

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**O efeito da disrupção da microbiota no crescimento de *Plutella xylostella*  
(Lepidoptera: Plutellidae)**

Giovanna dos Santos Pereira  
*Magister Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2026**

**GIOVANNA DOS SANTOS PEREIRA**

**O efeito da disrupção da microbiota no crescimento de *Plutella xylostella*  
(Lepidoptera: Plutellidae)**

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  
2026**

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

T

P436e  
2026  
Pereira, Giovanna dos Santos, 1999-  
O efeito da disrupção da microbiota no desenvolvimento de  
*Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) / Giovanna dos  
Santos Pereira. – Viçosa, MG, 2026.  
1 dissertação eletrônica (41 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: José Eduardo Serrão.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Biologia Geral, 2026.

Referências bibliográficas: f. 35-40.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.297>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Traça-das-crucíferas - Controle. 2. Neonicotinoides  
(Inseticida). 3. Simbiose. 4. Peptídeos antimicrobianos.  
I. Serrão, José Eduardo, 1965-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Programa de  
Pós-Graduação em Entomologia. III. Título.

CDD 22. ed. 595.78

**GIOVANNA DOS SANTOS PEREIRA**

**O efeito da disrupção da microbiota no crescimento de *Plutella xylostella*  
(Lepidoptera: Plutellidae)**

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: 25 de fevereiro de 2026.

Assentimento:

---

Giovanna dos Santos Pereira  
Autora

---

Jose Eduardo Serrao  
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 01/06/2026 às 11:11:25 e pelo orientador em 01/06/2026 às 11:33:55. 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 **SNU9.G8WD.MNZA** e clique no botão 'Validar documento'.

Dedico este trabalho às minhas mães, Juliana e Dulcinéia, por confiarem cegamente em cada passo que dei e ao meu amor e melhor amigo Filipe, que me consolou a cada derrota e comemorou comigo a cada vitória.

## AGRADECIMENTOS

Eu sempre fui movida pela curiosidade. Desde criança, queria entender o porquê de as coisas serem como são e, não à toa, escolhi a área com mais perguntas e questionamentos: a Biologia, onde cada manifestação da vida abre uma infinidade de possibilidades. Porém, fazer ciência básica é algo que necessita de resiliência e uma enorme força de vontade, pois a cada “não” que a pesquisa e a sociedade te dá, é preciso ter forças para levantar e continuar de novo e de novo e de novo... Este trabalho é a somatória de muitas quedas e acertos que ocorreram durante esses dois anos de mestrado, e só foi possível porque eu tive pessoas incríveis ao meu lado.

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha família, minha avó, Dulcinéia, e minha mãe, Juliana, por abrirem mão de parte das suas vidas para que eu pudesse ter uma boa educação e permitir que minha curiosidade me levasse até onde cheguei. Sei que para sempre terei um lar cheio de amor e apoio para retornar e espero nunca decepcioná-las. À minha outra família, meu amor e melhor amigo Filipe e meus nenês felinos Arya e Belchior, por estarem sempre ao meu lado mesmo quando o cansaço e a tristeza me tornavam uma pessoa difícil de se conviver. Além disso, há aquela família que a gente faz ao longo da vida que nos servem de base diária e são imprescindíveis. Agradeço também, aos meus amigos: Álvaro, Enzo, Laryssa e Natassha, sem vocês a vida seria em preto e branco. Obrigada por cada conselho, os cafezinhos aleatórios na BBT e por estarem presentes mesmo quando a distância se torna nossa inimiga.

À pessoa que eu tenho orgulho de chamar de meu orientador, Professor Serrão: agradeço por nos deixar ousar e permitir que nossa curiosidade corra livre, mas quando ela precisa de um lugar para se fixar, você nos guia até que os nossos sonhos se tornem realidade. O Laboratório de Ultraestrutura Celular só é grande porque o seu coração é enorme, muito obrigada por não nos enxergar apenas como números que passam por ele, mas sim como pessoas com histórias e sonhos.

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

PEREIRA, Giovanna dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2026. **O efeito da disrupção da microbiota no crescimento de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)**. Orientador: Jose Eduardo Serrao.

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), destaca-se como uma das pragas agrícolas mais destrutivas e resistentes globalmente. Apesar de seu impacto econômico, alguns aspectos da sua biologia, como o papel funcional de sua microbiota intestinal permanece um tema de debate, se enquadrando dentro do "dilema de lepidoptera", que questiona se a associação bacteriana do clado é residente e essencial ou meramente transitória. Este trabalho investigou a hipótese de que a simbiose intestinal em Lepidoptera é facultativa, porém funcionalmente crítica sob estresse, sendo modulada pelo sistema imune do hospedeiro. O objetivo foi avaliar como a modulação do microambiente intestinal, através de estressores químicos distintos, impacta o desenvolvimento e a sobrevivência do inseto. Para tanto, lagartas foram submetidas a um gradiente de concentrações de tetraciclina para supressão bacteriana e a doses subletais de imidacloprido como desregulador imunológico, isoladamente e em combinação. Especificamente foram avaliados parâmetros de duração de instar, tempo de desenvolvimento total, mortalidade, peso pupal e taxa de emergência de adultos. Os resultados revelam que a resposta de *P. xylostella* à disbiose não é binária, mas dependente da intensidade do estresse uma vez que baixas concentrações de antibiótico aceleram o desenvolvimento, enquanto as maiores são letais. Crucialmente, a associação do antibiótico com imidacloprido transformou quadros de adaptação em colapso metabólico e travas de desenvolvimento, evidenciando que o inseticida, ao suprimir a produção de peptídeos antimicrobianos, impede o hospedeiro de modular a comunidade bacteriana. Dessa forma, os resultados indicam que *P. xylostella* é capaz de modular ativamente sua microbiota, utilizando essa plasticidade para restabelecer a homeostase frente a agentes estressores.

Palavras-chave: Neonicotinoides; Simbiose; Imunidade de insetos; AMP

## ABSTRACT

PEREIRA, Giovanna dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2026. **The effect of microbiota disruption on the growth of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)**. Adviser: Jose Eduardo Serrao.

The diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), is recognized as one of the most destructive and resistant agricultural pests globally. Despite its economic significance, aspects of its biology, such as the functional role of its gut microbiota, remain debated, framing the "Lepidoptera dilemma," which questions whether bacterial associations in this clade are resident and essential or merely transient. This study tested the hypothesis that gut symbiosis in Lepidoptera is facultative yet functionally critical under stress, subject to modulation by the host's immune system. The objective was to evaluate how modulating the gut microenvironment via distinct chemical stressors affects insect development and survival. Larvae were exposed to a concentration gradient of tetracycline for bacterial suppression and to sublethal doses of imidacloprid as an immune disruptor, both in isolation and in combination. Evaluated parameters included instar duration, total development time, mortality, pupal weight, and adult emergence rates. Results reveal that the response of *P. xylostella* to dysbiosis is not binary but dependent on stress intensity; low antibiotic concentrations accelerated development, whereas higher concentrations proved lethal. Crucially, combining the antibiotic with imidacloprid transformed adaptation states into metabolic collapse and developmental arrest, demonstrating that the insecticide, by suppressing antimicrobial peptide production, hinders the host's ability to modulate the bacterial community. Consequently, the findings indicate that *P. xylostella* actively modulates its microbiota, utilizing this plasticity to restore homeostasis when facing stressors.

Keywords: Neonicotinoids; Symbiosis; Insect immunity; AMP

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2. OBJETIVO.....</b>	<b>15</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>15</b>
3.1 Criação das lagartas.....	15
3.2 Bioensaio de concentração-mortalidade.....	16
3.3 Montagem dos grupos experimentais.....	16
3.4 Avaliação de parâmetros biológicos.....	17
3.5 Análises estatísticas.....	18
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>19</b>
4.1 Bioensaio de concentração-mortalidade.....	19
4.2 Desenvolvimento.....	20
4.2.1 Duração de instar.....	20
4.2.2. Tempo de desenvolvimento total.....	21
4.3 Mortalidade.....	23
4.4 Peso pupal.....	25
4.5 Emergência de adultos.....	26
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>35</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>41</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A microbiota de insetos pode ser dividida em duas categorias principais: os endossimbiontes, que habitam células ou órgãos especializados, e os ectossimbiontes, que ficam fora dessas células (Serrato-Salas e Gendrin, 2023). Os endossimbiontes estabelecem uma relação próxima com o hospedeiro, a ponto de, em alguns casos, não conseguirem ser cultivados fora dele, uma vez que podem perder parte do seu genoma por inativação ou deleção (Moya et al., 2008). A transmissão desses endossimbiontes é geralmente vertical, ou seja, ocorre da mãe para a prole, ou, no caso de insetos eussociais, por meio de contato entre os membros da mesma colônia, o que favorece a seleção das bactérias benéficas (Douglas, 2015). Os ectossimbiontes, embora não tenham uma relação íntima com os hospedeiros, podem habitar espaços internos do corpo do inseto, como o intestino médio ou até mesmo a hemocele. Ainda que não sejam estritamente necessários, estes microrganismos são benéficos para o hospedeiro e são adquiridos de forma horizontal, principalmente pela alimentação, pelo contato com outros indivíduos da mesma espécie ou por dejetos (Engel e Moran, 2013).

As principais funções desempenhadas pela microbiota podem ser divididas em dois grandes grupos: nutricionais e protetivas. A primeira função é a mais conhecida, microrganismos são capazes de fornecer diversos nutrientes aos seus hospedeiros, como vitaminas, aminoácidos essenciais, esteróis e até mesmo fixarem nitrogênio, seja por meio da produção direta dos compostos ou auxiliando a degradá-los (Engel e Moran, 2013; Douglas, 2015; Serrato-Sallas e Gendrin, 2023). As funções protetivas, envolvem diversos parâmetros, como lidar com a infecção de possíveis patógenos por meio de treinamento do sistema imunológico do hospedeiro (Engel e Moran, 2013), competição por recursos (Johnston e Rolff, 2015) ou ataque direto aos patógenos (Vorburger e Perlman, 2018). Há também a proteção contra toxinas, em que a microbiota é capaz de degradar potenciais compostos tóxicos como a cafeína (Ceja-Navarro et al., 2015) ou toxinas sintéticas (inseticidas), como reportado em *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) expostos a fenitrothion (Kikuchi e

Yumoto, 2013) e *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) expostas ao clorpirifós (Xia et al., 2018).

Douglas (2014) propõe que a evolução de Eukaryota estaria intimamente relacionada à interação com o microbioma, não apenas pela capacidade de habitar ambientes aeróbicos graças às mitocôndrias ou por serem autotróficos devido aos cloroplastos, mas também pelo fato de reduzirem seu escopo metabólico ao terceirizar a síntese de aminoácidos essenciais ou até mesmo a síntese de ácidos graxos, como em artrópodes. Em 2015 continuou seu trabalho, mas agora descrevendo os insetos como seres multiorganismo, uma vez que a aptidão desses animais está intimamente relacionada com o bom funcionamento da sua microbiota residente (Douglas 2015). Em 2024, Scott Gilbert propôs um novo conceito na biologia do desenvolvimento, a simpoiese. Nele, o indivíduo não seria resultado apenas das células zigóticas, mas o produto da interação de todas as espécies que lhe compõe. Dessa forma, não existiria a noção de “indivíduo biológico” sob nenhum parâmetro, sendo cada organismo um holobionte (superorganismo composto pelo hospedeiro e sua microbiota), com o estudo do desenvolvimento focando em um único genoma sendo visto como limitado (Gilbert, 2024).

Apesar desse complexo microrganismo/inseto ser cada vez mais explorado e corroborado, em lepidópteros há uma aparente contradição. Hammer et al. (2017) propuseram que lepidópteros não abrigariam nenhuma bactéria residente ou um microbioma central, estando o sucesso evolutivo associado ao fato de não necessitarem de microbiota para explorar seus ambientes, uma vez que possuem estratégias próprias de desintoxicação e digestão, como ruptura mecânica, enzimas digestivas produzidas endogenamente e pH intestinal alcalino. Essa capacidade de atuar independentemente pode ter um papel vestigial da microbiota, por meio da aquisição gênica de enzimas com funções relacionadas durante seu processo evolutivo. Sendo assim, não faria sentido “pagar alguém para fazer” e se expor a riscos de seus microrganismos se tornarem patogênicos ou de oportunistas aproveitarem um

ambiente propício. Dessa forma, Hammer propõe que não exista apenas holobiontes, como também indivíduos *stricto sensu* e essa relação de indivíduo com sua microbiota se basearia em um espectro de interações.

Phalnikar et al. (2019) sugerem que possa existir uma associação em Lepidoptera, mas essa não seria dietética, uma vez que a exclusão de uma das principais funções da microbiota com o uso de antibióticos, não permite a detecção de alguma bactéria oportunista ou patogêna que possa ser controlada pelo microbioma intestinal. Isso foi demonstrado em *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) que em tratamentos apenas com antibióticos, não apresentou diferença de organismos axênicos e o grupo com a microbiota (Devi et al., 2022). Entretanto, ao se explorar a infecção por *Bacillus thuringiensis* (Bt), foi reportado que se o inseto não tivesse contato com bactérias durante seu desenvolvimento, sua tolerância a Bt seria drasticamente reduzida, uma vez que elas teriam função na pré-ativação imunológica do organismo do hospedeiro (Broderick et al., 2010).

Shao (2024) propõe que as interações entre o microbioma e o seu hospedeiro dependem do contexto ambiental e ecológico que habitam, o que não pode ser elucidado em condições ideais utilizadas nos estudos laboratoriais. Isso explicaria o motivo de diferentes estudos com clados semelhantes demonstrarem resultados contraditórios, como em *S. litura* alimentada com folhas de mamona embebidas com estreptomicina e rifampicina não apresentarem alteração na sua tabela de vida (Devi et al., 2022), enquanto em *S. frugiperda* ao serem alimentadas com dieta artificial, em concentrações mais baixas dos antibióticos, demonstraram um menor peso corporal, menores taxas de sobrevivência e menor aptidão reprodutiva (Fu et al., 2024). Dessa forma, sugere-se que a simbiose em Lepidoptera não seja residente e que o inseto seja capaz de modular sua população simbiote conforme as demandas do contexto ecológico.

Além disso, a discussão deixa de considerar aquelas espécies que possuem uma alimentação restrita (olígafas e monófagas), como *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), que se alimenta de solanáceas, mas principalmente o tomate (Campos et al., 2017); *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), que consome cera de abelha (Kong et al., 2019); e *P. xylostella*, restrita a brássicas. Essas espécies, por mais que estejam em contextos ecológicos diferentes, são mais específicas e íntimas a sua alimentação que espécies polífagas como *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Os achados nessas espécies são contrários à hipótese do dilema de lepidóptera. Em *T. absoluta*, populações geográficas distintas mantêm a mesma diversidade alfa, caracterizando um microbioma residente (Zare Banadkuki et al., 2024), possuem células intestinais que abrigam bactérias (Santos et al., 2015) e uma comunidade bacteriana com mais de 20 grupos funcionais (Lateef et al., 2024). Similarmente, a microbiota de *G. mellonella* oferece proteção contra entomopatógenos (Johnston e Rolff, 2015) e apresenta translocação bacteriana para os ovócitos (Freitak et al., 2014), enquanto em *P. xylostella* observa-se fixação de nitrogênio *in vitro* (Indiragandhi et al., 2008) e presença de genes para celulase ausentes no genoma do hospedeiro (Xia et al., 2017). Dessa forma, é plausível sugerir que esse “dilema de Lepidoptera” evidencie não uma contradição, mas a natureza facultativa dessa simbiose, na qual o hospedeiro parece modular a comunidade microbiana para atender às demandas específicas impostas por sua dieta ou pelo ambiente. Assim, para compreender os serviços prestados por essa, é necessária a investigação de casos isolados sob diferentes interações.

Dentre os Lepidoptera, *P. xylostella*, também conhecida como traça-das-crucíferas, é um microlepidóptero oligófago que se alimenta especificamente de brássicas sendo considerado uma das pragas agrícolas mais destrutivas do mundo, podendo causar perdas de rendimento de até 90% em cultivos, somando mais de US\$ 4 bilhões de prejuízo anuais pelo mundo (Zalucki et al., 2012; Ahmed et al., 2022). Um dos principais motivos de tamanho

dano está na facilidade dessa espécie em desenvolver resistência a basicamente todas as classes de inseticidas modernos. Segundo o Banco de Dados de Resistência a Pesticidas de Artrópodes (APRD, 2026), essa espécie possui resistência a 104 ingredientes ativos únicos de inseticidas em 1.099 casos documentados e é classificada como a praga mais resistente a inseticidas do mundo. Essa resistência se estende aos bioinseticidas, incluindo 14 variantes de proteínas de *B. thuringiensis*, historicamente eficazes contra Lepidoptera (APRD, 2026).

Outros fatores para o sucesso dessa praga agrícola é seu ciclo de vida curto e alta fecundidade (Jaleel et al., 2019). A espécie possui apenas quatro instares que duram em média dois dias cada e um período de pupação com média de quatro dias, totalizando 12 dias de desenvolvimento pós-embrionário (Gu et al., 2022). Em comparação a outros lepidópteros considerados pragas agrícolas como *H. armigera* e *S. frugiperda* que concluem seu desenvolvimento em 30 a 60 dias (Kriticos et al., 2015; Bentes et al., 2024), sua capacidade de re-infestação nos campos de cultivo é ainda maior. Quando adultos, iniciam a maturidade sexual no segundo dia pós emergência, ovipositando por mais de 12 dias, com um pico no quarto dia, chegando a colocar 150 ovos em 24 horas (Ahmed et al., 2022).

Diferentes estudos investigaram a composição da microbiota de *P. xylostella*, sendo o filo mais representativo Proteobacteria, seguido de Firmicutes, sendo as famílias mais abundantes a Enterobacteriaceae (Proteobacteria: Enterobacteriales) e Carnobacteriaceae (Firmicutes: Lactobacillales) (Xia et al., 2013; 2017). O gênero *Wolbachia* também é encontrado entre os simbiossitos dessa espécie, caracterizado por manipular o comportamento e a biologia do hospedeiro, sendo transferido pela fêmea via ovócito, podendo induzir partenogênese e influenciar na fecundação com machos não infectados (Nation, 2022; Zhu et al., 2023). Ademais, diferente do que é descrito em outros lepidópteros, o perfil taxonômico dos simbiossitos se mantém relativamente estável em todos os estágios de vida, embora a diversidade seja maior na fase larval devido à demanda metabólica para degradar carboidratos

complexos das plantas (Xia et al., 2013). O estudo metagenômico de Xia et al. (2017) apontou diversas funções executadas pela microbiota de *P. xylostella*, como biodegradação xenobiótica, metabolismo de terpenóide, digestão de celulose e hemicelulose, síntese de histidina e treonina. Além da nutrição, a microbiota pode influenciar diretamente a resistência a inseticidas. O gênero *Enterococcus* foi capaz de aumentar a resistência de *P. xylostella* a clorpirifós em 23%, enquanto a presença de *Serratia* teve efeito oposto, reduzindo-a na mesma proporção (Xia et al., 2018). Isso sugere que a composição da comunidade intestinal pode ser um fator determinante na capacidade da praga de sobreviver à pesticidas.

A modulação da microbiota intestinal em *P. xylostella* frente a diferentes contextos ambientais possui evidências robustas. Han et al. (2025) demonstraram que, embora os 50 clados bacterianos principais se mantenham estáveis, a abundância varia conforme a demanda fisiológica. Neste sentido, nos ovos, o gênero *Corynebacterium* está altamente presente e relacionado à síntese de aminoácidos. Nos primeiros estágios larvais, *Ruminococcus* e *Prevotella*, conhecidos na decomposição de paredes celulares e polissacarídeos, são altamente presentes no intestino. Enquanto no IV instar, a abundância de *Massilia* e *Comamonas* se torna superior, conhecidas por sintetizar compostos antibacterianos e degradar compostos aromáticos. Já em pupas, estágio em que não há como se alimentar, *Enterobacter* se torna mais abundante, associada à síntese de reguladores do metabolismo de cofatores e vitaminas. Ou seja, a abundância de diferentes bactérias é alterada dependendo do contexto do desenvolvimento em que o animal se encontra. Contudo, essa dinâmica pode ser alterada por fatores antrópicos. Li et al. (2025) demonstraram que a exposição ao inseticida clorpirifós favorece o crescimento de *Enterococcus mundtii*, o que aumenta a resistência da traça a esse químico. Entretanto, esse aumento populacional desse mesmo simbionte torna o inseto mais vulnerável ao Bt (Chen et al., 2024).

O sistema imunológico de insetos é formado apenas por uma resposta inata, que consiste em uma resposta física, celular e humoral (Heddi e Zaidman-Rémy, 2018). A última é formada principalmente por peptídeos antimicrobianos (AMP) e espécies reativas de oxigênio (ERO), que apesar de estarem presentes em níveis basais nos tecidos do organismo, são ativadas rapidamente frente a padrões moleculares associados a microrganismos (MAMPs), como peptidoglicanos e proteínas de ligação de Gram-negativas (Ferrarini et al., 2022). Em um cenário de interações simbióticas com microrganismos, a preservação da relação precisa ser feita com cuidado, para evitar que o hospedeiro ataque seus parceiros, quatro principais estratégias são usadas: i) capacidade de diferenciar MAMPs dos simbiontes e de patógenos, ii) formação de biofilme que resulta em tolerância imunológica, iii) compartimentalização dos simbiontes em órgãos especializados como bacteriócitos e iv) desativação de vias imunológicas em locais de residência da comunidade simbiótica, como no intestino (Heddi e Zaidman-Rémy, 2018; Ferrarini et al., 2022).

Para que o indivíduo seja capaz de selecionar quais parceiros são necessários para o auxiliar a enfrentar os desafios ambientais, é necessário tornar o microambiente interno favorável para que estes prevaleçam sobre os outros. Assim, AMPs são utilizados como reguladores da microbiota (Douglas, 2015; Simhadri et al., 2017; Sarvari et al., 2020). Existem diversos tipos de AMPs que atuam em diferentes estruturas bacterianas, fazendo com que algumas bactérias sejam mais resistentes que outras, permitindo que a expressão desses peptídeos não resulte em axenia do intestino, mas sim uma regulação populacional (Sarvari et al., 2020). Contudo, essa dinâmica pode ser alterada mediante estímulos externos como infecção por algum patógeno ou xenobiótico que cause disrupção na comunidade microbiana e permitindo a patogenicidade de alguma espécie outrora simbiote (Vonaesch et al., 2018). Essa perturbação do microambiente pode causar um processo inflamatório que promove a

produção de AMP de forma exacerbada ao ponto de danificar a microbiota e, com isso, ter consequências fisiológicas irreversíveis (Arias-Rojas et al., 2023).

Dentre os xenobióticos com potencial para regular o sistema imune está o imidacloprido, primeiro inseticida neonicotinóide comercial, sendo um dos mais conhecidos e aplicados principalmente contra pragas sugadoras como pulgões, trips e cigarrinhas (Sheets, 2010). Atua no sistema nervoso do inseto através do desequilíbrio da concentração do íon cálcio por meio do receptor nicotínico de acetilcolina, levando a seu acúmulo em sinapses, causando disfunções motoras, sensoriais e morte (Pang et al., 2020). No entanto, vários estudos relatam que esse inseticida é capaz de alterar o sistema imunológico do inseto, impactando a expressão de genes envolvidos na resposta imune, principalmente aqueles relacionados à produção de AMPs (Martelli et al., 2020). Por esta razão, o imidacloprido é também um ativador imune em baixas concentrações em organismos que não foram imunoativados (Malladi et al., 2023).

## **2. OBJETIVO**

Considerando que a homeostase intestinal depende de um equilíbrio dinâmico e a disbiose pode ocorrer em diferentes níveis de severidade, o objetivo deste trabalho é modular o microambiente intestinal de *P. xylostella* utilizando dois mecanismos distintos de estresse: a exposição ao imidacloprido e a um gradiente de concentrações do antibiótico tetraciclina. Assim, busca-se investigar como as resultantes configurações na estrutura da microbiota impactam o desenvolvimento e a sobrevivência do inseto.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Criação das lagartas**

Lagartas de quarto instar de *P. xylostella* foram coletadas da criação do Laboratório de Enzimologia do Instituto de Biologia Aplicada à Agricultura e Pecuária (BIOAGRO) da

Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil e mantidas em potes plásticos a  $27 \pm 1$  °C e  $70\% \pm 5\%$  de umidade relativa e alimentadas *ad libitum* com folhas de couve (*Brassica oleracea*, Brassicaceae) para compor a população usada nos testes.

### **3.2 Bioensaio de concentração-mortalidade**

Para definir a concentração utilizada nas exposições posteriores, foi realizado um bioensaio de toxicidade de imidacloprido em lagartas de II instar por 48h (IRAC, 2011). As folhas de couve foram cortadas em quadrados de 9 cm<sup>2</sup>, imersas em imidacloprido (Provado<sup>®</sup> 200, suspensão concentrada, 200 g/L, Sumitomo Chemical Brasil, São Paulo, SP, Brasil) por 10 minutos e posteriormente secas ao ar nas seguintes concentrações: 150, 250, 600, 1200 e 2500 mg/L (Rodríguez-Rodríguez et al., 2021). As folhas do grupo controle foram imersas em água destilada por 10 minutos. Os espécimes foram individualizados, com 10 para cada concentração.

### **3.3 Montagem dos grupos experimentais**

Os insetos de primeiro instar foram separados em dois grupos: aqueles programados para receber a concentração de imidacloprido no segundo instar e aqueles que não seriam expostos. Estes últimos foram utilizados como controle e para o tratamento com o antibiótico cloridrato de tetraciclina (cápsulas de 500 mg, Prati-Donaduzzi, Toledo, PR, Brasil;) compondo o grupo TETR. A exposição com tetraciclina se baseou em três concentrações provenientes da diluição da concentração descrita como viável para experimentos por Lin et al. (2015): 3 mg/ml, 0,3 mg/ml e 0,03 mg/ml. Para exposição ao imidacloprido foi utilizada a CL<sub>20</sub> (278.46 mg/L) calculada anteriormente, adicionada nos insetos tratados apenas com o inseticida (IMIDA) e nos submetidos a estresse, que também levavam uma das três concentrações de tetraciclina (ESTR). Ao final, o experimento foi montado em duas réplicas temporais com oito tratamentos separados em quatro replicatas com 10 indivíduos em cada (n=320) conforme a Tabela 1

**Tabela 1.** Grupos experimentais de *Plutella xylostella*

Tratamento	Alimentação
Controle	Folhas sem tratamento
IMIDA	Folhas com CL <sub>20</sub> de imidacloprido por 48h no segundo instar
TETRC1	Folhas com 0,03 mg/mL de tetraciclina
TETRC2	Folhas com 0,3 mg/mL de tetraciclina
TETRC3	Folhas com 3 mg/mL de tetraciclina
ESTRC1	Folhas com 0,03 mg/mL de tetraciclina + CL <sub>20</sub> de imidacloprido por 48h no segundo instar
ESTRC2	Folhas com 0,3mg/mL de tetraciclina + CL <sub>20</sub> de imidacloprido por 48h no segundo instar
ESTRC3	Folhas com 3 mg/mL de tetraciclina + CL <sub>20</sub> de imidacloprido por 48h no segundo instar

### 3.4 Avaliação de parâmetros biológicos

Cada um dos tratamentos foi avaliado nos seguintes parâmetros biológicos: duração de cada instar, tempo de desenvolvimento larval e total (larva-adulto), mortalidade por instar e total, peso pupal e taxa de emergência de adultos.

A duração de cada instar e tempo de desenvolvimento total foi calculado em dias necessários para 50% dos indivíduos de cada repetição completarem a muda para o instar subsequente, por interpolação linear sendo chamado de DT<sub>50</sub> (Chi et al., 2020). A metodologia foi escolhida para mitigar o viés de sobrevivência gerado por médias aritméticas, pois confere maior robustez aos índices de desempenho populacional, permitindo registrar uma trava no desenvolvimento (quando a transição não atinge o limiar de 50%) e os atrasos fisiológicos acumulados. Em experimentos de estresse subletal e de desenvolvimento que possuem alta taxa de mortalidade, a média aritmética dos sobreviventes tende a subestimar o tempo real de desenvolvimento da população, uma vez que considera apenas os indivíduos fisiologicamente mais aptos a lidar com a interferência dos xenobióticos.

A fórmula utilizada para a interpolação linear do  $DT_{50}$  foi:

$$DT50 = Ta + (Tb - Ta) \times \frac{50 - Pa}{Pb - Pa}$$

onde,

Ta = Tempo (dia de observação) anterior onde a porcentagem acumulada é menor que 50%

Tb = Tempo (dia de observação) posterior onde a porcentagem acumulada é maior que 50%.

Pa = Porcentagem acumulada de transição no tempo Ta.

Pb = Porcentagem acumulada de transição no tempo Tb.

O peso pupal foi registrado individualmente em balança analítica de precisão AY220 (Shimadzu do Brazil Comércio Ltda), à medida que os insetos atingiram esse estágio de desenvolvimento. O tempo pupal foi medido em dias, do momento da pupação até a emergência do adulto. A taxa de emergência foi calculada como a proporção de pupas que completaram a metamorfose com sucesso. Sendo calculada por:

$$Taxa\ de\ emergência = \frac{Adultos\ Emergidos}{Pupas\ formadas} \times 100$$

### 3.5 Análises estatísticas

A análise de concentração-mortalidade foi realizada através da utilização de um modelo binomial Probit. O peso pupal, emergência e os dados de duração de instar  $DT_{50}$  foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Levene). Posteriormente foram analisados por meio de Modelos Lineares Generalizados (GLM) de família Gamma (link log). Inicialmente, modelos lineares generalizados mistos (GLMM) foram ajustados, incluindo o pote de criação como efeito aleatório, a fim de avaliar a existência de dependência entre observações. Como o efeito aleatório não explicou variação adicional relevante e não foi detectada superdispersão nos resíduos, os dados foram analisados por meio de modelos lineares generalizados (GLM). Quando qualquer teste detectou diferenças significativas, as médias foram comparadas *post-hoc* pelo teste de Tukey (HSD)

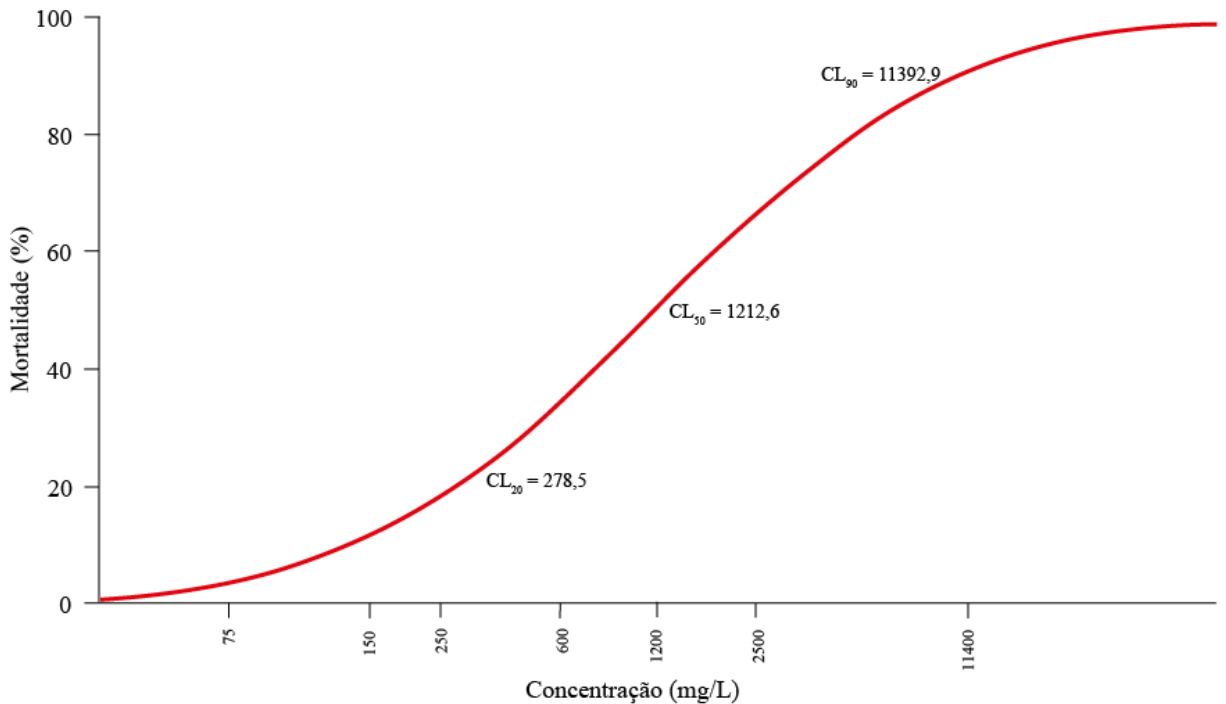
(para dados paramétricos) ou pelo teste de Dunn (para dados não-paramétricos). A mortalidade total foi analisada por meio de modelos lineares generalizados mistos (GLMM), com distribuição binomial. O tratamento foi considerado efeito fixo e o pote de criação como efeito aleatório. O efeito global dos tratamentos foi avaliado por teste de razão de verossimilhança, e as comparações múltiplas realizadas com estimativas marginais ajustadas pelo método de Tukey. A mortalidade por ínstar foi avaliada por meio de análise de sobrevivência, utilizando o estimador de Kaplan–Meier, que permite estimar a probabilidade de ocorrência do evento ao longo do tempo. Indivíduos que não completaram a transição para o próximo estágio durante o período experimental foram tratados como dados censurados.

Todas as análises foram realizadas no software R (R Core Team, versão 4.4.2, 2024), e um nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ) foi adotado.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Bioensaio de concentração-mortalidade**

A análise Probit revelou que o modelo de concentração-mortalidade foi ajustado ( $\chi^2 = 0.635$ , gl = 3, Intercepto = 0.573, p = 0.670) e permitiu a estimação dos pontos toxicológicos relevantes do imidacloprido a lagartas de II instar de *P. xylostella* (Figura 1). A concentração letal média (CL<sub>50</sub>) foi 1212.6 mg/L, e a CL<sub>20</sub> foi 278,5 mg/L. Além disso, a mortalidade no controle foi nula.



**Figura 1.** Análise Probit mostrando as principais concentrações letais (CL) de imidacloprido na população de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae).

## 4.2 Desenvolvimento

### 4.2.1 Duração de instar

O tempo de desenvolvimento entre os ínstar de *P. xylostella* foi significativamente alterado pelos tratamentos para a manipulação da microbiota, apresentando uma alteração significativa nos primeiros ínstar de desenvolvimento (Figura 2). No primeiro instar, as larvas expostas ao IMIDA ( $3,73 \pm 0,45$  dias) e ESTRC1 ( $3,81 \pm 0,10$  dias) foram similares ao controle ( $3,80 \pm 0,41$  dias) com os menores tempos, com um  $DT_{50}$  médio de 3 dias. Os insetos dos tratamentos TETRC1 ( $5,00 \pm 0,00$  dias), TETRC2 ( $5,00 \pm 0,57$ ), ESTRC2 ( $5,00 \pm 1,00$ ) e TETRC3 ( $5,40 \pm 0,20$ ) apresentaram um resultado intermediário, com  $DT_{50}$  de 5 dias. O atraso tornou-se mais acentuado na combinação dos agentes estressores em ESTRC3  $6,12 \pm 0,65$  dias de desenvolvimento.

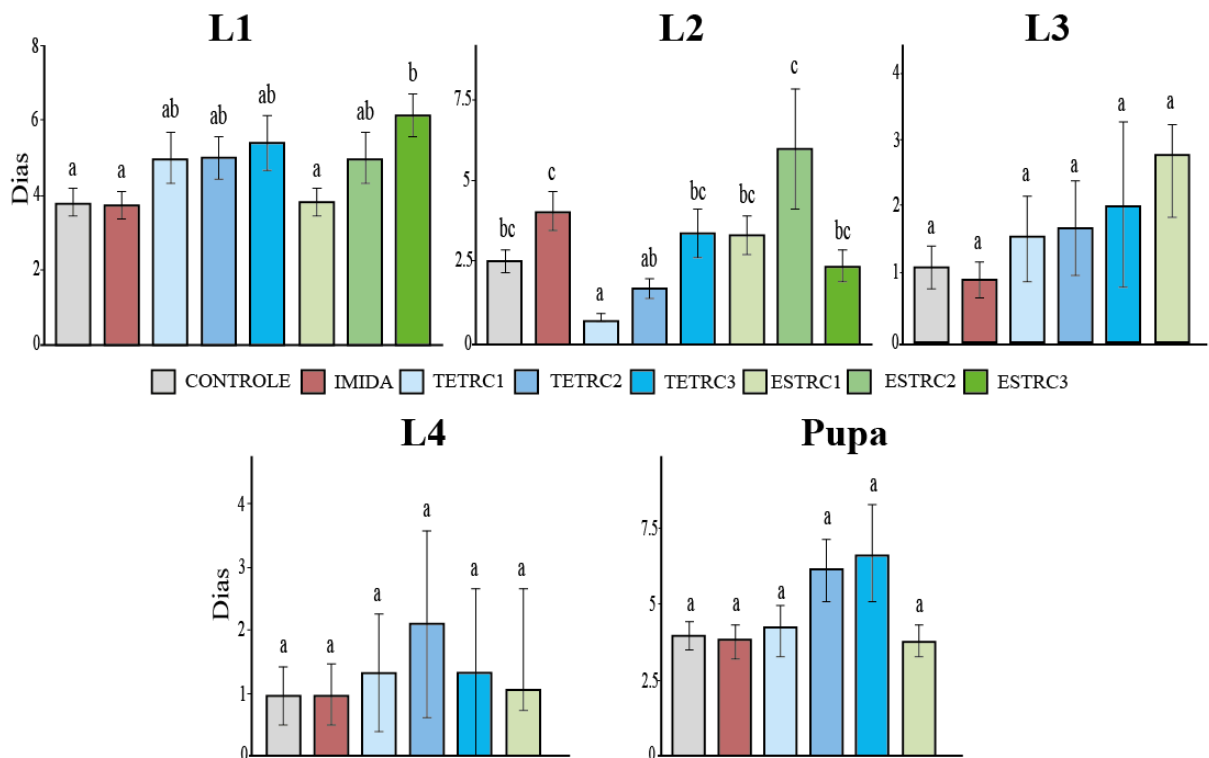
A partir do segundo instar, as diferenças de transição evidenciaram uma sobrecarga fisiológica (Figura 2). Os insetos dos tratamentos TETRC3 ( $3,35 \pm 0,55$  dias), ESTRC1 ( $3,31$

$\pm 0,65$  dias) e ESTRC3 ( $2,30 \pm 0,30$  dias) foram similares ao controle ( $2,42 \pm 0,35$  dias). Os extremos foram observados por insetos expostos a baixa concentração de antibiótico como TETRC1 com  $1 \pm 0,33$  dia e IMIDA e ESTRC2 que atrasaram seu desenvolvimento por  $4,05 \pm 0,09$  e  $6 \pm 0$  dias, respectivamente.

Notadamente, nos estágios de larvais III e IV, os insetos dos tratamentos ESTRC2 e ESTRC3 apresentaram interrupção do desenvolvimento, não sendo possível determinar o  $DT_{50}$  devido à mortalidade superior a 50% antes da conclusão da ecdise. Nos demais tratamentos, os tempos de duração apresentaram médias numericamente superiores ao controle, mas compartilhando similaridade estatística com as demais concentrações (Figura 2), caracterizando um impacto subletal progressivo no desenvolvimento. O mesmo seguiu na pupa, com uma dilatação temporal em TETRC2 e TETRC3, mas que foram semelhantes ao controle (Figura 2).

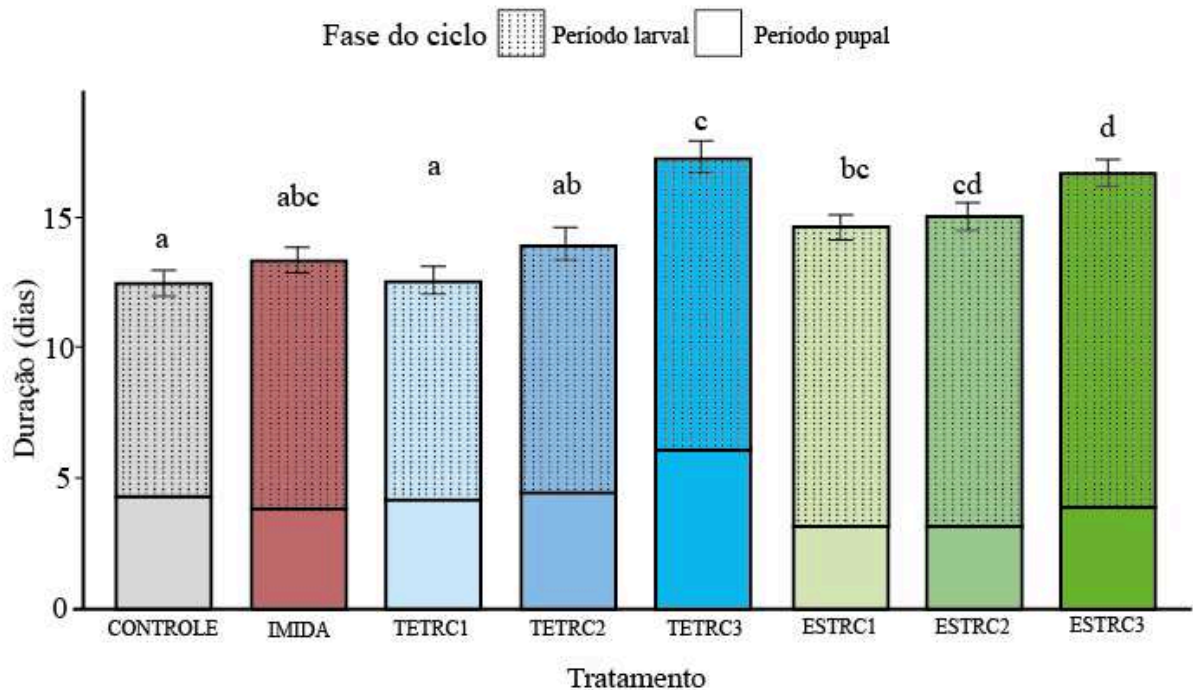
#### **4.2.2. Tempo de desenvolvimento total**

A duração das fases imaturas de *P. xylostella* apresentou variações significativas em resposta aos tratamentos (Figura 3). Os tempos de desenvolvimento apresentaram um escalonamento, onde os insetos submetidos a concentrações intermediárias de tetraciclina representaram pontos de transição entre o padrão basal e os extremos de atraso. No período larval, controle completou a fase em  $8,25 \pm 0,36$  dias com prolongamento na segunda concentração de antibiótico TETRC2 ( $9,60 \pm 0,40$  dias), subindo para  $11,33 \pm 0,40$  dias no grupo TETRC3.



**Figura 2** - Duração dos estádios larvais de 1 a 4 (L1-L4) de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) sob diferentes tratamentos. Os dados foram avaliados pelo tempo médio da população ( $DT_{50}$ ), submetidos a Modelos Lineares Generalizados (GLM) de família Gamma (link log). As barras representam a média  $\pm$  erro padrão. Letras idênticas sobre as barras indicam ausência de diferença pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ )

No desenvolvimento total de larva-adulto, os insetos expostos ao inseticida ( $13,6 \pm 0,52$  dias) e concentração baixa de antibiótico (ESTRC1,  $14,9 \pm 0,52$  dias) foram maiores que no controle ( $12,7 \pm 0,52$  dias), com maiores períodos no TETRC3 ( $17,6 \pm 0,60$  dias) e ESTRC3 ( $17,0 \pm 0,52$  dias) (Figura 3).

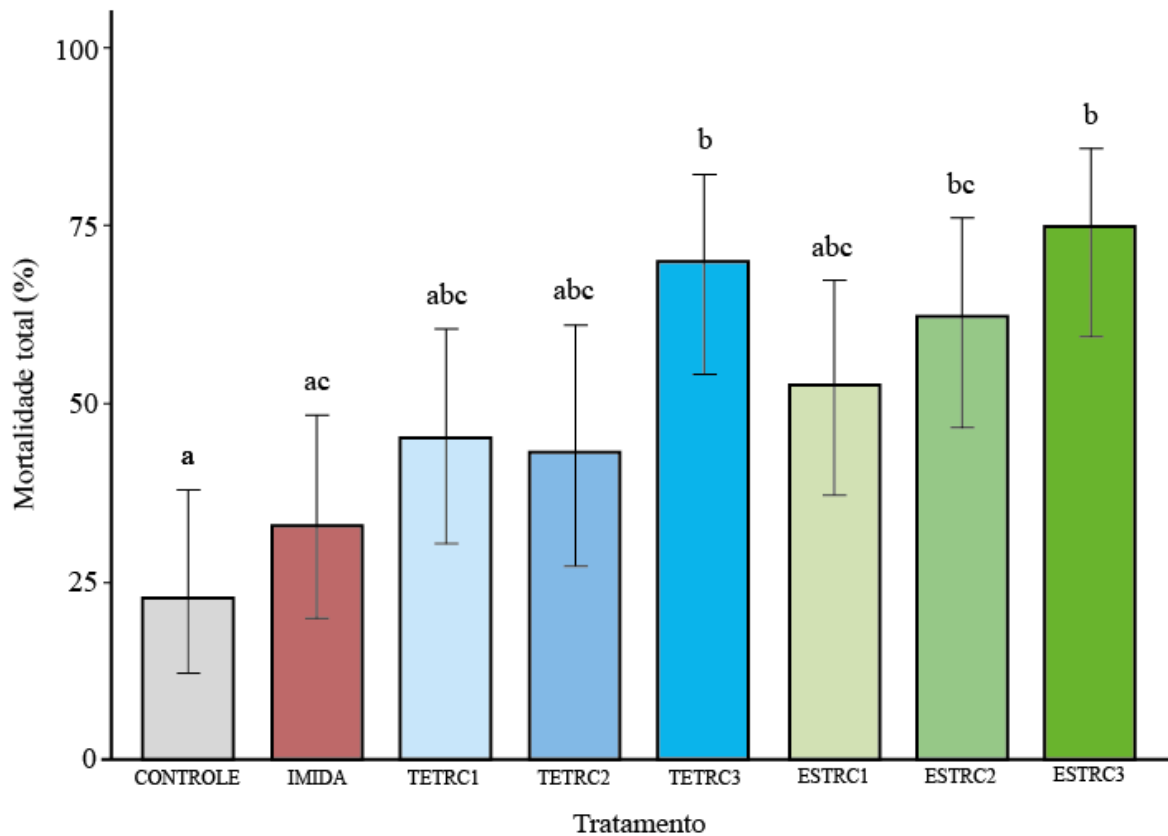


**Figura 3** - Duração do desenvolvimento total (larva-adulto) de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) submetida a diferentes tratamentos. As barras representam a média  $\pm$  erro padrão. Letras idênticas sobre as barras indicam ausência de diferença pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

### 4.3 Mortalidade

#### 4.3.1 Mortalidade total

A mortalidade total diferiu significativamente entre os tratamentos ( $p < 0,001$ ). Os insetos dos tratamentos com inseticida e as duas menores concentrações de tetracina apresentaram mortalidade similar ao controle, enquanto os insetos dos tratamentos TETRC3 e ESTRC3 apresentaram as maiores taxas de mortalidade com 75% e 70%, respectivamente (Figura 4). Insetos dos tratamentos ESTRC1 e ESTRC2 não diferiram do controle ou do controle positivo, nem dos tratamentos de maior mortalidade (Figura 4).

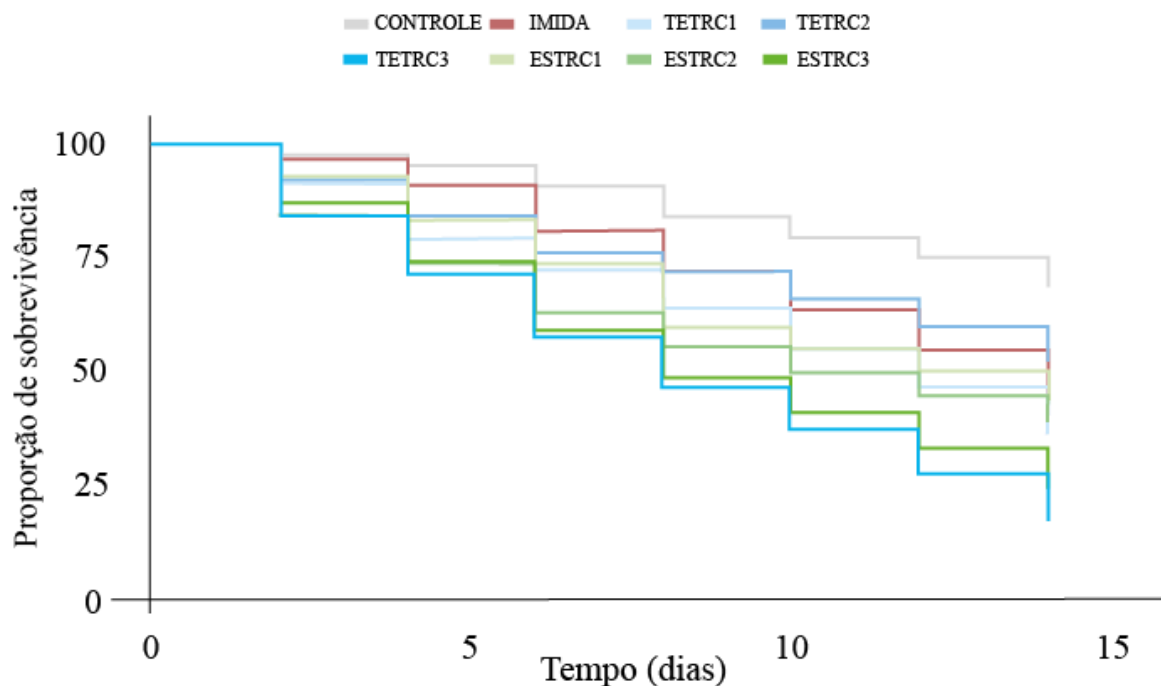


**Figura 4:** Mortalidade total em *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) exposta a diferentes estressores de microbiota. As barras representam a média  $\pm$  erro padrão. Letras idênticas indicam ausência de diferença pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

#### 4.3.2. Mortalidade por instar

A mortalidade de *P. xylostella* foi significativamente influenciada pelos tratamentos, conforme demonstrado pela análise de sobrevivência de Kaplan-Meier (Log-rank test;  $X^2 = 31,45$ ;  $gl = 7$ ;  $p < 0,0001$ ; Figura 5). As curvas de sobrevivência apresentaram respostas diferentes aos estressores aplicados. O tratamento ESTRC3 (Imidacloprido  $CL_{20}$  + Tetraciclina C3) apresentou o impacto mais imediato, com um declínio acentuado na probabilidade de sobrevivência entre das larvas do primeiro e quarto dia de experimento, correspondendo aos ínstares I e II, respectivamente, (Figura 5), caracterizando um perfil de letalidade aguda. Em contrapartida, os insetos dos tratamentos com concentrações baixas de

antibióticos, TETRC1 e TETRC2, apresentaram uma trajetória de sobrevivência mais estável nos instares iniciais, mas os óbitos foram distribuídos de forma gradual entre o terceiro e o quarto instar larval (dias 5 a 10; Figura 5). No grupo tratamento isolado com inseticida (15 dias), similar ao controle (11 dias; figura 5), concentrando-se na transição para a fase de pupa ou durante a emergência do adulto. Adicionalmente, os insetos do tratamento ESTRC1 apresentaram desvio na curva de sobrevivência superior ao registrado para aqueles expostos isoladamente ao inseticida (Figura 5). Os insetos do tratamento TETRAC3 apresentaram a maior mortalidade, que ocorreu distribuída por todo o período, não possuindo picos de mortalidade (Figura 5).

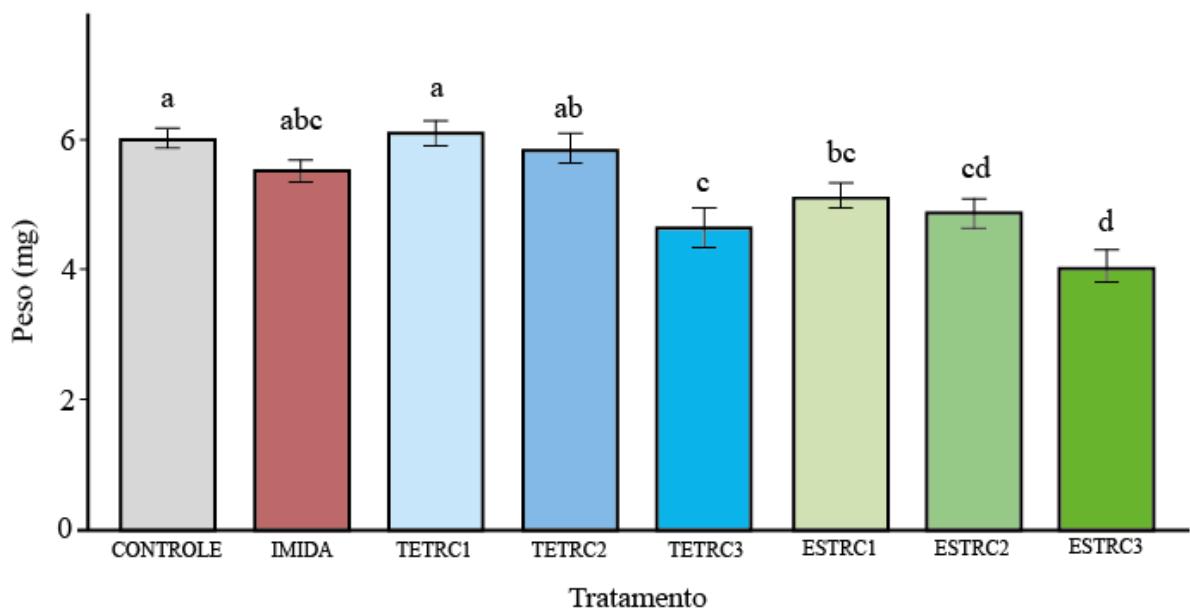


**Figura 5** - Curvas de sobrevivência de larvas de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) submetida a diferentes tratamentos com o inseticida imidacloprido e o antibiótico tetraciclina.

#### 4.4 Peso pupal

O peso pupal de *P. xylostella* foi significativamente influenciado pela manipulação da microbiota larval ( $p < 0,05$ ; Figura 6). O grupo controle apresentou o maior peso médio (6,14

$\pm 0,17$  mg), e observou-se uma redução consistente. Os insetos de todos os tratamentos com imidacloprido + tetraciclina (ESTR C1, C2 e C3) e da maior concentração de tetraciclina, apresentaram menor peso que aquelas do controle ( $6,14 \pm 0,17$  mg; Figura 6). As pupas do tratamento ESTRC3 apresentaram o impacto mais severo, com peso de  $4,12 \pm 0,25$  mg, o que representa uma queda de 32,9% na biomassa pupal.

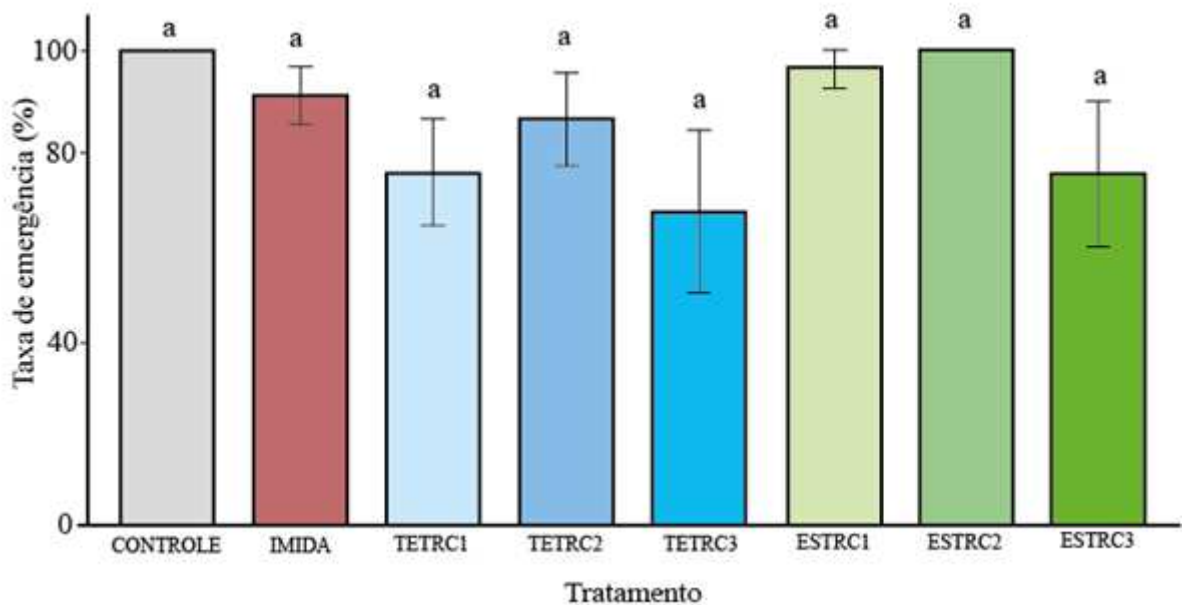


**Figura 6:** Peso pupal em *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) exposta a diferentes estressores de microbiota. As barras representam a média  $\pm$  erro padrão. Letras idênticas sobre as barras indicam ausência de diferença pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

#### 4.5 Emergência de adultos

A viabilidade pupal de *P. xylostella*, expressa pela taxa de emergência de adultos, foi significativamente impactada pelos tratamentos (Razão de verossimilhança;  $X^2 = 24,98$ ; gl = 7;  $p < 0,001$ ; Figura 7). Entretanto, o teste de comparações múltiplas não segregou os tratamentos em grupos distintos (Tukey;  $p > 0,05$ ), indicando que embora exista um impacto global dos estressores sobre a emergência, a variabilidade intrínseca deste parâmetro impediu

a detecção de diferenças estatísticas par a par. A viabilidade de 100% encontrada no controle diminuiu conforme o aumento da severidade dos tratamentos. Observou-se uma tendência biológica de redução no sucesso de emergência nos grupos submetidos aos maiores agentes estressores, com destaque para os tratamentos TETRAC3 (64,19%  $\pm$  18,08) e ESTRC3 (72,25%  $\pm$  15,93). Embora o teste de comparações múltiplas de Tukey não tenha discriminado diferenças estatísticas entre os pares de médias ( $p > 0,05$ ), devido à alta variação intragrupal e ao fenômeno de separação completa no grupo controle, o teste de razão de verossimilhança (APÊNDICE B) confirmou que o impacto do antibiótico na microbiota e o nível de estresse larval são determinantes para a conclusão do ciclo biológico do inseto.



**Figura 7:** Emergência de adultos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) expostas a diferentes estressores de microbiota. As barras representam a média  $\pm$  erro padrão. Letras idênticas sobre as barras indicam ausência de diferença pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

## 5. DISCUSSÃO

As variações no desenvolvimento de larvas de *P. xylostella* expostas à diferentes estressores, corrobora a hipótese que o desenvolvimento de lepidópteros é caracterizado por ser plástico, não sendo preso a número de instares pré determinados ou número de dias fixos

dentro de cada instar (Higgins & Rankin, 1996). Essa pode ser uma estratégia adaptativa que permite ao indivíduo ajustar a duração de seus ínstaes em resposta à qualidade nutricional e ao estresse ambiental.

Os insetos do grupo TETRC1, com exposição a menor concentração do antibiótico, romperam o equilíbrio a partir do segundo instar, concluindo-o em apenas um dia, enquanto o controle demorou cerca de 2,5 dias. Essa situação sugere dois tipos de reação: na primeira, a manipulação da microbiota mediante a baixa concentração de tetraciclina ocasionou uma condição ótima em que a comunidade selecionada seria capaz de fornecer os nutrientes necessários em alta concentração, caracterizando um efeito hormético, fenômeno caracterizado em que doses baixas de xenobióticos estimulam processos biológicos enquanto altas doses os inibem (Guedes & Cutler, 2014), o que acelera o tempo de desenvolvimento, assim como relatado em *T. absoluta* expostas à concentração subletal CL<sub>10</sub> do inseticida tetraniliprole (Ullah et al., 2025). Na segunda situação, a população pode ter utilizado uma estratégia de escape biológico, em que a baixa concentração de antibiótico ocasionou algum déficit nutricional, com o indivíduo investindo em realizar a mudança de instar para encontrar melhores condições daquelas de L2. Esse evento é descrito em mudanças de estágio de vida, em que a pressão ambiental acelera o desenvolvimento para atingir a maturidade mais rapidamente, situação que ocorre com a própria *P. xylostella* se o padrão nutricional da planta hospedeira é baixo (Golizadeh et al., 2009). Independente de qual situação tenha ocorrido, larvas de *P. xylostella* expostas a baixa concentração de tetraciclina apresentam alteração não apenas da comunidade bacteriana, mas também do desenvolvimento.

Em contrapartida, larvas de *P. xylostella* expostas somente a concentração subletal do imidacloprido apresentam prolongamento do segundo instar, o que pode ocorrer quando o indivíduo não consegue mitigar a intoxicação mediante a algum xenobiótico, levando a alocação de energia para processos de desintoxicação (Guedes et al., 2016), ocasionando no

atraso do desenvolvimento. A inibição do gene *shadow* (produtor de uma enzima do complexo Citocromo P450) em *S. frugiperda* demonstrou o envolvimento desse gene no processo de ecdise ao ativar a rota metabólica do hormônio 20-hidroxicdisona (Wu et al., 2024). Dessa forma, como a intoxicação por imidacloprido ativa vias de detoxificação que compartilham rotas e competem por metabólitos no complexo P450 (Hu et al., 2014; Martelli et al., 2020), até que a detoxificação esteja completa, a ativação das vias de ecdise pode ser insuficiente para promover a muda.

As larvas de *P. xylostella* do tratamento ESTRC2 permaneceram 6 dias no segundo ínstar, indicando que o somatório do estresse da disbiose junto ao agente químico pode ter gerado estresse fisiológico que impediu o indivíduo de metabolizar de forma efetiva o xenobiótico, atrasando ainda mais o desenvolvimento. Isso pode ter ocorrido porque diferentes concentrações de tetraciclina afetam a comunidade microbiana de formas diferentes, como observado em *P. xylostella* infectadas com *Wolbachia* com diferentes concentrações de deste antibiótico (Zhu et al., 2023). Desta forma, a concentração intermediária de tetraciclina somada à ação do imidacloprido pode ter gerado um ambiente de colonização não favorável às comunidades bacterianas que pudessem prestar algum serviço naquele ínstar larval.

Em larvas de *P. xylostella* nos terceiro e quarto estágios do desenvolvimento parecem ter atingido o limite da capacidade de adaptação nos tratamentos ESTRC2 e ESTRC3 em que o atraso no desenvolvimento observado anteriormente evoluiu para um colapso populacional caracterizado por uma trava de desenvolvimento. Esse evento tem sido atribuído a um comprometimento metabólico que impede que os indivíduos realizem a ecdise, provavelmente por não atingirem o limiar de peso crítico e o pico hormonal de ecdisona necessários para sinalizar a muda (Nation, 2022), permanecendo presos neste estágio até a sua eventual morte. Entretanto, essas larvas no tratamento TETRC3 também apresentaram um limiar de

mortalidade total maior que 50% não demonstraram essa trava no desenvolvimento, pois a morte dos indivíduos ocorreu de forma constante em todos os ínstaes. Essa situação indica que o sinergismo entre a perda da microbiota e a exposição química é letal, com o indivíduo tentando compensar o estresse atrasando os ínstaes iniciais, mas sucumbindo pela exaustão energética ou patogenicidade dos simbioses selecionados, o que precisa ser avaliado em estudos adicionais. Evento semelhante foi relatado em *S. frugiperda*, quando a microbiota foi perturbada por estreptomicina resultando em aumento de bactérias oportunistas do gênero *Pseudomonas* em detrimento de simbioses benéficos como *Enterococcus*, ocasionando um atraso de 27% no tempo de desenvolvimento larval (Mason et al., 2022).

A análise da dinâmica de mortalidade sugere que a disrupção da microbiota em larvas de *P. xylostella* pode atuar como um agente estressor, uma vez que os tratamentos apenas com o antibiótico apresentam níveis de variação superiores ao controle, com valor máximo de mortalidade (75%) na concentração mais alta. O imidacloprido pode agir de duas formas, ele atua depletando a energia do indivíduo devido à detoxificação (Hu et al., 2014), além de desbalancear a produção de AMPs (Martelli et al., 2020) que poderia estar controlando a disbiose causada pela tetraciclina, já que AMPs específicos são selecionados para conter patógenos que outrora eram simbioses. O silenciamento do gene *PxPGRP4*, que ativa a via de produção desses peptídeos em *P. xylostella*, ocasiona uma disbiose intestinal que altera toda a composição microbiana (Li et al., 2025). Neste estudo, a segunda hipótese se torna mais crível, pois os insetos expostos apenas ao imidacloprido apresentaram mortalidade similar ao controle, sugerindo que a mortalidade não é causada pela toxicidade direta do inseticida, mas sim dos efeitos negativos na modulação do sistema imune que ele causa. Insetos dos tratamentos ESTRC2 e ESTRC3 apresentaram 60% a 70% de mortalidade, provavelmente devido ao somatório dos efeitos estressores do antibiótico e do inseticida que pode ter selecionado comunidades bacterianas simbióticas diferentes das que outrora

forneciam nutrientes para o desenvolvimento do animal, o que precisa ser avaliado em estudos adicionais sobre a composição da microbiota intestinal.

Esse somatório de efeitos é corroborado com os dados de peso pupal. Mesmo aqueles indivíduos que sobreviveram a todo o desenvolvimento e conseguiram atingir o estágio pupal, demonstraram um comprometimento metabólico, traduzido em alterações no desenvolvimento. Neste sentido, larvas dos tratamentos TETRC1 e TETRC2 ultrapassaram a disbiose gerada por todo seu ciclo de vida e terminaram o período larval com o mesmo tempo e peso do controle, mesmo com aquelas do primeiro tratamento acelerando seus ínstares iniciais. Porém, larvas dos tratamentos TETRC3, ESTRC1, ESTRC2 e ESTRC3 apresentaram peso pupal abaixo do controle, com o último possuindo o menor peso. Esta perda de peso prejudica o inseto durante a metamorfose, que demanda uma alta taxa energética, influenciando no fenótipo e no desempenho da população (Zhao, 2020). Apesar da separação entre os tratamentos não ter ocorrido, aparentemente por limitações dos testes estatísticos, as taxas de emergência em TETRC3 e ESTRC3 estão de acordo com o déficit nutricional que esses indivíduos sofreram, com apenas 64% dos sobreviventes emergindo como adultos no primeiro 72% no segundo tratamento.

A história contada por estudos de coorte, quando se segue à população por todo seu tempo de desenvolvimento, é ditada pelos sobreviventes. Quando estudos apontam que "não há diferenças significativas" nas tabelas de vida, frequentemente ignoram que uma parcela da população pereceu e o que está sendo analisado é apenas um fenótipo selecionado e resistente, não a realidade completa do tratamento (Chi et al., 2020). Para verificar essa questão em *P. xylostella*, esse estudo avaliou como concentrações consideradas baixas de antibiótico quando comparadas às que a literatura propõe como viáveis ou ideais, podem impactar algum aspecto da vida do inseto. Entretanto, o "sim ou não" para a presença de microbiota e seu impacto é uma resposta vaga. Nos insetos expostos apenas a tetraciclina, a concentração de  $C1 = 0,03$

g/mL apesar de sozinha não ter alterado a biologia do indivíduo, acelerou a duração de um instar inteiro para apenas um dia, sugerindo que, em situações de estresse leve, *P. xylostella* consegue retornar a homeostase nos instares subsequentes, provavelmente modulando sua comunidade microbiana, "corrigindo" a disbiose inicial. Essa situação foi reportada em *S. frugiperda* que, após uma disrupção causada por antibióticos, a comunidade original foi reestruturada ao longo do tempo e o indivíduo concluiu o ciclo de vida (Mason et al. 2021). Já a concentração C2 = 0,3g/ml de tetraciclina pode ter produzido um ambiente em que a duração do desenvolvimento não foi alterada, provavelmente selecionando comunidades que foram redundantes funcionalmente ou que simplesmente não são patogênicas, o que já foi descrito por Xia et al. (2013) que apesar de possuírem diferentes composições, a microbiota de *P. xylostella* mantém as mesmas funções vitais. A concentração C3 (3g/ml) de tetraciclina praticamente dizimou a população com uma mortalidade alta, atraso no ciclo de vida e taxa de emergência baixa. Tais parâmetros indicam que aquela população não sobreviverá, evidenciando o limite biológico da capacidade do indivíduo a retornar à homeostase, assim como reportado em *P. xylostella* tratada com altas doses de antibiótico (Lin et al., 2015). Porém, ao se avaliar a aplicação pontual e baixa letalidade de imidacloprido, inseticida que impede a expressão de AMPs, o inseto não retorna à homeostase, provavelmente por não realizar essa modulação bacteriana. Dado isso, sem a competência imunológica plena para lidar com a microbiota, os resultados dos tratamentos com o inseticida+antibiótico (ESTR) divergiram daquele apenas com o imidacloprido, que não apresentou alteração em relação ao controle, e divergiu daqueles encontrados com mesmas concentrações no do tratamento apenas com tetraciclina. Em ESTR, C1 atrasou o desenvolvimento em dois dias, C2 ocasionou mortalidade de metade da população e atrasou o ciclo de vida em três dias, porém C3, apesar de ser altamente letal, não supera o impacto que apenas o antibiótico causa, com menor mortalidade, menor atraso e maior taxa de emergência. Essa situação indica que

quando o organismo possui o sistema imune íntegro, ele pode retornar a homeostase após a disrupção da microbiota até um certo ponto, provavelmente porque houve a modulação por parte do sistema imunológico do hospedeiro daquelas comunidades que estavam saindo do controle, via AMP (Xia et al. 2018). Porém, ao eliminar essa via com uma aplicação pontual de imidacloprido, cada um dos tratamentos apresentados demonstrou comportamentos únicos, porque possivelmente selecionou um microbioma único para aquela adversidade, o que precisa ser avaliado em estudos adicionais.

Embora este estudo tenha isolado estressores em ambiente controlado, a realidade no campo é permeada por resíduos de antibióticos no solo (Hou et al., 2015) e por complexas pressões ecológicas frequentemente negligenciadas, como predação, competição e até mesmo a exposição a outros inseticidas. Tais interações somadas a concentrações baixas de antibióticos podem desencadear consequências profundas tanto para o manejo de pragas quanto para a dinâmica populacional. Dessa forma, os termos o holobionte ou a simbiose sugerido por Gilbert (2024) não são para ser absolutos e impostos a todos os indivíduos de forma rigorosa para que haja debates de quem depende mais ou menos de microrganismos, mas sim de forma a entender que todos os ambientes são co-habitados, inclusive os internos e trazer desbalanço para esse ecossistema pode ter consequências ainda desconhecidas e inexploradas.

## 6. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstra que a homeostase de *P. xylostella* transcende a resposta a fatores macroscópicos, sendo intrinsecamente regulada pela estabilidade do seu microbioma. Ao expor as lagartas a diferentes tratamentos para a disrupção bacteriana, ficou evidente que a resiliência do hospedeiro depende de sua competência imunológica. Neste sentido, a introdução do imidacloprido, atuando não apenas como toxina, mas como um supressor

imunológico, impediu a mitigação da disbiose, convertendo quadros de adaptação fisiológica em colapso metabólico e travas de desenvolvimento. Dessa forma, o "dilema de Lepidoptera" indica que a natureza do holobionte não reside na obrigatoriedade da presença bacteriana, mas na capacidade dinâmica do hospedeiro de manejar essas populações sob estresse.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, M. A.; CAO, H.-H.; JALEEL, W.; AMIR, M. B.; ALI, M. Y.; SMAGGHE, G.; LIU, T.-X. Oviposition preference and two-sex life table of *Plutella xylostella* and its association with defensive enzymes in three Brassicaceae crops. **Crop Protection**, [S. l.], v. 151, p. 105816, jan. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105816>.
- ARIAS-ROJAS, A.; FRAHM, D.; HURWITZ, R.; BRINKMANN, V.; IATSENKO, I. Resistance to host antimicrobial peptides mediates resilience of gut commensals during infection and aging in *Drosophila*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 120, n. 36, p. e2305649120, 5 set. 2023. <https://doi.org/10.1073/pnas.2305649120>.
- BENTES, V. D. S.; SILVA, B. N.; RIBEIRO, T. M. P.; PAIVA, M. J. M. D.; CARVALHO, A. S. S. D.; SANTOS, T. T. D. Natural life cycle and rearing of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the laboratory: Scientometric study and didactic scheme. **Multidisciplinary Perspectives: Integrating Knowledge**. 1. ed. [S. l.]: Seven Editora, 19 abr. 2024. ed. 1. DOI: [10.56238/sevened2024.007-074](https://doi.org/10.56238/sevened2024.007-074). Disponível em: <https://sevenpublicacoes.com.br/index.php/editora/article/view/4185>. Acesso em: 7 jan. 2026.
- BRODERICK, N. A.; RAFFA, K. F.; HANDELSMAN, J. Chemical modulators of the innate immune response alter gypsy moth larval susceptibility to *Bacillus thuringiensis*. **BMC Microbiology**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 129, dez. 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-129>.
- CAMPOS, M. R.; BIONDI, A.; ADIGA, A.; GUEDES, R. N. C.; DESNEUX, N. From the Western Palaearctic region to beyond: *Tuta absoluta* 10 years after invading Europe. **Journal of Pest Science**, [S. l.], v. 90, n. 3, p. 787–796, jun. 2017. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0867-7>.
- CARNEIRO, L. S.; SANTOS, C. G.; RESENDE, M. T. C. S. D.; SOUZA, D. L. L. D.; SOUZA, D. D. S.; SOUZA, A. M. D. C.; MOTTA, J. V. D. O.; NERE, P. H. A.; OLIVEIRA, A. H. D.; SERRÃO, J. E. Effects of the insecticide imidacloprid on the post-embryonic development of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 905, p. 167278, dez. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167278>.
- CEJA-NAVARRO, J. A.; VEGA, F. E.; KARAOZ, U.; HAO, Z.; JENKINS, S.; LIM, H. C.; KOSINA, P.; INFANTE, F.; NORTHEN, T. R.; BRODIE, E. L. Gut microbiota mediate caffeine detoxification in the primary insect pest of coffee. **Nature Communications**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 7618, 14 jul. 2015. <https://doi.org/10.1038/ncomms8618>.
- CHEN, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, Y.; SUN, Z.; LI, Y.; DING, J.; ZHANG, G.; DU, E.; ZI, X.; TIAN, C.; ZHAO, W.; GUI, F. Role of *Enterococcus mundtii* in gut of the tomato leaf miner (*Tuta absoluta*) to detoxification of Chlorantraniliprole. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, [S. l.], v. 204, p. 106060, set. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2024.106060>.
- CHI, H.; YOU, M.; ATLIHAN, R.; SMITH, C. L.; KAVOUSI, A.; ÖZGÖKÇE, M. S.; GÜNCAN, A.; TUAN, S.-J.; FU, J.-W.; XU, Y.-Y.; ZHENG, F.-Q.; YE, B.-H.; CHU, D.; YU, Y.; GHAREKHANI, G.; SASKA, P.; GOTOH, T.; SCHNEIDER, M. I.; BUSSAMAN, P.; GÖKÇE, A.; LIU, T.-X. Age-Stage, two-sex life table: an introduction to theory, data analysis, and application. **Entomologia Generalis**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 103–124, 19 maio 2020. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2020/0936>.
- DEVI, S.; SAINI, H. S.; KAUR, S. Reduction in gut bacterial diversity does not impact on biology of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Applied Entomology and**

- Zoology**, [S. l.], v. 57, n. 4, p. 357–362, nov. 2022. <https://doi.org/10.1007/s13355-022-00794-6>.
- DOUGLAS, A. E. Symbiosis as a General Principle in Eukaryotic Evolution. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. a016113–a016113, 1 fev. 2014. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016113>.
- DOUGLAS, Angela E. Multiorganismal Insects: Diversity and Function of Resident Microorganisms. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 60, n. 1, p. 17–34, 7 jan. 2015a. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-020822>.
- DOUGLAS, Angela E. Multiorganismal Insects: Diversity and Function of Resident Microorganisms. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 60, n. 1, p. 17–34, 7 jan. 2015b. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-020822>.
- ENGEL, P.; MARTINSON, V. G.; MORAN, N. A. Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 109, n. 27, p. 11002–11007, 3 jul. 2012. <https://doi.org/10.1073/pnas.1202970109>.
- FERRARINI, M. G.; DELL'AGLIO, E.; VALLIER, A.; BALMAND, S.; VINCENT-MONÉGAT, C.; HUGHES, S.; GILLET, B.; PARISOT, N.; ZAIDMAN-RÉMY, A.; VIEIRA, C.; HEDDI, A.; REBOLLO, R. Efficient compartmentalization in insect bacteriomes protects symbiotic bacteria from host immune system. **Microbiome**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 156, 27 set. 2022. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01334-8>.
- FREITAK, D.; SCHMIDTBERG, H.; DICKEL, F.; LOCHNIT, G.; VOGEL, H.; VILCINSKAS, A. The maternal transfer of bacteria can mediate trans-generational immune priming in insects. **Virulence**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 547–554, 15 maio 2014. <https://doi.org/10.4161/viru.28367>.
- FU, Y.; ZHANG, L.-Y.; ZHAO, Q.-Y.; FU, D.-Y.; YU, H.; XU, J.; YANG, S. Antibiotics ingestion altered the composition of gut microbes and affected the development and reproduction of the fall armyworm. **Journal of Pest Science**, [S. l.], v. 97, n. 4, p. 2187–2201, set. 2024. <https://doi.org/10.1007/s10340-024-01759-0>.
- GILBERT, S. F. Inter-kingdom communication and the sympoietic way of life. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, [S. l.], v. 12, p. 1427798, 12 jul. 2024. <https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1427798>.
- GOLIZADEH, A.; KAMALI, K.; FATHIPOUR, Y.; ABBASIPOUR, H. Life Table of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) on Five Cultivated Brassicaceous Host Plants. [S. l.], v. 11, p. 115–124, 2009.
- GU, L.; WU, Z.; WU, X.; ZHOU, Y.; YANG, P.; YE, X.; SHI, M.; HUANG, J.; CHEN, X. Characterization of Molting Process during the Different Developmental Stages of the Diamondback Moth *Plutella xylostella*. **Insects**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 289, 15 mar. 2022. <https://doi.org/10.3390/insects13030289>.
- GUEDES, Raul Narciso C; CUTLER, G. C. Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. **Pest Management Science**, [S. l.], v. 70, n. 5, p. 690–697, maio 2014. <https://doi.org/10.1002/ps.3669>.
- GUEDES, R.N.C.; SMAGGHE, G.; STARK, J. D.; DESNEUX, N. Pesticide-Induced Stress in Arthropod Pests for Optimized Integrated Pest Management Programs. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 61, n. 1, p. 43–62, 11 mar. 2016. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023646>.
- HAMMER, T. J.; JANZEN, D. H.; HALLWACHS, W.; JAFFE, S. P.; FIERER, N. Caterpillars lack a resident gut microbiome. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 114, n. 36, p. 9641–9646, 5 set. 2017. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707186114>.

- HAN, S.; TANG, Y.; SUN, Y.; LU, Y.; XUE, W.; XIA, X. Dynamic changes and functional analysis of gut bacteria in *Plutella xylostella* under different physiological conditions. **Pest Management Science**, [S. l.], p. ps.70339, nov. 2025. <https://doi.org/10.1002/ps.70339>.
- HEDDI, A.; ZAIDMAN-RÉMY, A. Endosymbiosis as a source of immune innovation. **Comptes Rendus. Biologies**, [S. l.], v. 341, n. 5, p. 290–296, 1 maio 2018. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2018.03.005>.
- HIGGINS, L. E.; RANKIN, M. A. DIFFERENT PATHWAYS IN ARTHROPOD POSTEMBRYONIC DEVELOPMENT. **Evolution**, [S. l.], v. 50, n. 2, p. 573–582, abr. 1996. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1996.tb03869.x>.
- HOU, J.; WAN, W.; MAO, D.; WANG, C.; MU, Q.; QIN, S.; LUO, Y. Occurrence and distribution of sulfonamides, tetracyclines, quinolones, macrolides, and nitrofurans in livestock manure and amended soils of Northern China. **Environmental Science and Pollution Research**, [S. l.], v. 22, n. 6, p. 4545–4554, mar. 2015. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3632-y>.
- HU, Z.; LIN, Q.; CHEN, H.; LI, Z.; YIN, F.; FENG, X. Identification of a novel cytochrome P450 gene, *CYP321E1* from the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and RNA interference to evaluate its role in chlorantraniliprole resistance. **Bulletin of Entomological Research**, [S. l.], v. 104, n. 6, p. 716–723, dez. 2014. <https://doi.org/10.1017/S0007485314000510>.
- INDIRAGANDHI, P.; ANANDHAM, R.; MADHAIYAN, M.; SA, T. M. Characterization of Plant Growth–Promoting Traits of Bacteria Isolated from Larval Guts of Diamondback Moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Current Microbiology**, [S. l.], v. 56, n. 4, p. 327–333, abr. 2008. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9086-4>.
- IRAC. IRAC Susceptibility Test Methods Series: Method No. 018 - *Plutella xylostella*. 2011. Disponível em: <https://irac-online.org/methods/plutella-xylostella-larvae/>.
- JOHNSTON, L. A.; GALLANT, P. Control of growth and organ size in *Drosophila*. **BioEssays**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 54–64, jan. 2002. <https://doi.org/10.1002/bies.10021>.
- JOHNSTON, P. R.; ROLFF, J. Host and Symbiont Jointly Control Gut Microbiota during Complete Metamorphosis. **PLOS Pathogens**, [S. l.], v. 11, n. 11, p. e1005246, 6 nov. 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005246>.
- KIKUCHI, Y.; YUMOTO, I. Efficient Colonization of the Bean Bug *Riptortus pedestris* by an Environmentally Transmitted Burkholderia Symbiont. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 79, n. 6, p. 2088–2091, 15 mar. 2013. <https://doi.org/10.1128/AEM.03299-12>.
- KONG, H. G.; KIM, H. H.; CHUNG, J.; JUN, J.; LEE, S.; KIM, H.-M.; JEON, S.; PARK, S. G.; BHAK, J.; RYU, C.-M. The *Galleria mellonella* Hologenome Supports Microbiota-Independent Metabolism of Long-Chain Hydrocarbon Beeswax. **Cell Reports**, [S. l.], v. 26, n. 9, p. 2451–2464.e5, fev. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.02.018>.
- KRITICOS, D. J.; OTA, N.; HUTCHISON, W. D.; BEDDOW, J.; WALSH, T.; TAY, W. T.; BORCHERT, D. M.; PAULA-MOREAS, S. V.; CZEPAK, C.; ZALUCKI, M. P. The Potential Distribution of Invading *Helicoverpa armigera* in North America: Is It Just a Matter of Time? **PLOS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. e0119618, 18 mar. 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119618>.
- LATEEF, A. A.; AZEEZ, A. A.; REN, W.; HAMISU, H. S.; OKE, O. A.; ASIEGBU, F. O. Bacterial biota associated with the invasive insect pest *Tuta absoluta* (Meyrick). **Scientific Reports**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 8268, 9 abr. 2024. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-58753-w>.

- LI, L.; YANG, Q.; LIU, M.; LIN, S.; HUA, W.; SHI, D.; YAN, J.; SHI, X.; HOFFMANN, A. A.; ZHU, B.; LIANG, P. Symbiotic bacteria mediate chemical-insecticide resistance but enhance the efficacy of a biological insecticide in diamondback moth. **Current Biology**, [S. l.], v. 35, n. 18, p. 4494-4508.e3, set. 2025. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2025.08.004>.
- LI, S.; XU, X.; FU, D.; LIU, M.; FENG, C.; JIN, F. CRISPR/Cas9-Mediated Knockout of PxPGRP4 Influences Midgut Microbial Homeostasis and Immune Responses in *Plutella xylostella*. **Agronomy**, [S. l.], v. 15, n. 6, p. 1294, 25 maio 2025. <https://doi.org/10.3390/agronomy15061294>.
- LI, Z.; ZALUCKI, M. P.; YONOW, T.; KRITICOS, D. J.; BAO, H.; CHEN, H.; HU, Z.; FENG, X.; FURLONG, M. J. Population dynamics and management of diamondback moth (*Plutella xylostella*) in China: the relative contributions of climate, natural enemies and cropping patterns. **Bulletin of Entomological Research**, [S. l.], v. 106, n. 2, p. 197–214, abr. 2016. <https://doi.org/10.1017/S0007485315001017>.
- LIN, X.; KANG, Z.; PAN, Q.; LIU, T. Evaluation of five antibiotics on larval gut bacterial diversity of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Insect Science**, [S. l.], v. 22, n. 5, p. 619–628, out. 2015. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12168>.
- MALLADI, S.; SUKKAR, D.; BONNEFOY, A.; FALLA-ANGEL, J.; LAVAL-GILLY, P. Imidacloprid and acetamiprid synergistically downregulate spaetzle and myD88 of the Toll pathway in haemocytes of the European honeybee (*Apis mellifera*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [S. l.], v. 104, p. 104323, nov. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104323>.
- MARTELLI, F.; ZHONGYUAN, Z.; WANG, J.; WONG, C.-O.; KARAGAS, N. E.; ROESSNER, U.; RUPASINGHE, T.; VENKATACHALAM, K.; PERRY, T.; BELLEN, H. J.; BATTERHAM, P. Low doses of the neonicotinoid insecticide imidacloprid induce ROS triggering neurological and metabolic impairments in *Drosophila*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 117, n. 41, p. 25840–25850, 13 out. 2020. <https://doi.org/10.1073/pnas.2011828117>.
- MASON, C. J.; PEIFFER, M.; CHEN, B.; HOOVER, K.; FELTON, G. W. Opposing Growth Responses of Lepidopteran Larvae to the Establishment of Gut Microbiota. **Microbiology Spectrum**, [S. l.], v. 10, n. 4, p. e01941-22, 31 ago. 2022. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01941-22>.
- MOTA-SANCHEZ; WISE. **Arthropod pesticide resistance database**. 3 jan. 2026. Arthropod pesticide resistance database. Disponível em: <https://www.pesticideresistance.org>.
- MOYA, A.; PERETÓ, J.; GIL, R.; LATORRE, A. Learning how to live together: genomic insights into prokaryote–animal symbioses. **Nature Reviews Genetics**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 218–229, mar. 2008. <https://doi.org/10.1038/nrg2319>.
- NATION, J. L. **Insect physiology and biochemistry**. Fourth edition. Boca Raton London New York: CRC Press, 2022. 556 p.
- PANG, S.; LIN, Z.; ZHANG, Y.; ZHANG, W.; ALANSARY, N.; MISHRA, S.; BHATT, P.; CHEN, S. Insights into the Toxicity and Degradation Mechanisms of Imidacloprid Via Physicochemical and Microbial Approaches. **Toxics**, [S. l.], v. 8, n. 3, p. 65, 1 set. 2020. <https://doi.org/10.3390/toxics8030065>.
- PHALNIKAR, K.; KUNTE, K.; AGASHE, D. Disrupting butterfly caterpillar microbiomes does not impact their survival and development. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S. l.], v. 286, n. 1917, p. 20192438, 18 dez. 2019. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2438>.
- RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, J. F.; CERNA-CHÁVEZ, E.; OCHOA-FUENTES, Y. M.; LANDEROS-FLORES, J.; GUEVARA-ACEVEDO, L. P. Susceptibilidad a plaguicidas

- de la polilla de las crucíferas (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae) en el centro de México. **Informacion Tecnica Economica Agraria**, [S. l.], jul. 2021. DOI: [10.12706/itea.2021.014](https://doi.org/10.12706/itea.2021.014). Disponível em: <http://www.aida-itea.org/index.php/revista/contenidos?idArt=911>. Acesso em: 10 jan. 2026.
- SANTOS; AM, J.; VG, S.; JC, Z.; JE, S. Effect of silicon on the morphology of the midgut and mandible of tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae. [S. l.], v. 12, p. 158–165, 2015.
- SARVARI, M.; MIKANI, A.; MEHRABADI, M. The innate immune gene Relish and Caudal jointly contribute to the gut immune homeostasis by regulating antimicrobial peptides in *Galleria mellonella*. **Developmental & Comparative Immunology**, [S. l.], v. 110, p. 103732, set. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103732>.
- SERRATO-SALAS, J.; GENDRIN, M. Involvement of Microbiota in Insect Physiology: Focus on B Vitamins. **mBio**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. e02225-22, 28 fev. 2023. <https://doi.org/10.1128/mbio.02225-22>.
- SHAO, Y.; MASON, C. J.; FELTON, G. W. Toward an Integrated Understanding of the Lepidoptera Microbiome. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. 117–137, 25 jan. 2024. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-020723-102548>.
- SHEETS, L. P. Imidacloprid. **Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology**. [S. l.]: Elsevier, 2010. p. 2055–2064. DOI: [10.1016/B978-0-12-374367-1.00095-1](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374367-1.00095-1). Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123743671000951>. Acesso em: 16 dez. 2024.
- SIMHADRI, R. K.; FAST, E. M.; GUO, R.; SCHULTZ, M. J.; VAISMAN, N.; ORTIZ, L.; BYBEE, J.; SLATKO, B. E.; FRYDMAN, H. M. The Gut Commensal Microbiome of *Drosophila melanogaster* Is Modified by the Endosymbiont *Wolbachia*. **mSphere**, [S. l.], v. 2, n. 5, p. e00287-17, 25 out. 2017. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00287-17>.
- ULLAH, F.; ULLAH, Z.; GÜNCAN, A.; GOVINDHARAJ, G.-P.-P.; GUL, H.; PRADHAN, P.; MURTAZA, G.; LI, X.; DESNEUX, N.; LU, Y. Tetraniliprole Triggers Transgenerational Hormesis in an Invasive Insect Herbivore: Molecular and Biological Insights. **Insects**, [S. l.], v. 16, n. 10, p. 1073, 21 out. 2025. <https://doi.org/10.3390/insects16101073>.
- VONAESCH, P.; ANDERSON, M.; SANSONETTI, P. J. Pathogens, microbiome and the host: emergence of the ecological Koch's postulates. **FEMS Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 42, n. 3, p. 273–292, 1 maio 2018. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy003>.
- VORBURGER, C.; PERLMAN, S. J. The role of defensive symbionts in host–parasite coevolution. **Biological Reviews**, [S. l.], v. 93, n. 4, p. 1747–1764, nov. 2018. <https://doi.org/10.1111/brv.12417>.
- WU, M.-Z.; FAN, S.-T.; ZHANG, Y.-C.; TAN, J.-F.; ZHU, G.-H. Disrupting shadow in the prothoracic gland induced larval development arrest in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Frontiers in Physiology**, [S. l.], v. 15, p. 1502753, 11 dez. 2024. <https://doi.org/10.3389/fphys.2024.1502753>.
- XIA, X.; GURR, G. M.; VASSEUR, L.; ZHENG, D.; ZHONG, H.; QIN, B.; LIN, J.; WANG, Y.; SONG, F.; LI, Y.; LIN, H.; YOU, M. Metagenomic Sequencing of Diamondback Moth Gut Microbiome Unveils Key Holobiont Adaptations for Herbivory. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 8, p. 663, 26 abr. 2017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00663>.
- XIA, X.; SUN, B.; GURR, G. M.; VASSEUR, L.; XUE, M.; YOU, M. Gut Microbiota Mediate Insecticide Resistance in the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.). **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 9, p. 25, 23 jan. 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00025>.

- XIA, X.; ZHENG, D.; ZHONG, H.; QIN, B.; GURR, G. M.; VASSEUR, L.; LIN, H.; BAI, J.; HE, W.; YOU, M. DNA Sequencing Reveals the Midgut Microbiota of Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.) and a Possible Relationship with Insecticide Resistance. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 7, p. e68852, 19 jul. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068852>.
- ZALUCKI, M. P.; SHABBIR, A.; SILVA, R.; ADAMSON, D.; SHU-SHENG, L.; FURLONG, M. J. Estimating the Economic Cost of One of the World's Major Insect Pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): Just How Long Is a Piece of String? **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 105, n. 4, p. 1115–1129, 1 ago. 2012. <https://doi.org/10.1603/EC12107>.
- ZARE BANADKUKI, S.; RAHMANI, S.; BANDANI, A. R. Bacterial communities of two populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 102295, set. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2024.102295>.
- ZENG, T.; FU, Q.; LUO, F.; DAI, J.; FU, R.; QI, Y.; DENG, X.; LU, Y.; XU, Y. Lactic acid bacteria modulate the CncC pathway to enhance resistance to  $\beta$ -cypermethrin in the oriental fruit fly. **The ISME Journal**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. wrae058, 8 jan. 2024. <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrae058>.
- ZHAO, X. Progress in understanding hormonal regulation during the postembryonic development of *Helicoverpa armigera*. **Journal of Integrative Agriculture**, [S. l.], v. 19, n. 6, p. 1417–1428, jun. 2020. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62860-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62860-1).
- ZHU, X.; ZHANG, L.; LI, J.; HE, A.; YOU, M.; YOU, S. Effects of Antibiotic Treatment on the Development and Bacterial Community of the *Wolbachia* -Infected Diamondback Moth. **Evolutionary Bioinformatics**, [S. l.], v. 19, p. 11769343231175269, jan. 2023. <https://doi.org/10.1177/11769343231175269>.

## APÊNDICES

APÊNDICE A - Tabela das estimativas dos coeficientes (Log-Odds) do Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM) binomial para a emergência de *P. xylostella*.

Parâmetro (Tratamento)	Estimativa (Estimate)	Erro Padrão	Valor Z	P-valor (Wald)
Intercepto (Controle)	21.94	281.31	78	0,938
Imidacloprido	-19.80	281.31	-70	0,944
Tetraciclina C1	-20.97	281.31	-75	0,941
Tetraciclina C2	-20.24	281.31	-72	0,943
Tetraciclina C3	-21.36	281.31	-76	0,939
Estresse C1	-18.78	281.32	-67	0,947
Estresse C2	0.29	1024.00	2	0,999
Estresse C3	-20.98	281.31	-75	0,941

APÊNDICE B - Tabela de análise de Deviance (Teste de Razão de Verossimilhança - LRT) comparando o modelo nulo (sem efeito de tratamento) e o modelo ajustado (com efeito de tratamento) para a taxa de emergência de adultos de *P. xylostella*.

Modelo	GL	AIC	Log-Likelihood	Deviance	$\chi^2$	P-valor
Modelo Nulo	2	81.60	-38.80	77.60	-	-
Modelo Final	9	68.69	-25.34	50.69	26.918	0.00034*