera, Leptoceridae apresentam larvas construtoras de abrigos móveis feitos de seda e detritos (Tasker e Bilton, 2023). Esta família é globalmente distribuída, com 46 gêneros e 1567 espécies (Holzenthal e Oliveira-Pes, 2004; Morse, 2022). O gênero *Grumichella* Mueller, 1879 pertencente à Leptoceridae foi descrito em 1879 por Mueller. No entanto, muitas de suas espécies ainda estão sendo descritas atualmente, visto que apenas recentemente mais pesquisas estão sendo desenvolvidas sobre esse gênero, mas, ainda há uma lacuna de conhecimento sobre sua biodiversidade e biologia (Calor et al., 2024; Calor et al., 2016). A espécie *Grumichella boraceia* Calor

& Hozenthal, 2016 é um exemplo dessas pesquisas recentes, apenas em 2024 foi realizado um estudo sobre sua morfologia interna, com a descrição do aparelho reprodutor (Costa et al., 2024). Entretanto, ainda não existem estudos sobre outros órgãos essenciais, como o intestino médio ou o corpo gorduroso.

O intestino médio dos insetos é um importante local de estudo da ação dos inseticidas, pois esse órgão age como barreira física e química contra patógenos e compostos tóxicos (Denecke et al. 2018; Castro et al., 2019). O intestino de insetos é dividido em anterior, médio e posterior, porém nas larvas dos insetos holometábolos o intestino médio é mais desenvolvido (Caccia et al., 2019). A estrutura celular do intestino médio em lepidóptera é composta por células digestivas colunares caliciformes, células regenerativas e células endócrinas, além de possuir uma matriz peritrófica revestindo a parede interna do intestino (Pinheiro et al., 2018). Em Trichoptera, a estrutura celular do intestino médio é pouco conhecida, sendo descrita apenas em *Limnephilus stigma* Curtis, 1834 (Trichoptera: Limnephilidae), sendo semelhante com Lepidoptera, com a presença de células digestivas caliciformes e colunares em que as células colunares apresentam dupla função, absorção de produtos da hidrólise e síntese de enzimas (Chayka e Farafonova, 1980). Células caliciformes possuem uma superfície apical coberta inteiramente por microvilosidades e um citoplasma repleto de grânulos secretores, contendo enzimas digestivas e muco, cuja função é aglutinar partículas de alimento. As células regenerativas, por sua vez, são encontradas em grupos na base das criptas do epitélio e podem ser facilmente identificadas pelo núcleo pequeno e pelo citoplasma, que se cora mais intensamente do que o das células já diferenciadas (Chayka & Farafonova, 1980).

O corpo gorduroso, juntamente com o intestino médio, é um local de armazenamento de energia sob a forma de polissacarídeos, proteínas e lipídeos. Além

dessa função, o corpo gorduroso desempenha um papel importante no processo reprodutivo e na detoxificação dos insetos (Guedes et al., 2006; Dutra et al., 2019). Esse órgão é composto principalmente pelos trofócitos, de origem endodérmica (Paes de Oliveira e Cruz-Ladim, 2003). Em insetos holometábolos, os trofócitos apresentam diferenças fisiológicas e ultraestruturais durante as fases da metamorfose, atuando diretamente nesse processo crucial para o desenvolvimento do inseto (Paes de Oliveira e Cruz-Ladim, 2003). Em tricópteros do gênero *Hydropsyche* Pictet, 1834 foi observado que, ao longo do crescimento larval, há um aumento na concentração de lipídios no corpo gorduroso (Meier et al., 2000).

Por serem sensíveis às mudanças ambientais causadas por inseticidas e apresentarem respostas mensuráveis a essa exposição, os tricópteros são estudados na avaliação da qualidade do ambiente aquático (Ratia et al., 2012). Portanto, estudos sobre a biologia, comportamento e genética dos Trichoptera são desenvolvidos para compreender como esses insetos reagem às alterações ambientais (Berra et al., 2006; Yokoyama et al., 2009; Piccardo et al., 2021).

## **2. OBJETIVO GERAL**

O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade e os efeitos histopatológicos no intestino médio e corpo gorduroso do inseticida deltametrina em larvas do tricóptero *G. boraceia*.

### **2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO**

Descrição da morfologia interna do intestino médio e corpo gorduroso de larvas do gênero *Grumichella*.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 COLETA DE INSETOS**

A coleta das larvas foi realizada entre janeiro e outubro de 2024, na Fazenda Remanso (coordenadas em DMS: 20° 39' 23.990" S e 42° 27' 14.436" O), município de Araponga, estado de Minas Gerais, nas proximidades do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. A fazenda tem como atividade econômica o turismo oferecendo pousadas para estadia e a produção de café especial, que utiliza menos pesticidas. As larvas foram coletadas com peneiras granulométricas (7,6 cm de diâmetro e 8 mm de tamanho de malha) em pontos distribuídos ao longo do rio, do nível mais baixo ao mais alto com esforço amostral de 8 horas de busca ativa (Pimentel et al., 2020).

As larvas coletadas foram transportadas para a Universidade Federal de Viçosa em caixas de isopor preenchidas com água do rio e malha fina de tecido para promover a aderência das larvas e reduzir o estresse durante o transporte (Ratia et al., 2012). O substrato pedregoso foi coletado, lavado e seco em temperatura ambiente.

#### **3.2 CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO**

Adaptando a metodologia de Villamarín et al. (2022), as larvas coletadas foram aclimatadas na água do rio por 24 horas. Posteriormente, foram transferidas em média 1000 larvas para aquários de vidro (35 x 17 x 22 cm) com capacidade para 10 litros equipados com um filtro externo tipo cascata (modelo Hang On) para aquários de até 60 litros, com capacidade de 250 L/h, garantindo a oxigenação adequada da água. O ambiente foi climatizado para manter a temperatura da água entre 20°C e 23°C. As pedras coletadas do rio foram distribuídas no fundo dos aquários, simulando o ambiente natural e enriquecendo o ambiente em laboratório.

#### **3.3 TESTE DE CONCENTRAÇÃO DE MORTALIDADE**

Seguindo o protocolo da Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) nº 235, adaptado para Trichoptera, foram utilizadas larvas de 1 a

2 cm de comprimento coletadas em campo e mantidas em laboratório. A formulação comercial de deltametrina [Decis 25EC® 25g/L do princípio ativo S)- $\alpha$ -cyano-3-phenoxybenzyl (1R,3R) -3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate = 789,4 g/L hidrocarboneto aromático e 75,6 g/L outros ingredientes ; Bayer CropScience Ltda., São Paulo, Brasil] foi utilizada para preparar uma solução estoque em água destilada, com concentração de 25  $\mu$ g/L do princípio ativo do inseticida. A seguir foram realizadas quatro diluições (12,8  $\mu$ g/mL, 9,6  $\mu$ g/mL, 6,4  $\mu$ g/mL e 3,2  $\mu$ g/mL) que foram utilizadas para avaliar a toxicidade e estimar as concentrações letais (CL<sub>50</sub>, CL<sub>75</sub> e CL<sub>90</sub>). Para cada diluição do inseticida e controle, 10 larvas foram expostas em potes de plástico circulares com tampa e 200 mL de água com quatro réplicas totalizando 200 larvas. A mortalidade foi avaliada a cada 24h por 72h. Os indivíduos que não responderam aos estímulos com uma pipeta de Pasteur ou não apresentaram motilidade, foram considerados mortos e contabilizados. Qualquer comportamento observado também foi registrado.

### **3.4 TESTE SUBLETAL**

Após a estimativa das concentrações letais, um outro grupo de larvas foi exposta à CL<sub>50</sub> como descrito acima por 24 horas. No grupo controle, as larvas não foram expostas ao inseticida, sendo mantidas em condições iguais às da criação em laboratório.

### **3.5 MICROSCOPIA DE LUZ**

Após os períodos de exposição, tanto as larvas do grupo tratado quanto as do grupo controle foram transferidas para uma solução fixadora de glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,15 M, pH 7,2, por 48 horas. Em seguida, as larvas foram retiradas dos seus abrigos e foram dissecadas para a retirada do abdômen. Após lavagem no mesmo tampão, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90% e 95%) e incluídas em historesina Leica conforme instruções do

fabricante. Cortes histológicos de 3 µm de espessura foram corados com hematoxilina (15 min) e eosina (30 s), sendo analisados em microscópio de luz (Olympus BX60).

### **3.6. Histoquímica**

Para os testes histoquímicos com azul de bromofenol (detecção de proteínas totais) e o reativo de Schiff (detecção de polissacarídeos neutros), foram selecionados cortes histológicos não sequenciais do intestino médio e do corpo gorduroso de larvas de *G. boraceiae*.

No teste com azul de bromofenol, as amostras foram transferidas para uma solução de bromofenol com mercúrio (100 mL de ácido acético 2%; 0,05 g de azul de bromofenol; 1,5 g de cloreto de mercúrio) e mantidas por 2 horas e 15 minutos. Em seguida, foram lavadas com ácido acético 0,5% por 10 minutos e com água corrente por 15 minutos. As amostras foram então secas em estufa e analisadas em microscópio de luz (Olympus BX60).

Para o teste histoquímico de detecção de polissacarídeos neutros, as amostras foram imersas em ácido periódico 0,4% por 30 minutos, lavadas em água destilada e expostas ao reativo de Schiff (1,5 g de fucsina básica; 4,5 g de metabissulfito de potássio; 1 g de carvão ativado; 45 mL de HCl 1%; 300 mL de H<sub>2</sub>O) por uma hora no escuro. Após esse período, as amostras foram lavadas em água corrente por 30 minutos, secas em estufa e analisadas em microscópio de luz (Olympus BX60).

### **3.7. ESTATÍSTICA**

As concentrações letais e seus intervalos de confiança foram estimados por análise Probit gerando a curva dose-resposta com o programa de computador R. Foi feita a análise da mortalidade para diferentes concentrações de substâncias, utilizando o modelo Probit para ajustar os dados e estimar a CL<sub>50</sub>, CL<sub>75</sub> e CL<sub>90</sub> para cada dia.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 BIOENSAIO DE CONCENTRAÇÃO MORTALIDADE

O modelo de concentração-mortalidade usado foi adequado ( $P > 0,05$ ), confirmando a toxicidade da formulação de deltametrina para larvas de 1-2 cm de comprimento de *G. boracea* e permitindo estimar as concentrações letais (Tabela 1), com  $CL_{50}$  de  $0,0037 \mu\text{g L}^{-1}$  após 24 horas de exposição.

Durante o bioensaio foi observado que as larvas de *G. boracea* expostas ao inseticida apresentaram comportamento de abandono de abrigo. Enquanto no controle as larvas apresentaram tendência em se agrupar, no tratamento com deltametrina, esse comportamento não foi observado, sendo que apresentavam motilidade reduzida e pouca resposta a estímulos mecânicos em comparação ao controle.

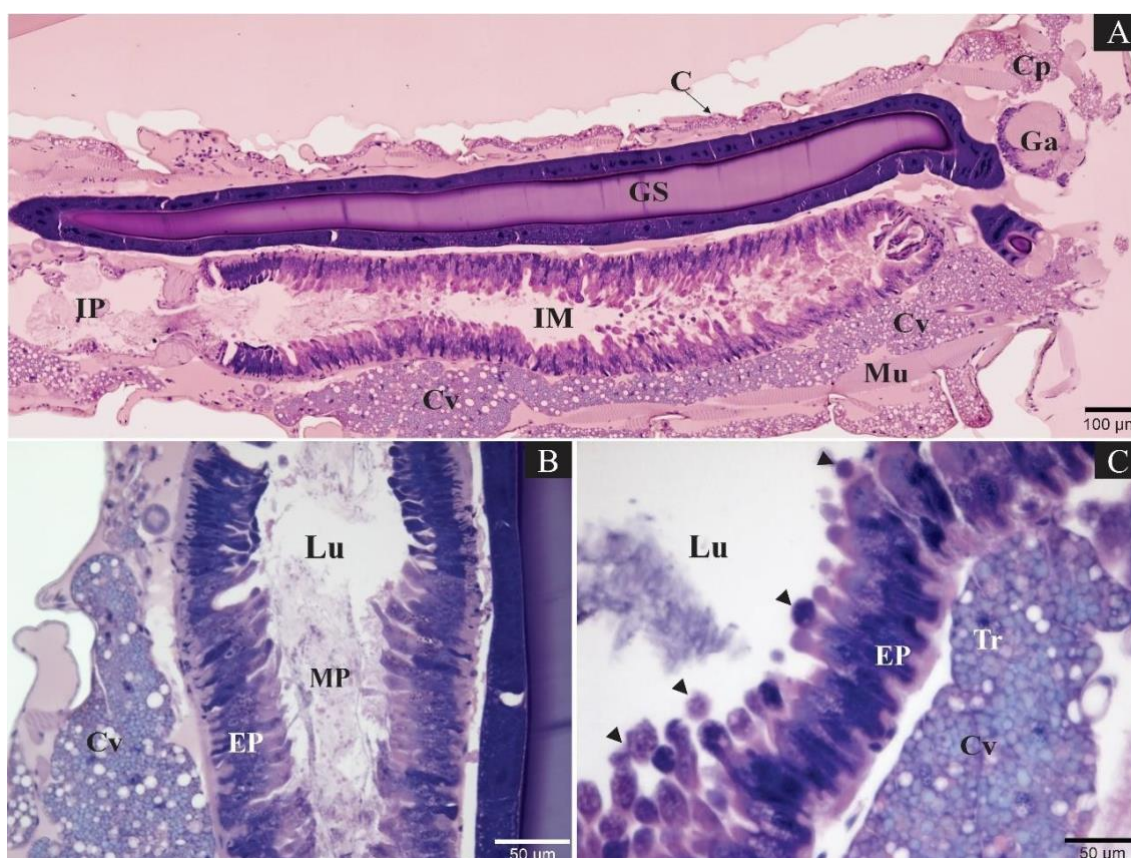
**Tabela 1:** Concentrações letais ( $CL$ ;  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) de deltametrina estimadas para larva de *Grumichela boracea* (Trichoptera: Leptoceridae) em diferentes tempos de exposição obtida por análise Probit (g.l. = 13).

Tempo	$CL_{50}$ (IC 95%)*	$CL_{75}$ (IC 95%)*	$CL_{90}$ (IC 95%)*	Inclinação $\pm$ dp	$\chi^2$
24h	0,0037 (0,0013-0,0054)	0,0097 (0,0076-0,011)	0,0149 (0,011-0,019)	$116,49 \pm 30,50$	2.808
48h	0,0027 (0,0020-0,0083)	0,0136 (0,0075-0,019)	0,0233 (0,009-,038)	$62,22 \pm 28,67$	3.537
72h	0,0008 (0,0007-0,0092)	0,0137 (0,0063-0,021)	0,0253 (0,006-0,044)	$52,40 \pm 28,7$	3.392

\* intervalo de confiança a 95%.

#### 4.2 INTESTINO MÉDIO

Em *G. boraceia*, o sistema digestório é dividido em três regiões bem definidas: anterior, médio e posterior, sendo o intestino médio o mais desenvolvido ocorrendo na porção mediana do corpo, paralelo à glândula salivar que mostra longa (Fig. 1A). A parede do intestino médio é composta por um epitélio simples (Fig. 1 A) com predomínio de células colunares (Fig. 1 B e C) e duas camadas musculares, sendo a interna, circular, e a externa, longitudinal. No lúmen do intestino médio foi evidente a presença de matriz peritrófica (Fig. 1B). Em algumas larvas, foi observada a ocorrência de secreção apócrina pelo epitélio da porção mediana do intestino médio (Fig. 1C). Ao longo do epitélio, encontram-se células digestivas, regenerativas e caliciformes (Fig. 2 A).



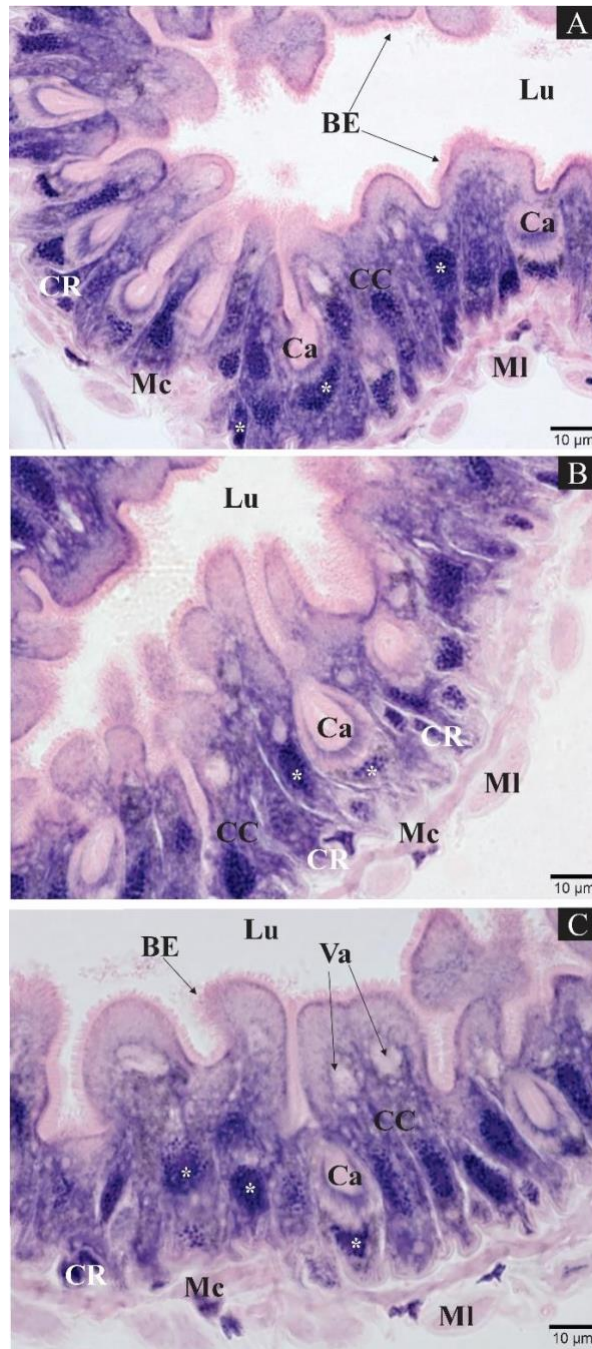
**Figura 1.** Micrografias de luz da larva de *Grumichella boraceiae*. A) visão geral mostrando o intestino médio (IM) e um curto intestino posterior (IP) paralelos à glândula salivar (GS). B) Intestino médio com epitélio simples colunar (EP) matriz peritrófica

(MP) no lúmen (Lu). C) detalhe do epitélio do intestino médio (EP) mostrando a ocorrência de secreção apócrina (setas) e Trofócitos (Tr). ; C= cutícula; Cp= corpo gorduroso parietal; Cv= corpo gorduroso visceral; Ga, gânglio nervoso; Mu= músculo

As células digestivas são colunares e as mais frequentes e se apresentam justapostas, com núcleo oval rico em cromatina descondensada na porção mediana da célula (Fig. 2). A superfície apical dessas células apresenta uma borda estriada bem desenvolvida (Fig. 2). O citoplasma mediano-basal apresentou basofilia com pequenos vacúolos, enquanto na porção apical ocorreram vacúolos bem desenvolvidos e o citoplasma apresentou acidofilia (Fig. 2B, 2D).

As células caliciformes ocorrem em menor abundância que as digestivas, sendo caracterizadas por uma invaginação da membrana plasmática apical, formando uma cavidade em com borda estriada evidente (Fig. 2B, 2C). O núcleo é basal e rico em cromatina descondensada (Fig. 2B, 2C).

As células regenerativas são encontradas em pequenos ninhos na porção basal do epitélio sobre a membrana basal e não atingindo o lúmen do órgão, sendo caracterizadas por núcleo com cromatina condensada (Fig. 2).



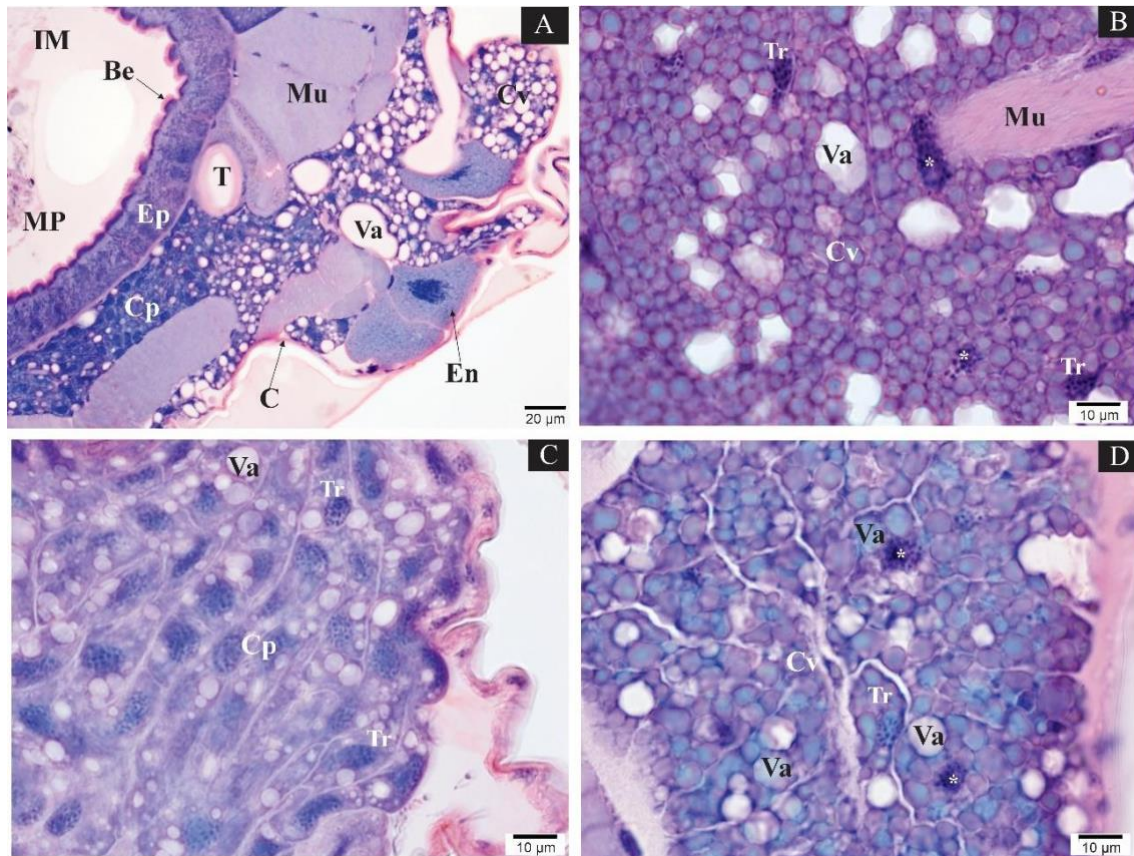
**Figura 2.** Micrografias de luz do intestino médio da larva de *Grumichella boraceiae*. A) Epitélio mostrando a presença de células caliciformes (Ca), colunares (CC) com borda estriada (BE) e ninhos de células regenerativas (CR) B) Detalhe do epitélio mostrando células colunares (CC) com citoplasma apical acidófilo e basofilia mediano basal, células caliciformes com cavidade bem desenvolvida (Ca) e núcleo basal (Nu). Note camada musculares longitudinal (MI) e circular (Mc). C) Epitélio mostrando células digestivas (Cd) com núcleo ovais (Nu) e citoplasma com vacúolos (Va) de diferentes tamanhos.

Após 24 horas de exposição à CL<sub>50</sub> do inseticida deltametrina, as larvas de *G. boraceia* apresentaram danos no intestino médio em comparação ao grupo controle (Fig. 4), caracterizados pela desorganização do epitélio, com ocorrência de protrusões citoplasmáticas apicais das células digestivas, algumas liberadas como fragmentos celulares para o lúmen do órgão e intensa vacuolização citoplasmática (Fig. 4C, 4F, 4I).

A coloração com ácido periódico de Schiff (PAS) e mercúrio bromofenol apresentou resultados positivos em amostras do intestino médio tanto para o grupo controle como para o tratado. No teste PAS, ocorreram alguns grumos com forte reação positiva no citoplasma das células colunares no controle e no tratamento, além de uma borda estriada mais evidente apenas nas larvas expostas ao inseticida (Fig. 4 H-I). No teste com mercúrio bromofenol, foi detectada a presença de esferocristais nas células do epitélio digestivo exclusivamente no grupo tratado (Fig. 4 F).

#### 4.3. CORPO GORDUROSO

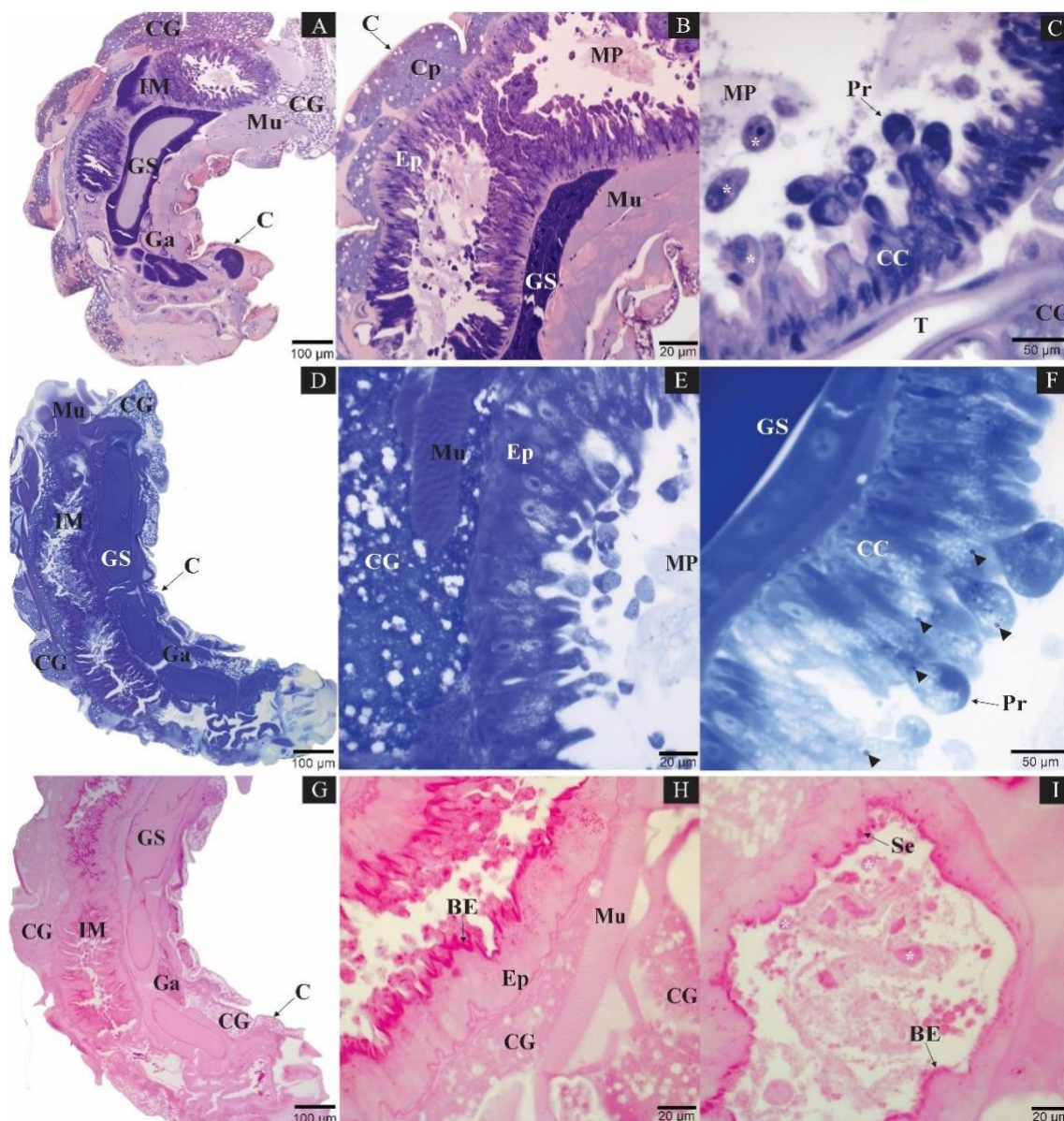
Nas larvas de *G. boraceia*, o corpo gorduroso está dividido em porções parietal e visceral, diferenciados pela localização e estrutura (Fig. 3 A). O corpo gorduroso parietal de *G. boraceia* está localizado na região periférica do abdômen, próximo à epiderme do tegumento (Fig. 3C). Esse órgão possui uma organização em folhas com finas camadas, com células justapostas com citoplasma contendo alguns pequenos vacúolos (Fig. 3C). O corpo gorduroso visceral está localizado na região central, próximo ao intestino, com as células ricas em vacúolos bem desenvolvidos (Fig. 3B, 3D). As células do corpo gorduroso (trofócitos) apresentam núcleo irregular com predomínio de cromatina descondensa e citoplasma rico em vacúolos (Fig. 3).



**Figura 3.** Micrografias de luz da larva de *Grumichella boraceiae*. A) Corte transversal mostrando uma visão geral do intestino médio (IM), dois tipos de corpo gorduroso – parietal (Cp) e visceral (Cv) – e um grupo de enócitos (En). B) Corpo gorduroso visceral (Cv) coberto por vacúolos (Va) dos trofócitos (Tr), com destaque para seus núcleos (Nu). C) Corpo gorduroso parietal (Cp) localizado próximo à cutícula (C), apresentando trofócitos (Tr) mais delimitados e menos vacúolos (Va) em comparação ao corpo gorduroso visceral. D) Detalhe do corpo gorduroso visceral (Cv), evidenciando os trofócitos (Tr) com núcleos de cromatina condensada; BE = borda estriada; Ep = epitélio; Mu = músculo; MP = matriz peritrófica; T = traqueia.

As larvas de *G. boraceia* expostas à CL<sub>50</sub> de deltametrina por 24h não apresentaram diferenças morfológicas no corpo gorduroso parietal e visceral em comparação com o controle.

Para verificar a ocorrência de algum dano fisiológico pelo inseticida, o corpo gorduroso das larvas foi submetido aos testes histoquímicos para detecção de polissacarídeos e proteínas. Os testes histoquímicos para a detecção de polissacarídeos neutros (PAS) e proteínas totais (mercúrio bromofenol) apresentaram resultados positivos em amostras do corpo gorduroso para o grupo controle e tratado, mas sem diferenças entre eles.



**Figura 4.** Micrografias de luz da larva de *Grumichella boraceiae* expostas ao inseticida deltametrina. A e B) Cortes longitudinais corados com HE, uma visão geral do abdômen. Observa-se o intestino médio (IM) com epitélio simples colunar (Ep) e, em seu lúmen, a matriz peritrófica (MP). Também são destacadas as glândulas (GS) adjacentes, o músculo (Mu) e a cutícula (C) que contorna o abdômen. C) Intestino médio corado com HE em maior aumento, evidenciando protusões (Pr) e fragmentos celulares (\*) do epitélio colunar. D e E) Abdômen corado com Bromofenol, com destaque para o intestino médio (IM) e o corpo gorduroso (CG). F) Presença de protusões celulares (Pr) e de esferocristais (setas). G e H) Abdômen corado com PAS, com destaque para a borda estriada (BE) mais evidente. I) Em maior aumento nota-se vesículas com conteúdo celular (Se) mais coradas, assim como fragmentos celulares (\*). T = traqueia.

## 5. DISCUSSÃO

O valor estimado da concentração letal de deltametrina para matar 50% das larvas de *G. boraceiae* após 24 horas de exposição foi de 0,0037  $\mu\text{g L}^{-1}$ , o que representa um valor 16,2 vezes menor do que a concentração residual encontrada em campo, de 0,06  $\mu\text{g/L}$ , para a bacia do mesmo bioma (Davia et al., 2018). Outros artrópodes aquáticos considerados altamente sensíveis a piretróides apresentam valores de  $CL_{50}$  entre 0,01 e 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$ , sendo a espécie mais sensível *Chaoborus obscuripes* (Wulp, 1859) (Chaoboridae: Diptera), cuja  $CL_{50}$  variou de 0,0006  $\mu\text{g L}^{-1}$  para 48 horas e 0,0012  $\mu\text{g L}^{-1}$  para 96 horas (Schroer et al., 2004).

Durante a exposição subletal ao piretróide, foi observado o comportamento de abandono do abrigo pelas larvas de *G. boraceiae*. Esse comportamento de possível fuga de ambiente contaminado também foi registrado em resposta ao piretróide, o esfenvalerato, por larvas construtoras de abrigo de *Brachycentrus americanus* (Banks, 1899) (Trichoptera: Brachycentridae) (Katherine et al., 2008). Esse comportamento, aqui induzido pelo piretróide, impacta negativamente a sobrevivência das larvas, tornando-as mais suscetíveis à predação (Katherine et al., 2008).

As larvas expostas a deltametrina também deixaram de apresentar o comportamento de agrupamento observado nas larvas controle. Alterações comportamentais foram relatadas em larvas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1767) (Lepidoptera: Plutellidae) com o inseticida permetrina (Hoy et al., 1991). Quando expostas ao piretróide, as larvas de *G. boraceiae* apresentaram pouca motilidade e resposta a estímulos, comportamento, como observado em adultos de *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, 1797 (Noctunirdae; Lepidoptera) (Gist e Pless, 1985).

Assim como outros Trichoptera, as larvas de *G. boraceiae* possuem o canal alimentar dividido em três regiões: anterior, médio e posterior, sendo o intestino médio,

o que ocupa a maior parte do corpo (Sangpradub e Giller, 1994). Em larvas de *Wormaldia mediana* McLachlan, 1878 (Philopotamidae: Trichoptera), o tecido epitelial do intestino médio é formado por células colunares (digestivas) responsáveis pela secreção da matriz peritrófica (Corallini, 2011), uma característica também observada nas larvas de *G. boraceiae* que apresenta matriz peritrófica no lúmen e epitélio com secreção apócrina. De acordo com Corallini (2011), a membrana peritrófica é produzida ao longo de todo o intestino médio de larvas de *Ceraclea fulva* (Rambur, 1842) (Trichoptera: Leptoceridae) com a função de proteger mecanicamente o trato digestório. Apesar de ambas as espécies desempenharem papéis tróficos distintos, *C. fulva* sendo um predador e *G. boraceiae* um raspador, esse tipo de membrana também é produzido por larvas de *G. boraceiae*.

No epitélio do intestino médio de *G. boraceiae*, ocorrem células digestivas justapostas e com uma borda estriada apical bem evidente, células regenerativas e, em menor abundância, células caliciformes. Essa composição do epitélio digestivo, com células colunares, caliciformes e regenerativas, também foi descrita por Chayka e Farafonova (1980) em larvas do Trichoptera *L. stigma*. Além disso, larvas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) apresentam uma conformação celular no intestino médio (Lima et al., 2023) semelhante à das duas espécies de Trichoptera. Em Lepidoptera, as células caliciformes são responsáveis pelo transporte ativo de potássio da hemolinfa para o lúmen do intestino médio, uma adaptação relacionada à dieta rica em potássio dessas larvas (Moffet e Koch, 1992; Flower e Filshie, 1976; Azuma et al., 1991). Essas células também estão presentes nas larvas de *G. boraceiae* e podem ser identificadas pela presença de uma invaginação apical, que forma uma cavidade com borda estriada, semelhante ao observado em lagartas de Lepidoptera (Gomes et al., 2013). No entanto, a real função dessas células

em Trichoptera ainda é desconhecida, sendo necessários mais estudos para determinar sua funcionalidade nessa ordem.

A presença de célula caliciforme é uma característica morfológica observada apenas em Lepidoptera e Trichoptera, que pertencem ao grupo Amphiesmenoptera. Essa característica pode representar uma sinapomorfia do grupo, reforçando a filogenia atual que os considera grupos irmãos (Mey et al., 2016). Além disso, essa célula não está presente em nenhuma das ordens que compõem o táxon irmão de Amphiesmenoptera, o grupo Antliophora, que inclui Diptera, Mecoptera e Siphonaptera, sendo mais uma evidência que essa característica é uma novidade evolutiva compartilhada apenas pelo ancestral em comum de Amphiesmenoptera (Beutel et al., 2011).

A divisão do corpo gorduroso em regiões parietal e visceral, observada em *G. boraceiae* é comum em muitos insetos, incluindo Lepidoptera, grupo irmão de Trichoptera. Esses tecidos estão localizados em diferentes regiões do corpo e apresentam arranjos celulares distintos (Hauerland e Shirk, 1995), características também observadas em *G. boraceiae*.

Os trofócitos estão presentes em todo o corpo gorduroso da larva de *G. boraceiae*, com maior abundância na região parietal, similarmente ao observado em larvas de *A. gemnata* (Carvalho et al., 2013). Esses trofócitos possivelmente desempenham funções de síntese, armazenamento e metabolismo de glicogênio, conforme relatado em larvas de *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae) e para outras larvas de holometábolos (Park et al., 2022).

As larvas expostas ao inseticida deltametrina apresentaram danos no epitélio do intestino médio, como aumento da vacuolização, ocorrência de protusão celular apical e liberação de fragmentos no lúmen. Danos histopatológicos semelhantes foram relatados no intestino médio de lagartas dos Lepidoptera *S. frugiperda* com o mesmo inseticida

(Vinha et al., 2021), *A. gemmatalis* com esquamocina (Fiaz et al., 2018a), tebufenozida (Fiaz et al. 2018b), clorotranilipole (Castro et al., 2021) e abamectina (Lima et al. 2024) e nos hemimetábolos *Callibaetis radiatus* (Navás, 1920) (Ephemeroptera: Baetidae:) com deltametrina (Gutiérrez et al., 2016) e *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Heteroptera; Pentatomidae) com spinosade (Santos-Junior et al. 2020), indicando que diferentes pesticidas causam danos histopatológicos semelhantes no intestino médio de diferentes insetos.

Em comparação com o controle, foi observado um aumento na abundância de secreção apócrina no epitélio do intestino médio de *G. boraceiae* exposta a deltametrina, o que pode ser devido a uma resposta detoxificante do órgão ao inseticida. Aumento na secreção apócrina tem sido relatado no intestino médio de diferentes insetos expostos a pesticidas e associados como um possível mecanismos de detoxificação (Martínez et al., 2018; Santos-Junior et al., 2020; Lima et al., 2024; Reis et al., 2024), uma vez que podem liberar enzimas envolvidas nos processos de detoxificação (Grella et al., 2019). Assim, o aumento dessas secreções em *G. boraceiae* pode ser interpretado como uma resposta do organismo à exposição ao deltametrina.

As larvas de *G. boraceiae* apresentaram reação positiva para carboidratos, com a borda estriada fortemente corada, assim como reações mais intensas, e pontuais, no citoplasma do epitélio intestinal. Tanto no controle quanto no tratamento, a marcação com mercúrio bromofenol indicou a presença de proteínas. No entanto, no grupo tratado foram observados esferocristais no citoplasma das células digestivas do intestino médio. A presença desses esferocristais pode estar associada a mecanismos de detoxificação ou osmorregulação do organismo (Batista et al., 2023), como relatado em operárias de *Polistes dominula* (Christ,1791) (Hymenoptera:Vespidae:) (Polidori et al., 2018) intoxicadas por metais pesados e na abelha *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 com o

teflubenzuron (Oliveira et al., 2024). Portanto, a presença de esferocristais nas larvas de *G. boraceiae* sugere um indício de resposta de detoxificação ao inseticida.

Apesar das larvas de insetos aquáticos (Antwi e Reddy, 2015) e o intestino médio não serem alvos da deltametrina, que atua predominantemente em células musculares e nervosas (Soderlund, 2012), os danos histopatológicos demonstram que *G. boraceiae* apresenta sensibilidade a este inseticida amplamente utilizado na agricultura.

As larvas de *G. boraceiae* expostas à deltametrina, não apresentaram danos histopatológicos no corpo gorduroso, diferentemente do reportado para *Caraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae) (Scudeler et al., 2022); e *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Meliponini) (Farder-Gomes et al., 2024), que apresentaram danos ao corpo gorduroso após exposição aos inseticidas piriproxifeno e glifosato, respectivamente. Portanto, é plausível sugerir que a concentração subletal de deltametrina aqui utilizada pode ter sido detoxificada pelo corpo gorduroso, como relatado para esse órgão em larvas de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) com ivermectina (Alves et al. 204) de *A. mellifera* com ciflumetomen (Carneiro et al., 2023).

## 6. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi realizada a primeira descrição da morfologia do intestino médio e do corpo gorduroso de Trichoptera do gênero *Grumichella*. Os resultados revelam que a morfologia das larvas desse gênero é similar à de outros Trichoptera, apresentando a divisão do intestino médio em três partes, com a presença de células colunares, caliciformes e regenerativas. O corpo gorduroso, por sua vez, está dividido em porções parietal e visceral, sendo composto por trofócitos. Este estudo também demonstra que o inseticida deltametrina é tóxico para larvas de *G. boraceiae*, considerando os danos

histopatológicos observados no intestino médio e as alterações comportamentais que podem reduzir sua taxa de sobrevivência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, S.N., Serrão, J.E., Mocelin, G., Melo, A.L. (2004). Effect of ivermectin on the life cycle and larval fat body of *Culex quinquefasciatus*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47, 433-43
- Antwi, F. B., Reddy, G. V. (2015). Toxicological effects of pyrethroids on non-target aquatic insects. *Environmental toxicology and pharmacology*, 40(3), 915-923.
- Azuma, M., Takeda, S., Yamamoto, H., Endo, Y., Eguchi, M. (1991). Goblet cell alkaline phosphatase in silkworm midgut epithelium: its entity and role as an ATPase. *Journal of Experimental Zoology*, 258(3), 294-302.
- Batista, N. R., Farder-Gomes, C. F., Nocelli, R. C. F., Antonialli-Junior, W. F. (2023). Effects of chronic exposure to sublethal doses of neonicotinoids in the social wasp *Polybia paulista*: Survival, mobility, and histopathology. *Science of The Total Environment*, 904, 166823.
- Berra, E., Forcella, M., Giacchini, R., Rossaro, B., Parenti, P. (2006). Biomarkers in caddisfly larvae of the species *Hydropsyche pellucidula* (Curtis, 1834) (Trichoptera: Hydropsychidae) measured in natural populations and after short term exposure to fenitrothion. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 76 (5), 863.
- Beutel, R. G., Friedrich, F., Hörnschemeyer, T., Pohl, H., Hünefeld, F., Beckmann, F., Vilhelmsen, L. (2011). Morphological and molecular evidence converge upon a robust phylogeny of the megadiverse Holometabola. *Cladistics*, 27(4), 341-355.
- Caccia, S., Casartelli, M., Tettamanti, G. (2019). The amazing complexity of insect midgut cells: types, peculiarities, and functions. *Cell and Tissue Research*, 377, 505-525.

- Calor, A. R., Holzenthal, R. W., Froehlich, C. G. (2016). Phylogeny and revision of the Neotropical genus *Grumichella* Müller (Trichoptera: Leptoceridae), including nine new species and a key. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 176(1), 137-169.
- Calor, A. R., Pereira, R., Queiroz, L. L., Vilarino, A., Azevedo Junior, C. C. D. D., Queiroz, A., Bispo, P. D. C. (2024). LEAq–Laboratório de Entomologia Aquática “Prof. Claudio Gilberto Froehlich” and the task of facing the biodiversity knowledge deficits on Caddisflies (Trichoptera), Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 67, e20230065.
- Carneiro, L.S., Santos, C.G., Resende, M.T.C.S., Souza, D.L.L., Souza, D.S., Souza, A.M.C., Motta, J.V.O., Nere, P.H.A., Oliveira, A.H., Serrão, J.E. (2023). Effects of the insecticide imidacloprid on the post-embryonic development of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Science of the Total Environment* 905: 167278
- Carvalho, R. B. R., Andrade, F. G. D., Levy, S. M., Moscardi, F., Falleiros, Â. M. F. (2013). Histology and ultrastructure of the fat body of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56, 303-310.
- Castro, B. M. C. E., Martinez, L. C., Barbosa, S. G., Serrão, J. E., Wilcken, C. F., Soares, M. A., Silva A.A., Carvalo, AG., Zanuncio, J. C. (2019). Toxicity and cytopathology mediated by *Bacillus thuringiensis* in the midgut of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Scientific Reports*, 9 (1), 6667
- Castro, B.M.C.E., Martinez, L.C., Plata-Rueda, A., Soares, M.A., Wilcken, C.F., Zanuncio, A.J.V., Fiaz, M., Zanuncio, J.C., Serrao, J.E. (2021). Exposure to chlorantraniliprole reduces locomotion, respiration, and causes histological changes

- in the midgut of velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemosphere* 263, 128008
- Chayka, S. Y., and G. V. Farafonova. 1980. Midgut ultrastructure in *Limnephilus stigma* Curtis (Trichoptera, Limnephilidae). *Entomological Review*, 59: 55- 63.
- Cobo, F. Maintenance of shredders in the laboratory. In: M.A.S. Graça, F. Bärlocher and M.O. Gessner, eds. *Methods to study litter decomposition: a practical guide*. Dordrecht: Springer, 2005, pp. 291- 295. [http://dx.doi.org/10.1007/1-4020-3466-0\\_40](http://dx.doi.org/10.1007/1-4020-3466-0_40).
- CORALLINI, C. (2011). Structure and synthesis of the peritrophic membrane in Trichoptera larvae. *Zoosymposia*, 5, 63-70.
- Costa, D. A., Rezende, P. H., Salles, F. F., Desidério, G. R., Dias, G., Lino-Neto, J. (2024). Morphology of the male reproductive system and spermatozoa of *Smicridea* (Rhyacophylax) *iguazu* Flint, 1983 (Trichoptera, Hydropsychidae). *Arthropod Structure & Development*, 79, 101344.
- Davia, T., Santos, C. C. M., Cunha, F. D. S., Lima, B. S., de Carvalho, Y. M. B. G., Araujo, A., Fujimoto, R. (2018). Avaliação da contaminação por deltametrina e cipermetrina na água de pisciculturas do Baixo São Francisco. VIII Seminário de Iniciação Científica e Pós-Graduação, 12, 32-37.
- Dellamatrice, P. M., Monteiro, R. T. (2014). Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 18, 1296-1301.
- Denecke, S., Swers, L., Douris, V., Vontas, J. (2018). How do oral insecticidal compounds cross the insect midgut epithelium? *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 103: 22-35.

- Dutra, K. A., Wanderley Teixeira, V., Cruz, G. S., Silva, C. T. S., D' Assunção, C. G., Ferreira, C. G. M., Navarro, D. M. A. F. (2019). Morphological and immunohistochemical study of the midgut and fat body of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) treated with essential oils of the genus Piper. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(7), 498-513.
- Fiaz, M., Martinez, L.C., Costa, M.S., Cossolin, J.F.S., Plata-Rueda, A., Gonçalves, W.G., Santana, A.E.G., Zancunico, J.C., Serrão, J.E. (2018a). Squamocin induce histological and ultrastructural changes in the midgut cells of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 156, 1-8
- Fiaz, M., Martinez, L.C., plata-Rueda, A., gonçalves, W.G., Shareef, M., Zancunico, J.C., Serrão, J.E. (2018). Toxicological and morphological effects of tebufenozide on *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Chemosphere* 212, 337-345.
- Flint, O. S., Holzenthal, R. W., Harris, S. C. (1999). Nomenclatural and systematic changes in the Neotropical caddisflies (Insecta: Trichoptera). *Insecta Mundi*, 13, 73–84.
- Flower, N. E., Filshie, B. K. (1976). Goblet cell membrane differentiations in the midgut of a lepidopteran larva. *Journal of cell science*, 20(2), 357-375.
- Gist, G. L., Pless, C. D. (1985). Effects of synthetic pyrethroids on growth and development of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Florida Entomologist*, 68, 450-456.
- Gomes, F.M., Carvalho, D.B., Machado, E.A., Miranda, K. (2013). Ultrastructural and functional analysis of secretory goblet cells in the midgut of the lepidopteran *Anticarsia gemmatalis* . *Cell Tissue Research*, 352, 313–326.

- Grella, T. C., Soares-Lima, H. M., Malaspina, O., Nocelli, R. C. F. (2019). Semi-quantitative analysis of morphological changes in bee tissues: A toxicological approach. *Chemosphere*, 236, 124255.
- Guedes, R. N. C., Oliveira, E. E., Guedes, N. M. P., Ribeiro, B., Serrão, J. E. (2006). Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Physiological Entomology*, 31(1), 30-38.
- Gutiérrez, Y., Santos, H. P., Serrão, J. E., Oliveira, E. E. (2016). Deltamethrin-mediated toxicity and cytomorphological changes in the midgut and nervous system of the mayfly *Callibaetis radiatus*. *PLoS One*, 11(3), e0152383.
- Hafsi, A., Abbes, K., Harbi, A., Duyck, P. F., Chermiti, B. (2016). Attract-and-kill systems efficiency against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) and effects on non-target insects in peach orchards. *Journal of Applied Entomology*, 140 (1-2), 28-36.
- Hauerland, N. H., Shirk, P. D. (1995). Regional and functional differentiation in the insect fact body. *Annual Review of Entomology*, 40(1), 121-145.
- Hoy, C. W., Adams, A. J., Hall, F. R., Nettleton, S. Y. (1991). Relationship between behavioral and physiological responses of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) larvae to permethrin deposits within two Ohio populations. *Journal of Economic Entomology*, 84(4), 1135-1139.
- Hunt, L., Bonetto, C., Resh, V. H., Buss, D. F., Fanelli, S., Marrochi, N., Lydy, M. J. (2016). Insecticide concentrations in stream sediments of soy production regions of South America. *Science of the Total Environment*, 547, 114-124.
- Katherine R Johnson, Paul C Jepson, Jeffrey J Jenkins, Esfenvalerate-induced case-abandonment in the larvae of the caddisfly (*Brachycentrus americanus*), *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, 397–403.

- Katherine R Palmquist, Paul C Jepson, Jeffrey J Jenkins, Impact of aquatic insect life stage and emergence strategy on sensitivity to esfenvalerate exposure, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27, 1728–1734.
- Lima, B. S. A., Rocha, F. A. D., Plata-Rueda, A., Zanuncio, J. C., Cossolin, J. F. S., Martínez, L. C., Serrão, J. E. (2024). Abamectin induces mortality, inhibits food consumption, and causes histological changes in the midgut of the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Pest Science*, 97(1), 213-227.
- Martínez, L. C., Plata-Rueda, A., da Silva Neves, G., Gonçalves, W. G., Zanuncio, J. C., Bozdoğan, H., Serrão, J. E. (2018). Permethrin induces histological and cytological changes in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere*, 212, 629-637.
- Martins, G. F., Serrão, J. E., Ramalho-Ortigão, J. M., Pimenta, P. F. P. (2011). Histochemical and ultrastructural studies of the mosquito *Aedes aegypti* fat body: effects of aging and diet type. *Microscopy Research and Technique*, 74(11), 1032-1039.
- Meier, G. M., Meyer, E. I., Meyns, S. (2000). Lipid content of stream macroinvertebrates. *Archiv für Hydrobiologie*, 147(4), 447-463.
- Mey, W., Wichard, W., Ross, E., Ross, A. (2016). On the systematic position of a highly derived amphiesmenopteran insect from Burmese amber (Insecta, Amphiesmenoptera). *Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 107(2-3), 249-254.
- Moffett, D. F., Koch, A. (1992). Driving forces and pathways for H<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transport in insect midgut goblet cells. *Journal of Experimental Biology*, 172(1), 403-415.

- Montaño-Campaz, M. L., Dias, L. G., Bacca, T., Toro-Restrepo, B., Oliveira, E. E. (2022). Exposures to deltamethrin on immature *Chironomus columbiensis* drive sublethal and transgenerational effects on their reproduction and wing morphology. *Chemosphere*, 296, 134042.
- Oliveira, M.S.d., Pereira, G.d.S., Martinez, L.C., Reis, A.B., Resende, M.T.C.S.d., Silva, L.L.d., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E. (2024). Effects of chronic oral exposure to insecticide teflubenzuron on the midgut of the honey bee *Apis mellifera* workers: histopathological insights into pesticide toxicity. *Environmental Science and Pollution Research* 31: 44908-44919.
- Paes de Oliveira, V. T., Cruz-Landim, C. (2003). Morphology and function of insect fat body cells: a review. *Biociências*, 11, 195-205.
- Pes, A. M. O., Hamada, N., Nessimian, J. L. (2005). Chaves de identificação de larvas para famílias e gêneros de Trichoptera (Insecta) da Amazônia Central, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 49, 181-204.
- Piccardo, M., Bertoli, M., Pastorino, P., Barceló, D., Provenza, F., Lesa, D., Renzi, M. (2021). Lethal and sublethal responses of *Hydropsyche pellucidula* (Insecta, Trichoptera) to commercial polypropylene microplastics after different preconditioning treatments. *Toxics*, 9(10), 256.
- Pimentel, D. R., Couceiro, S. R. M., Salcedo, A. K. M. (2020). Diet of *Phylloicus* (Trichoptera: Calamoceratidae) caddisfly larvae in forest streams of western Pará, central Brazilian Amazonia. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 32, 13.
- Pinheiro, D. O., Quagio-Grassiotto, I., Gregório, E. A. (2008). Morphological regional differences of epithelial cells along the midgut in *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) larvae. *Neotropical Entomology*, 37, 413-419.

- Polidori, C., Pastor, A., Jorge, A., Pertusa, J. (2018). Ultrastructural alterations of midgut epithelium, but not greater wing fluctuating asymmetry, in paper wasps (*Polistes dominula*) from urban environments. *Microscopy and Microanalysis*, 24(2), 183-192.
- Ratia, H., Vuori, K. M., Oikari, A. (2012). Caddis larvae (Trichoptera, Hydropsychidae) indicate delaying recovery of a watercourse polluted by pulp and paper industry. *Ecological Indicators*, 15 (1), 217-226.
- Reiber, L., Knillmann, S., Kaske, O., Atencio, L. C., Bittner, L., Albrecht, J. E., Liess, M. (2021). Long-term effects of a catastrophic insecticide spill on stream invertebrates. *Science of the Total Environment*, 768, 144456.
- Reis, A.B., Oliveira, M.S., Sousa, D.S., Gomes, D.S., Silva, L.L., Martinez, L.C., Serrão, J.E. (2024). Exploring the effects of the acaricide cyflumetofen on the vital organs of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) workers. *Science of the Total Environment*, 929, 172640.
- Ribeiro, E. B., Badea, M., Ribeiro, D. B., Costa, A. R., Santos, D. R. D., Marques, P. R., Nunes, G. S. (2022). Atividade inibitória de pesticidas piretroides sobre a glutathione S-transferase. *Química Nova*, 45, 138-144.
- Ruiz-Garcia, A., Lara-Rodríguez, A., Garzón, A., Zamora-Munoz, C. (2022). Morphological description and DNA-based association of the last instar larva of *Erotasis schachtii* Malicky 1982 (Trichoptera: Leptoceridae), an endemic of the Iberian Peninsula. *Zootaxa*, 5219(6), 583-592.
- Sangpradub, N., Giller, P. S. (1994). Gut morphology, feeding rate and gut clearance in five species of caddis larvae. *Hydrobiologia*, 287, 215-223.
- Santos-Junior, V.C., Martinez, L.C., Plata-Rueda, A., Fernandes, F.L., Tavares, W.S., Zancunico, J.C., Serrão, J.E. (2020). Histopathological and cytotoxic changes

- induced by spinosad on midgut cells of the non-target predator *Podisus nigrispinus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae). *Chemosphere* 238: 124585.
- Scudeler, E. L., de Carvalho, S. F., Garcia, A. S. G., Santorum, M., Padovani, C. R., Dos Santos, D. C. (2022). Midgut and fat body: Multisystemic action of pyriproxyfen on non-target organism *Caraeochrysa claveri* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Pollution*, 293, 118580.
- Serrão, J. E., Plata-Rueda, A., Martínez, L. C., Zanuncio, J. C. (2022). Side-effects of pesticides on non-target insects in agriculture: A mini-review. *The Science of Nature*, 109 (2), 17.
- Soderlund, D. M. (2012). Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. *Archives of Toxicology*, 86, 165-181.
- Schroer, A. F. W., Belgers, J. D. M., Brock, C. M., Matser, A. M., Maund, S. J., Van den Brink, P. J. (2004). Comparison of laboratory single species and field population-level effects of the pyrethroid insecticide  $\lambda$ -cyhalothrin on freshwater invertebrates. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 46, 324-335.
- Tasker, S. J. L., Bilton, D. T. (2023). Field evidence of caddisfly larvae (Trichoptera: Limnephilidae, Leptoceridae) using alien *Crassula helmsii* (Kirk) Cockayne fragments (Saxifragales: Crassulaceae) in case construction. *Aquatic Insects*, 45(1), 82–86.
- Tessier, L., Boisvert, J. L., Vought, L. B. M., Lacoursie, J. O. (2000). Effects of 2, 4-dichlorophenol on the net-spinning behavior of *Hydropsyche slossonae* larvae (Trichoptera; Hydropsychidae), an early warning signal of chronic toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46 (2), 207-217.
- Villamarín, C., Cañedo-Argüelles, M., Carvajal-Rebolledo, C., Ríos-Touma, B. (2022). Effects of pesticides on the survival of shredder *Nectopsyche* sp. (Trichoptera) and

- leaf decomposition rates in tropical Andes: A Microcosm Approach. *Toxics*, 10 (12), 720.
- Vinha, G. L., Plata-Rueda, A., Soares, M. A., Zanuncio, J. C., Serrão, J. E., Martinez, L. C. (2021). Deltamethrin-mediated effects on locomotion, respiration, feeding, and histological changes in the midgut of *Spodoptera frugiperda* caterpillars. *Insects*, 12(6), 483.
- Yokoyama, A., Ohtsu, K., Iwafune, T., Nagai, T., Ishihara, S., Kobara, Y., Endo, S. (2009). Sensitivity difference to insecticides of a riverine caddisfly, *Cheumatopsyche brevilineata* (Trichoptera: Hydropsychidae), depending on the larval stages and strains. *Journal of Pesticide Science*, 34 (1), 21-26.
- Yokoyama, A., Ohtsu, K., Iwafune, T., Nagai, T., Ishihara, S., Kobara, Y., Endo, S. (2009). A useful new insecticide bioassay using first-instar larvae of a net-spinning caddisfly, *Cheumatopsyche brevilineata* (Trichoptera: Hydropsychidae). *Journal of Pesticide Science*, 34(1), 13-20.
- Zhou, R., Jiang, Y., Liu, W. (2014). Evaluation on measurement uncertainty of detection of deltamethrin residues in rice by gas chromatography. *Occupation and Health*, 30 (17), 2402-2405.