

VALDEIR CELESTINO DOS SANTOS JUNIOR

**INSETICIDAS REGULADORES DE CRESCIMENTO DE INSETOS AFETAM O
DESENVOLVIMENTO E A REPRODUÇÃO DO PREDADOR *Podisus nigrispinus*
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**

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

Orientador: José Cola Zanuncio

Coorientadores: Luis Carlos Martínez
Angelica Plata Rueda

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

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

T

S237i Santos Junior, Valdeir Celestino, 1991-
2021 Inseticidas reguladores de crescimento de insetos afetam o desenvolvimento e a reprodução do predador *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) / Valdeir Celestino Santos Junior. – Viçosa, MG, 2021.

1 tese eletrônica (74 f.): il. (algumas color.).

Orientador: José Cola Zanuncio.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Entomologia, 2021.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2021.172>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Azadiractina (Inseticida). 2. Novalurom (Inseticida). 3. Piriproxifen (Inseticida). 4. Tebufenozida (Inseticida). 5. *Podisus nigrispinus* - Controle biológico. I. Zanuncio, José Cola, 1950-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de Pós-Graduação em Entomologia. III. Título.

CDD 22. ed. 632.9517


VALDEIR CELESTINO DOS SANTOS JUNIOR

**INSETICIDAS REGULADORES DE CRESCIMENTO DE INSETOS AFETAM O
DESENVOLVIMENTO E A REPRODUÇÃO DO PREDADOR *Podisus nigrispinus*
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**

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

APROVADA: 29 de julho de 2021.

Assentimento:



Valdeir Celestino dos Santos Junior
Autor



José Cola Zanuncio
Orientador

Aos meus pais, irmãs e sobrinhos

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, que com sua divina glória, me permitiu chegar até aqui, sempre ao meu lado, dando forças para superar os desafios.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de cursar o doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa e fomento a pesquisa realizada.

Aos meus pais, Valdeir Celestino dos Santos e Elenita Pereira dos Santos e irmãs, Vanubia Maria dos Santos, Tatiele Pereira dos Santos e Adrielle Pereira dos Santos, e meus sobrinhos Elisa Valentina Santos Santana e Pietro Santos Santana pelo amor e compreensão desprendidos por este tempo longe de casa.

Ao professor José Cola Zanuncio, pelos ensinamentos e orientação, sugestões e correções.

Aos doutores Luis Carlos Martínez e Angelica Plata Rueda, pela co-orientação, conselhos, apoio e ideias para o desenvolvimento da tese.

À banca, que prontamente, se disponibilizou a contribuir com o trabalho.

Aos Colegas do laboratório de Controle Biológico de Insetos, pela amizade e confiança. Por todos os momentos de alegria que me proporcionaram no horário do café ou conversas pelos corredores. Agradecimento especial a Gabriela e Wiane, pela grande amizade que surgiu durante este período, companheiras de almoço no restaurante universitário e horas investidas nas criações de *Tenebrio* e *Podisus*.

À Flavia e Dona Lusia, por me acolherem e me fazerem sentir como em casa, com muito carinho e dedicação, me proporcionando deliciosos almoços de domingo e conversas construtivas.

Aos amigos que fiz durante o doutorado, que tornaram a jornada mais leve e que levarei para a vida. Levarei também as lembranças dos cafés da tarde, das idas a academia e as noites com vinho. Agradecimento especial a Fernanda, Geraldo, Fred, Daniel, Renan, Guilherme, Bruno, Yane e Eduardo, por toda a amizade e confiança.

À todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização da pesquisa e redação da presente tese, meu muito obrigado.

RESUMO

SANTOS JUNIOR, Valdeir Celestino, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Inseticidas reguladores de crescimento de insetos afetam o desenvolvimento e a reprodução do predador *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae)**. Orientador: José Cola Zanuncio. Coorientadores: Angelica Plata Rueda e Luis Carlos Martínez.

Os controles biológico e químico devem ser compatíveis para o sucesso do manejo integrado de pragas em sistemas agrícolas e florestais. Os inseticidas reguladores de crescimento foram desenvolvidos com o intuito de aumentar a seletividade e diminuir a toxicidade dos inseticidas. A sobrevivência, malformações, parâmetros reprodutivos e o corpo gorduroso de adultos do percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae), emergidos de ninfas de quinto instar expostas aos inseticidas azadiractina, novalurom, piriproxifen e tebufenozida foram avaliados. Azadiractina, novalurom e piriproxifen reduziram a sobrevivência e todos os inseticidas causaram morte durante a ecdise e malformações nas asas, assimetria no escutelo, dobras nas pernas de adultos de *P. nigrispinus*. Azadiractina e novalurom reduziram os períodos de oviposição, pós oviposição, números de ovos por fêmea, de ovos por postura e de postura por fêmea e a longevidade de fêmeas emergidas de ninfas expostas à esse inseticidas. Novalurom reduziu a longevidade de machos de *P. nigrispinus* mas aumentou o número de ovos nas fêmeas acasaladas com estes machos emergidos de ninfas expostas ao inseticida. O piriproxifen reduziu a longevidade, os períodos de pré-oviposição e oviposição e os números de ovos por fêmea e postura por fêmea emergida de ninfas expostas e o tebufenozida reduziu a longevidade de machos de *P. nigrispinus* emergidos de ninfas de quinto instar expostas à esse inseticidas. O aumento de vacuolização e a perda de formato regular de células do corpo gorduroso foram observados em adultos de *P. nigrispinus* emergidos de ninfas expostas a todos os inseticidas. Azadiractina, novalurom e piriproxifen reduziram a sobrevivência de adultos e os parâmetros reprodutivos de fêmeas, e todos os inseticidas causaram malformações e aumentaram a vacuolização no corpo gorduroso de *P. nigrispinus*.

Palavras-chave: Azadiractina. Controle biológico. Novalurom. Piriproxifen. Tebufenozida.

ABSTRACT

SANTOS JUNIOR, Valdeir Celestino, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2021. **Insect growth regulators insecticides affect the development and reproduction of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae).** Adviser: José Cola Zanuncio. Co-advisers: Angelica Plata Rueda and Luis Carlos Martínez.

Biological and chemical controls must be compatible for a successful integrated pest management in agricultural and forestry systems. Insect Growth regulators insecticides were developed with the aim of increasing selectivity and minimizing insecticide toxicity. Survival, malformations, reproductive parameters and fat body of adults of the predatory stink bug *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) emerged from fifth instar nymphs exposed to the insecticides azadirachtin, novaluron, pyriproxyfen and tebufenozide were evaluated. Azadirachtin, novaluron and pyriproxyfen reduced survival and all insecticides caused death during ecdysis and wing malformations, scutellum asymmetry, folding of the legs in adults of *P. nigrispinus*. Azadirachtin and novaluron reduced the oviposition and post-oviposition periods, the number of eggs per female, eggs per laying, and number of laying per female and the longevity of females emerged from nymphs exposed to these insecticide. Novaluron reduced the longevity of *P. nigrispinus* males but increased the number of eggs in females mated with these males emerged from nymphs exposed to the insecticide. Pyriproxyfen reduced longevity, pre-oviposition and oviposition periods and the number of eggs per female and egg laying per female emerged from exposed nymphs, and tebufenozide reduced the longevity of males of *P. nigrispinus* emerged from fifth-instar nymphs exposed to it. Increased vacuolization and loss of regular shape of fat body cells were observed in *P. nigrispinus* adults emerged from nymphs exposed to all insecticides. Azadirachtin, novaluron and pyriproxyfen reduced adult survival and female reproductive parameters, and all insecticides caused malformations and increased vacuolization in the fat body of *P. nigrispinus*.

Keywords: Azadirachtin. Biological control. Novaluron. Pyriproxyfen. Tebufenozide.

SUMÁRIO

Introdução Geral	8
Capítulo 1. Azadiractina e novalurom causaram malformações e reduziram a reprodução do predador <i>Podisus nigrispinus</i> (Heteroptera: Pentatomidae)	20
Capítulo 2. Desenvolvimento e reprodução do percevejo predador <i>Podisus nigrispinus</i> após exposição aos inseticidas reguladores de crescimento piriproxifen e tefubenzida	42
Capítulo 3. Hormese na reprodução de fêmeas <i>Podisus nigrispinus</i> (Hem.: Pentatomidae) acasaladas com machos de emergidos de ninfas de quinto instar contaminadas com o inseticida novalurom	69
Conclusão Geral	74

Introdução Geral

A agricultura comercial em larga escala do Brasil é internacionalmente reconhecida pelo seu desenvolvimento econômico e aumento em exportações, se tornando um dos maiores produtores de alimento, biocombustíveis e fibras do mundo (Martinelli et al., 2010; Ferreira et al., 2012; Barros et al., 2020). A produção agrícola brasileira em 2020 foi de R\$ 439,8 bilhões com aumento de 2% em relação a 2019, o único setor com crescimento neste ano (IBGE, 2021). A modernização do setor agrícola, a redução da expansão e exploração de ecossistemas naturais e a preservação da biodiversidade são desafios enfrentados pela agricultura brasileira (Martinelli et al., 2010), pois o uso de inseticidas de amplo espectro reduzem a biodiversidade (Epstein et al., 2000), incluindo polinizadores e inimigos naturais, fundamentais para a manutenção da agricultura (Oliver et al., 2015).

O controle químico é a principal forma de manejo de pragas em grandes áreas e o uso de inseticidas aumentou em 152% no Brasil nos últimos 15 anos (Santos et al., 2018). Inseticidas são importantes no manejo de pragas agrícolas e urbanas, mas a preocupação com efeitos tóxicos em organismos não alvos, como inimigos naturais, polinizadores e humanos tem aumentando (Fernandes et al., 2016; Richardson et al., 2019). A pressão da sociedade por inseticidas menos tóxicos, seleção de resistência de pragas e mudanças de práticas agronômicas tem forçado a indústria a buscar inseticidas mais seletivos e menos tóxicos a organismos não alvos, como os reguladores de crescimento de insetos (Schneider et al., 2004; Sparks et al., 2019). Esses inseticidas são agonistas do receptor do ecdisônio, inibidores da biossíntese de quitina e análogos ao hormônio juvenil (IRAC, 2014). A azadiractina, novalurom, piriproxifen e tebufenozida são inseticidas reguladores de crescimento ou de ação incerta, mas que apresenta efeitos na regulação hormonal

de insetos, e utilizados em áreas de eucalipto e soja (IRAC, 2014; AGROFIT, 2021).

A A azadiractina é o principal composto com características farmacológicas extraído da planta indiana *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) e tem sido usada por décadas como regulador de crescimento em manejo de pragas com menor impacto ambiental e menor toxicidade a inimigos naturais (Bezzar-Bendjazia et al., 2017; Khan, 2020; Shu et al., 2021). Azadiractina afeta o sistema neurosecretor do inseto, liberando bloqueadores da síntese dos hormônios protoracicotrópico e alostatina, que controlam a síntese de ecdisônio e hormônio juvenil pelas glândulas protorácicas e *corpora allata*, respectivamente (Luntz & Nisbet, 2000; Zhou et al., 2020). Os efeitos causados pela azadiractina em insetos incluem danos histopatológicos, redução da alimentação e reprodução e alterações no crescimento e desenvolvimento (Zanuncio et al., 2016; Amaral et al., 2018; Farder Gomes et al., 2021).

Novalurom é uma benzoiluréia, inibidor da síntese de quitina e uma alternativa para o Manejo Integrado de pragas das ordens Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera e Diptera, com baixa toxicidade a mamíferos e insetos benéficos (Kostyukovsky & Trostanetsky, 2006; Joseph, 2020). As benzoiluréias desregulam o crescimento de imaturos a partir da inibição da síntese de proteínas precursoras da quitina, interferindo na formação da cutícula (Ishaaya et al., 2003; Cutler & Scott-Dupree, 2007; Catchot et al., 2020). Efeitos subletais como malformação, redução na reprodução e sobrevivência são sintomas comuns em insetos contaminados com novalurom (Catchot et al., 2020; Martínez et al., 2020).

Piriproxifen é um inseticida regulador de crescimento de insetos, utilizado no manejo de pragas agrícolas e urbanas, principalmente em países em desenvolvimento (Sullivan & Goh, 2008). Mímico do hormônio juvenil, o piriproxifen

evita a muda e a reprodução de insetos através da desbalanço do hormônio juvenil e ecdisonio, hormônios responsáveis pela metamorfose (Devellers, 2020). Malformação, citotoxicidade, diminuição de parâmetros reprodutivos e sobrevivência são alguns efeitos de doses subletais do piriproxifen em insetos (Fiaz et al., 2019; Qian et al., 2020; Alzahrani, 2021).

Tebufenozida é um regulador de crescimento de insetos, utilizado no manejo de pragas da ordem Lepidoptera, pouco tóxico a mamíferos e com baixo impacto ambiental (Smagghe et al., 1996; Xu et al., 2017). Agonista do ecdisônio, a tebufenozida causa a muda prematura do inseto por ativar genes que regulam o início do processo, mas permanece em alta dose nos tecidos, impedindo que genes responsáveis por finalizar a muda sejam expressos, levando o inseto a morte (Retnakaran et al., 2001). Efeitos subletais do tebufenozida incluem malformações, diminuição de fertilidade, fecundidade e longevidade e histotoxicidade (Reinke & Barrett, 2001; van Frankenhuyzen & Régnière, 2006; Jiang et al., 2020).

O controle biológico é tão eficiente quanto o químico a longo prazo e pode ser usado como alternativa ou complementando este último (Molina Rugama et al., 1997; Santos Junior et al., 2019; Janssen & van Rijn, 2021). O controle biológico é aplicado em mais 30 milhões de hectares no mundo, sendo a Europa o maior mercado de agentes biológicos invertebrados e os Estados Unidos o maior mercado para microrganismos (van Lenteren et al., 2017). O controle biológico no Brasil vem aumentando pela insatisfação de agricultores com a ineficácia de inseticidas no controle de algumas pragas (Parra & Coelho Junior, 2019). Parasitoides como *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) e *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) são exemplos de amplo uso na agricultura brasileira (Parra & Zucchi, 2004; Parra et al., 2014). Entre os predadores já utilizados

no controle biológico em áreas agrícolas e florestais, Pentatomidae é uma das maiores famílias da subordem Heteroptera, com uma estimativa de 10% das espécies, entre estes, a tribo (Zanuncio et al., 1998; Ferreira et al., 2008; Araújo et al., 2011).

Podisus nigrispinus (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) é um inseto zoofitofago, nativo da América do Sul e Central, e utilizado no manejo de lagartas em algodão, eucalipto e soja (Medeiros et al., 2004; Zanuncio et al., 2014; Castro et al., 2015). Esse inimigo natural foi relatado predando mais de 25 espécies de lagartas com eficiência e pode ser criado em laboratórios e liberado em campos agrícolas e florestais para o controle biológico (Saavedra et al., 1997; Torres et al., 2006; Torres et al., 2009).

Populações de *P. nigrispinus* são liberadas de forma inundativa ou inoculativas em áreas agrícolas e florestais no quinto instar ou na fase adulta, e podem ser expostos topicamente ou através do consumo de presas contaminadas por inseticidas aplicados para controle de Lepidopteras e outras pragas, quando estas atingem altas populações (Torres et al., 2006; Müller, 2018). Inseticidas reguladores de crescimento de insetos podem afetar o desenvolvimento de ninfas e reprodução de adultos quando *P. nigrispinus* são expostos (De Clearcq et al., 1995;).

Referências Bibliográficas

- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura do Governo Federal. www.agricultura.gov.br. Acessado em 24 de maio de 2021.
- Alzahrani, S.M., 2021. Evaluation of triflumuron and pyriproxyfen as alternative candidates to control house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), in

Riyadh city, Saudi Arabia. PLoS ONE 16: e0249496.

Amaral, K.D., Martínez, L.C., Lima, M.A.P., Serrão, J.E., Della Lucia, T.M.A., 2018.

Azadirachtin impairs egg production in *Atta sexdens* leaf-cutting ant queens. Environmental Pollution 243: 809–814.

Araújo, V.A., Lino Neto, J., Ramalho, F.C., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., 2011.

Ultrastructure and heteromorphism of spermatozoa in five species of bugs (Pentatomidae: Heteroptera). Micron 42: 560–567.

Barros, M.A.L., Silva, C.B.C., Lima, L.M., Farias, F.J.C., Ramos, G.A., Santos, R.C.,

2020. A review on evolution of cotton in Brazil: GM, white, and colored cultivars. Journal of Natural Fibers 17: 1–13.

Bezzar Bendjazia, R., Kilani Morakchi, S., Maroua, F., Aribi, N., 2017. Azadirachtin

induced larval avoidance and antifeeding by disruption of food intake and digestive enzymes in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). Pesticide Biochemistry and Physiology 143: 135–140.

Castro, A.A., Poderoso, J.C.M., Ribeiro, R.C., Legaspi, J.C., Serrão, J.E., Zanuncio,

J.C., 2015. Demographic parameters of the insecticide-exposed predator *Podisus nigrispinus*: implications for IPM. BioControl 60, 231–239.

Catchot, B., Anderson, C.J.H., Gore, J., Jackson, R., Rakshit, K., Musser, F.,

Krishnan, N., 2020. Novaluron prevents oogenesis and oviposition by inducing ultrastructural changes in ovarian tissue of young adult *Lygus lineolaris*. Pest Management Science 76: 4057–4063.

Cutler, G.C., Scott Dupree, C.D., 2007. Novaluron: prospects and limitations in insect

pest management. Pest Technology 1: 38–46.

- De Clearcq, P., Cock, A.D., Tirry, L., Viñuela, E., Degheele, D., 1995. Toxicity of diflubenzuron and pyriproxyfen to the predatory bug *Podisus maculiventris*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 74: 17–22.
- Devellers, J., 2020. Fate and ecotoxicological effects of pyriproxyfen in aquatic ecosystems. *Environmental Science and Pollution Research* 27: 16052–16068.
- Epstein, D.L., Zack, R.S., Brunner, J.F., Gut, L., Brown, J.J., 2000. Effects of broad-spectrum insecticides on epigeal arthropod biodiversity in Pacific Northwest apple orchards. *Environmental Entomology* 29: 340–348.
- Farder Gomes, C.F., Saravanan, M., Martínez, L.V., Plara Rueda, A., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., 2021. Azadirachtin-based biopesticide affects the respiration and digestion in *Anticarsia gemmatalis* caterpillars. *Toxins Reviews* 40: 1–12.
- Fernandes, M.E.S., Alves, F.M., Pereira, R.C., Aquino, L.A., Fernandes, F.L., Zanuncio, J.C., 2016. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. *Chemosphere* 156: 45–55.
- Ferreira, J., Pardini, R., Metzger, J.P., Fonseca, C.R., Pompeu, P.S., Sparovek, G., Louzada, J., 2012. Towards environmentally sustainable agriculture in Brazil: challenges and opportunities for applied ecological research. *Journal of Applied Ecology* 49: 535–541.
- Ferreira, J.A.M., Zanuncio, J.C., Torres, J.B., Molina Rugama, A.J., 2008. Predatory behaviour of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) on different densities of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Biocontrol Science and Technology* 18: 711–719.
- Fiaz, M., Martínez, L.C., Plata Rueda, A., Gonçalves, W.G., Souza, D.L.N., Cossolin,

J.F.S., Carvalho, P.E.J.R., Martins, G.F., Serrão, J.E., 2019. Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. PeerJ 7: e7489.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2021 Sistema de Contas Nacionais Trimestrais. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/industria/9300-contas-nacionais-trimestrais.html?edicao=30161&t=destaques>. Acesso em: 25 de junho de 2021.

IRAC, Comitê de Ação à Resistência a Inseticidas. 2014. Mode of Action Classification. Disponível em: <https://www.irac-br.org/documentos-tecnicos>. Acesso em: 05 de julho de 2021.

Ishaaya, I., Kontsedalov, S., Horowitz, A.R., 2003. Novaluron (Rimon), a novel IGR: potency and cross-resistance. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 54: 157–164.

Jansse, A., van Rijn, P.C.J., 2021. Pesticides do not significantly reduce arthropod pest densities in the presence of natural enemies. Ecology Letters 00: 1–15.

Jiang, B., Guo, B., Cui, J., Dong, W., Cui, L., Zhang, L., Yang, Y., Yang, X., 2020. New lead discovery of insect growth regulators based on the scaffold hopping strategy. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 30: 127500.

Joseph, S.V., 2020. Ingestion of novaluron elicits transovarial activity in *Stephanitis pyrioides* (Hemiptera: Tingidae). Insects 11: 216.

Khan, A.A., 2020. Bio-efficacy of botanical pesticides against green apple aphid (*Aphis pomi*) and biosafety against its natural enemies in apple orchard of Kashmir. Journal of Entomology and Zoology Studies 8: 1445–1448.

- Kostyukovsky, M., Trostanetsky, A., 2006. The effect of a new chitin synthesis inhibitor, novaluron, on various developmental stages of *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 42: 136–148.
- Luntz, A.J.M., Nisbet, A.J., 2000. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 29: 615–632.
- Martinelli, L.A., Naylor, R., Vitousek, P.M., Moutinho, P., 2010. Agriculture in Brazil: impacts, costs, and opportunities for a sustainable future. *Current Opinion in Environmental Sustainability* 2: 431–438.
- Martínez, L.C., Plata Rueda, A., Serrão, J.E., 2020. Effect of benzoylphenyl ureas on survival and reproduction of the lace bug, *Leptopharsa gibbicarina*. *Insects* 12: 34.
- Medeiros, R.S., Ramalho, F.S., 2004. Estimative of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) development time with non linear models. *Neotropical Entomology* 33, 141–148.
- Molina Rugama, A.J., Zanuncio, J.C., Torres, J.B., Zanuncio, T.V., 1997. Longevidad y fecundidad de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) alimentado com *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) y frijol. *Revista de Biología Tropical* 45: 1125–1130.
- Müller, C., 2018. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* 30: 1–10.
- Oliver, T.H., Isaac, N.J.B., August, T.A., Woodcock, B.A., Roy, D.B., Bullock, J.M., 2015. Declining resilience of ecosystem functions under biodiversity loss. *Nature Communications* 6: 10122.

- Parra, J.R.P. 2014., Biological Control in Brazil: an overview. *Scientia Agricola* 71: 345–355.
- Parra, J.R.P., Coelho Junior, A., 2019. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. *Journal of Insect Science* 19: 5.
- Parra, J.R.P., Zucchi, R.A., 2004. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. *Neotropical Entomology* 33: 271–281.
- Qian, H.Y., Zhang, X., Zhao, G.D., Guo, H.M., Li, G., Xu, A.Y., 2020. Effects of pyriproxyfen exposure on reproduction and gene expressions in Silkworm, *Bombyx mori*. *Insects* 11: 467.
- Reinke, M.D., Barrett, B.A., 2001. Fecundity, fertility and longevity reductions in adult Oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonists tebufenozide and methoxyfenozide. *Journal of Entomological Science* 42: 457–466.
- Retnakaran, A., Gelbic, I., Sundaram, M., Tomkins, W., Ladd, T., Primavera, M., Feng, Q., Arif, B., Palli, R., Krell, P., 2001. Mode of action of the ecdysone agonist tebufenozide (RH-5992), and an exclusion mechanism to explain resistance to it. *Pest Management Science* 57: 951–957.
- Richardson, J.R. Fitsanakis, V., Westerink, R.H.S., Kanthasamy, A.G., 2019. Neurotoxicity of pesticides. *Acta Neuropathologica* 138: 343–362.
- Saavedra, J.L.D., Zanuncio, J.C., Zanuncio, T.V., Guedes, N.C., 1997. Prey capture ability of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae) reared for successive generations on a meridic diet. *Journal of Applied Entomology* 121: 327–330.
- Santos Junior, V.C., Martínez, L.C., Plata Rueda, A., Bozdogan, H., Zanuncio, J.C.,

- Serrão, J.E., 2019. Exposure to spinosad induces histopathological and cytotoxic effects on the salivary complex of the non-target predator *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere* 225: 688–695.
- Santos, C.F., Otesbelque, A., Blochtein, B., 2018. The dilemma of agricultural pollination in Brazil: Beekeeping growth and insecticide use. *PLOS ONE* 13: e0200286.
- Schneider, M.I., Smaghe, G., Pineda, S., Viñuela, E., 2004. Action of insect growth regulator insecticides and spinosad on life history parameters and absorption in third-instar larvae of the endoparasitoid *Hyposoter didymator*. *Biological Control* 31: 189–198.
- Shu, B., Zhang, J., Cui, G., Sun, R., Yi, X., Zhong, G., 2018. Azadirachtin affects the growth of *Spodoptera litura* Fabricius by inducing apoptosis in larval midgut. *Frontiers in Physiology* 9: 137.
- Smaghe, G., Eelen, H., Verschelde, E., Richter, K., Degheele, D., 1996. Differential effects of nonsteroidal ecdysteroid agonists in Coleoptera and Lepidoptera: Analysis of evagination and receptor binding in imaginal discs. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 26: 687–695.
- Sparks, T.C., Wessels, F.J., Lorsbach, B.A., Nugent, B.M., Watson, G.B., 2019. The new age of insecticide discovery-the crop protection industry and the impact of natural products. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 161: 12–22.
- Sullivan, J.J., Goh, K.S., 2008. Environmental fate and properties of pyriproxyfen. *Journal of Pesticide Science* 33: 339–350.
- Torres, J.B., Zanuncio, J.C., Moura, M.A., 2006. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval

control in Eucalyptus forests in Brazil. *Biocontrol News and Information* 15: 1–18.

- Torres, J.B., Zanuncio, J.C., Oliveira, H.N., 2009. Nymphal development and adult reproduction of the stinkbug predator *Podisus nigrispinus* (Het., Pentatomidae) under fluctuating temperatures. *Journal of Applied Entomology* 122: 509–514.
- van Frankenhuyzen, K., Régnière, J., 2006. Multiple effects of tebufenozide on the survival and performance of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). *The Canadian Entomologist* 149: 227–240.
- van Lenteren, J.C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W.J., Urbaneja, A., 2017. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63: 39–59.
- Xu, W., Wang, B., Yang, M., Zhang, Y., Xu, Z., Yang, Y., Cao, H., Tao, L., 2017. Tebufenozide induces G1/S cell cycle arrest and apoptosis in human cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 49: 89–96.
- Zanuncio, J.C., Batalha, V.C., Guedes, R.N.C., Picanço, M.C., 1998. Insecticide selectivity to *Supputius cincticeps* (Stal) (Het., Pentatomidae) and its prey *Spudoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lep., Noctuidae). *Journal of Applied Entomology* 122: 457–460.
- Zanuncio, J.C., Mourão, S.A., Martínez, L.C., Wilcken, C.F., Ramalho, F.S., Plata Rueda, A., Soares, M.A., Serrão, J.E., 2016. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific Reports* 6: 30261.
- Zanuncio, J.C., Tavares, W.C., Fernandes, B.V., Wilcken, C.F., Zanuncio, T.V., 2014. Production and use of Heteroptera predators for the biological control of

Eucalyptus pests in Brazil. *Ekoloji* 23: 98–104.

Zhou, Y., Qin, D.Q., Zhang, P.W., Liu, B.J., Chen, X.T., Zhang, Z.X., 2020. The comparative metabolic response of *Bactrocera dorsalis* larvae to azadirachtin, pyriproxyfen and tebufenozide. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 189: 110020.

CAPITULO 1

Azadiractina e novalurom causam malformações e reduzem a reprodução do predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)

1. Introdução

O predador generalista *Podisus nigrispinus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae) pode ser criado massalmente em laboratório (Santos et al., 2018) e liberado em campo para o manejo integrado de lagartas de Lepidoptera como *Blera varana* Schaus (Notodontidae), *Sarsina violascens* (Henrich-Schäffer) (Lymantriidae) e *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Geometridae) em plantios de eucalipto, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, *Rachiplusia nu* (Guenée) e *Pseudoplusia includens* Walker (Noctuidae) em soja e *Alabama argillacea* Hübner, *Heliothis virescens* (F.) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Noctuidae) em algodão (Torres et al., 2006). Entretanto, estas pragas são comumente controladas com inseticidas químicos, que embora eficientes, reduzem a biodiversidade, contaminam o solo, poluem a água e causam efeitos colaterais em produtores e consumidores de produtos agrícolas (Dasgupta et al., 2007; Bonmatin, et al., 2021; Reiber et al., 2021).

O controle biológico utiliza organismos para reduzir as populações de organismos pragas, como uma alternativa sustentável na agropecuária (van Lenteren et al., 2018; Carvalho et al., 2020). Predadores, parasitoides e agentes microbianos são, respectivamente, os organismos mais comercializados no mundo para o controle biológico (van Lenteren et al., 2018). Porém, inseticidas de amplo espectro no controle de pragas podem afetar inimigos naturais em campo (Santos

Junior et al., 2020). Por outro lado, inseticidas botânicos, como a azadiractina, com baixa toxicidade a vertebrados e rápida degradação no ambiente, e os reguladores de crescimento, como novalurom, podem ser seletivos a insetos benéficos (Isman, 2006; Santorum et al., 2019).

A azadiractina, um tetranortriterpenoide obtido de *Azadirachta indica* (Meliaceae) (Francesena & Schneider, 2018) com múltiplos modos de ação causando deterrência, mudanças de comportamento, interrupção da ecdise, alterações no tempo de desenvolvimento, malformações anatômicas e distúrbios hormonais que levam a esterilidade de insetos, é utilizada no manejo de insetos (Mordue Luntz & Nisbet, 2000; Chaudhary et al., 2017). Além de afetar o desenvolvimento, alterações na atividade do hormônio ecdisônio, pela azadiractina, causam esterilidade devido a ausência de ovócitos nos ovários de insetos (Barbosa et al., 2015). Esse composto reduz a oviposição mediando a síntese de vitelogenina em rainhas de *Atta sexdens* Linnaeus (Formicidae: Attini) (Amaral et al., 2018) e causa citotoxicidade no intestino médio e no corpo gorduroso de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) (Almeida et al., 2014).

O novalurom, derivado das benzoiluréias, interrompe a biossíntese de quitina e causa deposição irregular na cutícula interrompendo a ecdise, causando a morte de insetos (Ishaaya et al., 2003; Santorum et al., 2019). Esse inseticida não causa efeitos letais em insetos adultos, porém diminui a fecundidade e fertilidade dos mesmos (Alyokhin et al., 2009; Djeghader et al., 2014) e causa citotoxicidade em ovários e testículos e reduz a espermatogênese, ovogênese e o número de ovos em *Bombyx morri* L. (Lepidoptera: Bombycidae) (Santorum et al., 2021).

Liberações inundativas e inoculativas em áreas agrícolas e florestais de *P. nigirspinus* no quinto instar ou na fase adulta podem expor estes insetos

topicamente ou através do consumo de presas contaminadas por inseticidas aplicados para controle de Lepidopteras e outras pragas (Torres et al., 2006; Müller, 2018). Inseticidas podem afetar reprodução de inimigos naturais, prejudicando o controle biológico (Resende-Silva et al., 2019). A reprodução sexual é a principal forma de produzir descendentes e inseticidas compatíveis com inimigos naturais são importantes no manejo de pragas em áreas agrícolas e florestais (Simonet et al., 2004; Santos Junior et al., 2019). O corpo gorduroso produz vitelogenina, principal proteína componente da gema do ovo e essencial para reprodução e defesa de tecidos importantes no inseto (Jiang et al., 2020; Guo et al., 2018).

Doses de campo e, mesmo, mais baixas de azadiractina e novalurom reduziram a reprodução de inimigos naturais, o que afeta o controle biológico (Zanuncio et al., 2016; Matioli et al., 2019). O objetivo deste estudo foi verificar se os inseticidas azadiractina e novalurom causam danos ao desenvolvimento e reprodução do predador não alvo *P. nigrispinus*. Para tanto foram avaliadas a sobrevivência, malformações, parâmetros reprodutivos e o corpo gorduroso de adultos emergidos de ninfas expostas aos inseticidas piriproxifen e tefubenzozide.

2. Material e Métodos

2.1. Insetos

Ninfas de quinto instar e adultos de *P. nigrispinus* foram obtidos de criação massal do Laboratório de Controle Biológico de Insetos da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Esses insetos foram mantidos a 27 ± 2 °C, $75 \pm 5\%$ UR e fotoperíodo de 12:12 h [L: D]. Ninfas e adultos de *P. nigrispinus* foram alimentados com pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), folhas de *Eucalyptus grandis* (W. Hill ex. Maiden) (Myrtaceae) e água *ad libitum*.

2.2. Exposição aos inseticidas

A azadiractina (Azamax 12 g L⁻¹; UPL do Brasil Indústria e Comércio de Insumos Agropecuários S.A., Ituverava, SP, Brasil) e o novalurom (Rinon 100 EC 100g L⁻¹; Adama Brasil S.A., Londrina, PR, Brasil) foram usados nos experimentos. Esses inseticidas foram diluídos em água destilada para preparar uma solução estoque (100 mL) com as doses recomendadas pelos fabricantes (novalurom 0,075 g L⁻¹ e azadiractina 0,07 g L⁻¹) para o controle de pragas. Água destilada foi usada como controle. Um µL de cada inseticida ou água destilada foi aplicado no tórax de 285 ninfas de *P. nigrispinus*, individualizadas em tubos de vidro (22,5 cm³) e receberam pupas de *T. molitor* como alimento, água e folhas de *E. grandis*.

2.3. Sobrevivência

Ninfas de quinto instar de *P. nigrispinus*, após exposição às doses comerciais do novalurom e azadiractina, foram individualizadas em tubos de vidro (n= 30 por inseticida) e água destilada no controle (n= 30). O número de insetos vivos foi, diariamente, contabilizado por 50 dias após exposição aos inseticidas e no controle.

2.4. Malformações anatômicas

A presença ou não de malformações no corpo foi avaliada em adultos de *P. nigrispinus*, emergidos das ninfas de quinto instar tratadas com novalurom e azadiractina. O número de malformações na cabeça, escutelo, asas e pernas, além de morte durante ecdise foi observado em estéreomicroscópio.

2.5. Parâmetros reprodutivos

Os parâmetros reprodutivos de *P. nigrispinus* foram observados em casais desse predador, originados de ninfas de quinto instar (n= 50) expostas ao novalurom e azadiractina. Uma fêmea emergida da ninfa exposta e um macho não exposto, ambos com dois dias de idade foram isolados em potes de plástico (8 × 9,5 cm, 250

mL) formando 15 casais. O mesmo foi feito para casais formados por machos emergidos de ninfas expostas aos inseticidas e com fêmeas não expostas. Os períodos de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, os números de posturas, ovos por postura, total de ovos, viabilidade e longevidade de machos e fêmeas de *P. nigrispinus* foram avaliadas.

2.6. Histopatologia do corpo gorduroso de machos e fêmeas

Fêmeas e machos de *P. nigrispinus* com três dias após muda (n= 4 por sexo), emergidos de ninfas de quinto instar expostas ao novalurom e azadiractina, foram crioanestesiadas a -4°C. O corpo gorduroso desses insetos foi dissecado em solução salina de insetos (0,1 M NaCl + 0,2 M KH₂PO₄ + 0,2 M Na₂HPO₄), fixado em solução de Zamboni por 24 horas a 4°C e desidratados em série crescente de etanol (70°, 80°, 90° e 95°) (Martínez et al., 2019). Amostras do corpo gorduroso, foram embebidas em historesina (Leica Biosystems GmbH, Heildelberger, Germany) seccionadas com 3 µm de espessura, coradas com hematoxilina e eosina e examinadas em microscópio de luz Leica DMLS.

2.7. Estatística

Dados de sobrevivência de *P. nigrispinus* foram submetidos à análise de sobrevivência usando os estimador Kaplan-Meier (método de Matel-Cox) com o programa GraphPad Prism v.8 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Dados de malformações e parâmetros reprodutivos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o programa SAS versão 9.0 (SAS Institute, Campus Drive Cary, NC, USA). Dados dos parâmetros reprodutivos foram transformados com arco seno $\sqrt{x(\%)}$ para satisfazer as exigências de normalidade.

3. Resultados

3.1 Sobrevivência

A sobrevivência de adultos de *P. nigrispinus* foi menor naqueles emergidos de ninfas de quinto instar expostas aos inseticidas azadiractina e novalurom que no controle ($\chi^2= 10,70$, GL= 2, $P< 0,0047$) (Figura 1).

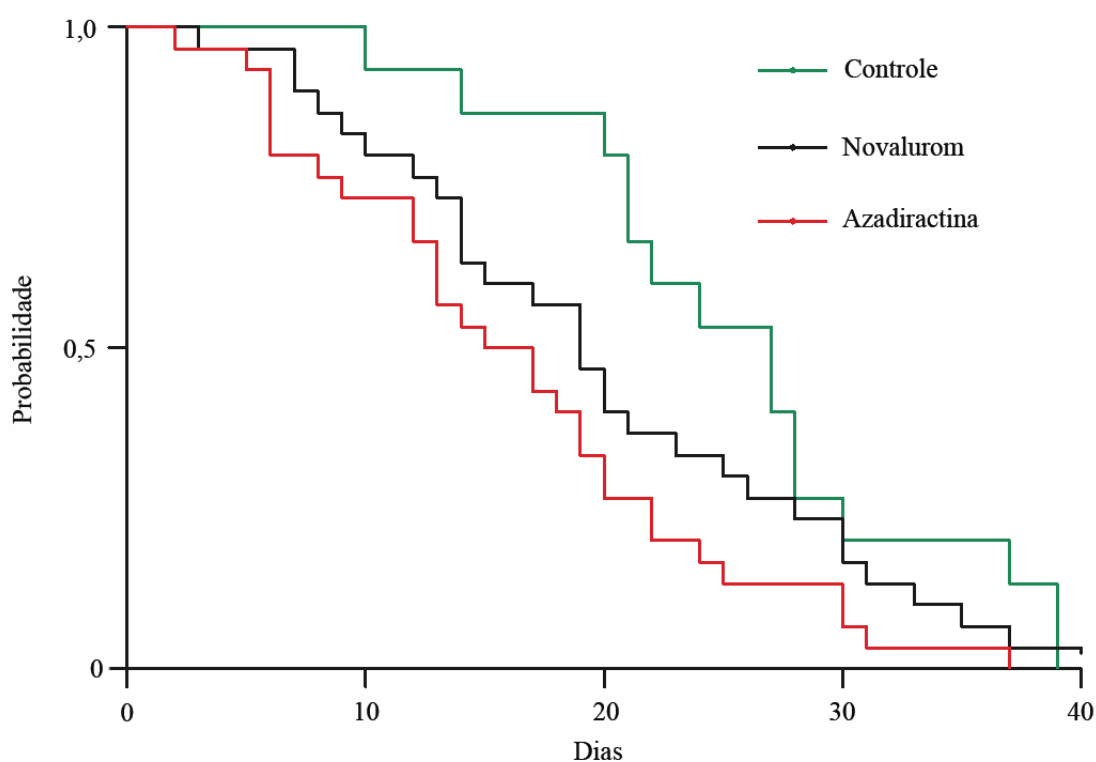


Figura 1. Sobrevivência de adultos de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) originados de ninfas expostas por contato a azadiractina e novalurom analisada com o estimador Kaplan-Meier (Método de Matel-Cox; $\chi^2= 10,70$, GL= 2, $P< 0,0047$).

3.2 Malformação

Malformações foram observadas na cabeça, escutelo, asas, pernas e durante a muda em adultos de *P. nigrispinus* emergidos de ninfas expostas aos inseticidas, mas não no controle (Figuras 2a-o). O número de malformações na cabeça ($F_{2,4} =$

10,77; $P < 0,0054$), assimetria no escutelo ($F_{2,4} = 11,61$; $P < 0,0043$), dobras e redução da área membranosa das asas ($F_{2,4} = 16,26$; $P < 0,0015$), dobras na tíbia posterior ($F_{2,4} = 17,96$; $P < 0,0011$) e morte durante ecdise ($F_{2,4} = 10,77$; $P < 0,0054$) foram maiores em adultos emergidos de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e novalurom que no controle.

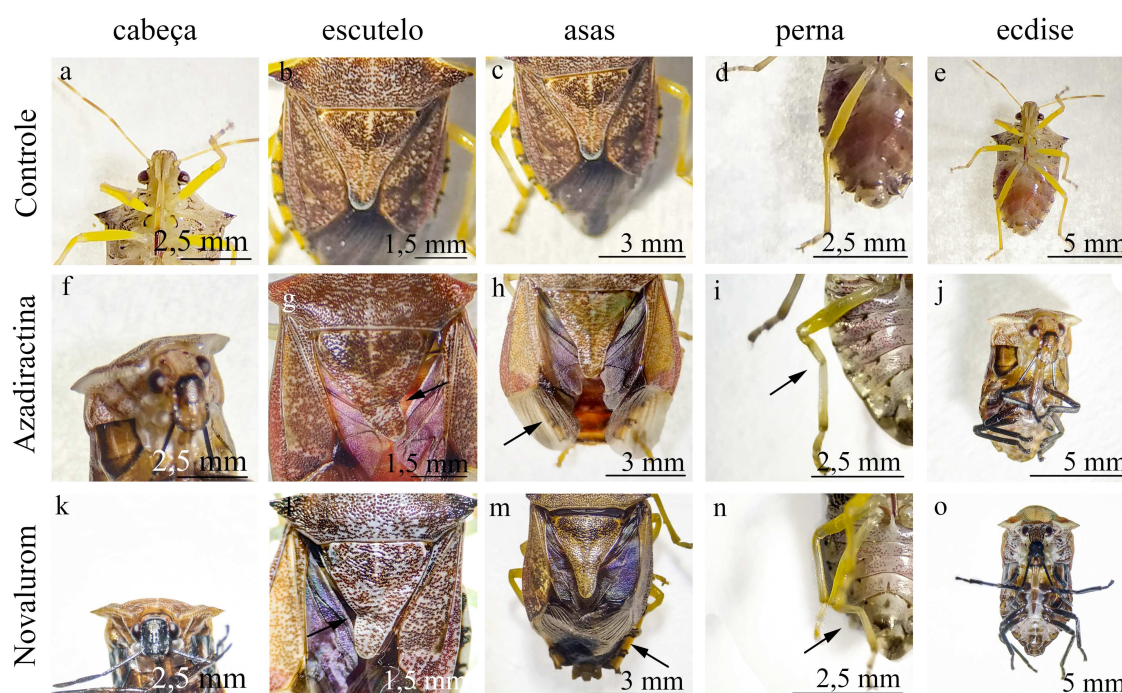


Figura 2. Anatomia externa de adultos de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) sem malformações nos insetos controle e com malformações (setas) após exposição de suas ninfas de quinto instar aos inseticidas azadiractina e novalurom. Insetos também morreram durante o processo de ecdise (j,o).

3.3 Período de oviposição

Os períodos de oviposição ($F_{2,14} = 37,57$; $P < 0,0001$) e pós oviposição ($F_{2,14} = 14,68$; $P < 0,0001$) de fêmeas de *P. nigrispinus* foram menores para aquelas emergidas de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e novalurom que no

controle, mas o período de pré oviposição ($F_{2,14} = 1,58$; $P < 0,2244$) foi semelhante entre tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Período de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição (média \pm erro padrão) de fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae), emergidas de ninfas de quinto instar no controle e daquelas emergidas de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e novalurom

Parâmetros	Controle	Azadiractina	Novalurom
Pré oviposição (dias)	10,67 \pm 2,58 a	12,07 \pm 2,94 a	12,40 \pm 2,67 a
Oviposição (dias)	23,87 \pm 6,91 a	7,60 \pm 2,03 b	6,00 \pm 1,46 b
Pós oviposição (dias)	2,8 \pm 3,91 a	1,53 \pm 0,83 b	1,27 \pm 0,88 b

Médias seguidas de mesma letra, por linha, não diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

3.4 Fêmeas expostas \times machos não expostos aos inseticidas

Os números de ovos ($F_{2,14} = 73,03$; $P < 0,0001$), posturas ($F_{2,14} = 326,38$; $P < 0,0001$) e ovos por postura ($F_{2,14} = 32,93$; $P < 0,0001$) por fêmea, a porcentagem de viabilidade ($F_{2,14} = 96,32$; $P < 0,0001$) e a longevidade ($F_{2,14} = 15,53$; $P < 0,0001$) foram menores para fêmeas de *P. nigrispinus* emergidas de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e novalurom que no controle (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros reprodutivos (média \pm erro padrão) e longevidade de fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) emergidas de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e novalurom acasaladas com machos não expostos e controle

Parâmetros	Controle	Azadiractina	Novalurom
Ovos/fêmea	95,44 \pm 29,3 a	50,73 \pm 13,40 b	46,40 \pm 13,15 b
Posturas	20,87 \pm 4,31 a	6,67 \pm 0,98 b	5,13 \pm 1,68 b
Ovos/postura	18,59 \pm 2,66 a	3,94 \pm 0,02 b	4,29 \pm 1,02 b

Viabilidade de ovos (%)	75,31 ± 14,47 a	27,10 ± 6,73 b	26,74 ± 6,20 b
Longevidade	35,8 ± 8,41 a	21,93 ± 3,33 b	19,07 ± 3,24 b

Médias seguidas de mesma letra, por linha, não diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

3.5 Fêmeas não expostas × machos expostos aos inseticidas

O número de ovos por fêmea ($F_{2,14} = 57,69$; $P < 0,0001$) de *P. nigrispinus* foi maior para aquelas acasaladas com machos emergidos de ninfas de quinto instar expostos ao novalurom, mas o número de posturas por fêmea ($F_{2,14} = 8,41$; $P < 0,0014$) foi semelhante entre tratamentos. O número de ovos por postura ($F_{2,14} = 10,04$; $P < 0,0005$) e a viabilidade de ovos ($F_{2,14} = 37,63$; $P < 0,0001$) foram menores para fêmeas acasaladas com machos emergidos de ninfas expostas a azadiractina. A longevidade ($F_{2,14} = 7,28$; $P < 0,0028$) de machos de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e novalurom foi menor que no controle (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros reprodutivos (média ± erro padrão) de fêmeas no controle e para aquelas acasaladas com machos de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) emergidos de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e novalurom e longevidade de machos

Parâmetros	Controle	Azadiractina	Novalurom
Ovos/fêmea	131,13 ± 29,3 b	88,60 ± 25,91 c	172,13 ± 14,70 a
Massa	12,40 ± 2,90 ab	9,00 ± 2,56 b	15,27 ± 5,06 a
Ovos/massa	10,22 ± 3,16 a	6,74 ± 1,18 b	10,30 ± 2,89 a
Viabilidade de ovos (%)	62,20 ± 11,64 a	34,74 ± 9,07 b	63,41 ± 7,99 a
Longevidade	32,33 ± 11,81 a	22,87 ± 2,59 b	24,60 ± 2,53 b

Médias seguidas de mesma letra, por linha, não diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

3.6 Histopatologia do corpo gorduroso

O formato das células do corpo gorduroso de fêmeas e machos de *P. nigrispinus* do grupo controle foi poligonal com citoplasma rico em vacúolos esféricos e núcleos irregulares (Figuras 3a, 3d). Os números e tamanho dos vacúolos do corpo gorduroso de fêmeas, emergidas de ninfas expostas a azadiractina, foram maiores que no controle e células e vacúolos de fêmeas emergidas de ninfas expostas a novalurom perderam o formato regular (Figuras 3b, 3c). Células e vacúolos do corpo gorduroso de machos, emergidos de ninfas expostas a azadiractina e novalurom, perderam o formato regular (Figura 3e, 3f).

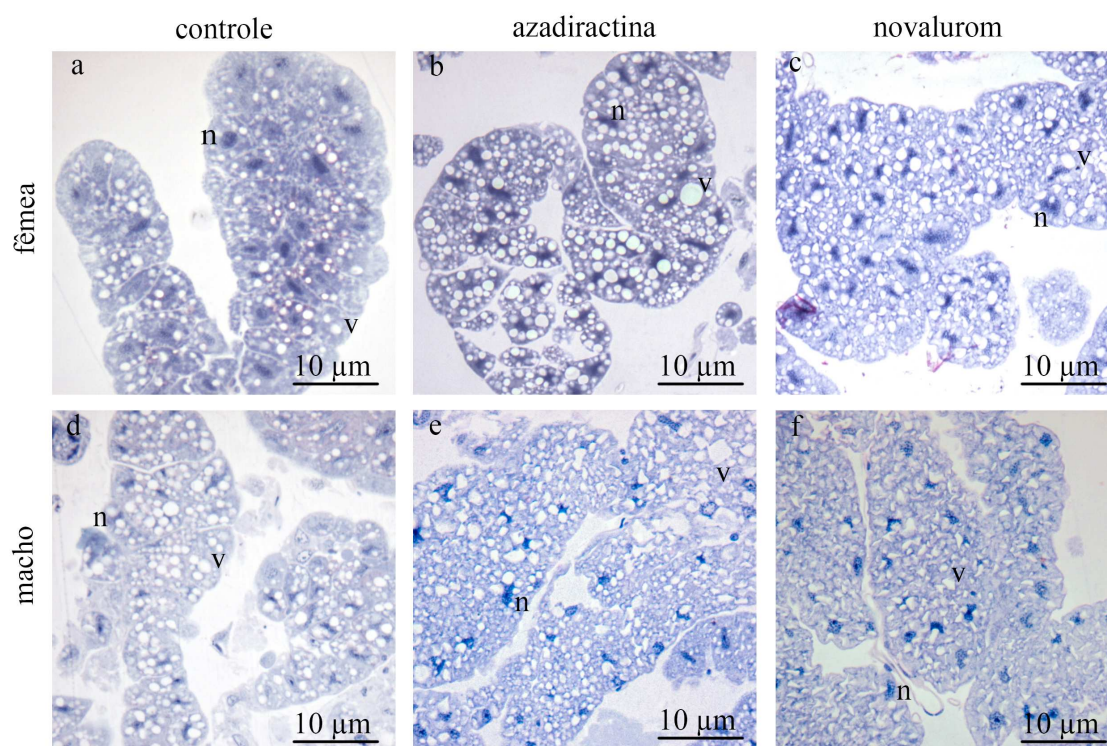


Figura 3. Microscopia de luz de corpo gorduroso de machos e fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) emergidos de ninfas de quinto instar expostos a azadiractina e novalurom, mostrando o aspecto do núcleos (n) e vacúolos citoplasmáticos (v).

4. Discussão

A menor sobrevivência de adultos de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e o novalurom pode ser devido ao uso de reservas energéticas para desintoxicação dos organismos (Tanzubil & McCaffery, 1990) e redução na alimentação não permitindo a recuperação de reservas e causando a morte precoce (Cutler et al., 2006; Betz & Andrew, 2020). Azadiractina reduziu a sobrevivência de adultos dos e *Ceraeochrysa cubana* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae), originados de ninfas de quarto instar expostas a esse inseticida (Rugno et al., 2019) e o novalurom a de *Leptopharsa gibbicarina* Froeschner (Hemiptera: Tingidae) (Martínez et al., 2021).

O maior número de malformações em adultos e no processo de muda de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e novalurom, são semelhantes àquelas em *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) e *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera, Curculionidae), respectivamente (Gastelbondo Pastrana et al., 2019; Hussain et al., 2019). Azadiractina afeta o crescimento do inseto, a partir da regulação de genes ligados a síntese de proteínas da cutícula, biossíntese de quitina e hormônios, além dos efeitos larvicida, ovicida, antialimentar e de repelência (Chaudhary et al., 2017; Shu et al., 2021). O modo específico de ação do novalurom não é, ainda, bem conhecido, mas deve ser semelhante ao de outros inseticidas do grupo das benzoiluréias, desregulando o crescimento e desenvolvimento de imaturos e a formação da cutícula (Ishaaya et al., 2003; Catchot et al., 2020). Aplicação tópica de azadiractina em pupas causou malformações em adultos de *Drosophila melanogaster* (Meigen) (Diptera: Drosophilidae) (Boulahbel et al., 2015) e o consumo de dieta contaminada com novalurom causou malformações nas asas, cabeça, pernas, tórax e abdômen de adultos de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) (Lohmeyer et al., 2014).

Os menores períodos de oviposição, pós oviposição e longevidade de *P. nigrispinus* podem ser devido ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) causado pela azadiractina e danos ao corpo gorduroso por esse inseticida e pelo novalurom (Almeida et al., 2014; Zhang et al., 2018). A relação entre ROS e a longevidade é conhecida e a azadiractina não provoca o aumento de enzimas detoxificantes, resultando em rápido acúmulo de ROS em tecidos, causando morte celular e do inseto (Zhang et al., 2018). O corpo gorduroso é o principal tecido de síntese de proteínas detoxificantes para proteção do inseto contra substâncias tóxicas e metabolismo energético e danos a este tecido reduz a capacidade detoxificante pelo inseto (Cossolin et al. 2019; Zhao et al., 2020). Azadiractina reduziu a longevidade de *D. melanogaster* e o novalurom a de machos e fêmeas de *Leptophasa gibbicarina* Froeschner (Hemiptera: Tingidae) (Martínez et al., 2021).

Os números ovos por massa e o de ovos por fêmea e a viabilidade de ovos foi menor para fêmeas de *P. nigrispinus*, emergidas de ninfas de quinto instar expostas à azadiractina e novalurom devido, provavelmente, à diminuição na síntese de vitelogenina uma vez que o corpo gorduroso também foi afetado. O corpo gorduroso produz a vitelogenina, principal proteína precursora da gema dos ovos e danos ao mesmo reduz o armazenamento e síntese de proteínas e, conseqüentemente, a reprodução (Silva et al., 2017; Amaral et al., 2018; Catchot et al., 2020). Azadiractina reduziu a fertilidade e a fecundidade de fêmeas de *D. melanogaster* (Aribi et al., 2017) e o novalurom as de *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) (Cabrera et al., 2018).

O maior número de ovos por fêmea de *P. nigrispinus*, acasaladas com machos emergidos de ninfas de quinto instar expostos ao novalurom, pode ser devido à hormese causado pelo inseticida. Hormese é o fenômeno de dose resposta

caracterizado pelo estímulo fisiológico por baixas doses e inibição por altas doses causado por substâncias tóxicas e vem sendo relatado para o novalurom (Calabrese & Baldwin, 2003; Cutler et al., 2005). O efeito hormético mais documentado em insetos é o aumento da oviposição como um processo bioquímico compensatório após a desestabilização da homeostase (Cohen 2006; Alyokhin et al., 2009).

O menor número de ovos por fêmea, posturas, ovos por postura e a viabilidade de ovos de fêmeas acasaladas com machos, emergidos de ninfas de quinto instar expostos a azadiractina, pode ser explicada pela infertilidade e um menor número de acasalamentos dos mesmos (Aribi et al., 2017). Azadiractina causa infertilidade, diminui capacidades sensoriais de machos e, conseqüentemente, as chances de acasalamento (Aribi et al., 2017; Sun et al., 2018) como relatado para o menor número de acasalamentos e descendentes de *D. melanogaster* após exposição à esse inseticida (Oulhaci et al., 2017).

A menor longevidade de machos de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas de quinto instar expostas a azadiractina e novalurom, pode ser explicada pelos danos ao corpo gorduroso, que funciona como reserva de nutrientes, energia e síntese de proteína e enzimas (Li et al., 2019). Azadiractina diminui a longevidade de adultos de *D. melanogaster* criados com dieta contaminada (Zhang et al., 2018) e o novalurom a longevidade de machos de *L. gibbicularina*, emergidos de ninfas expostas a esse inseticida (Martínez et al., 2021).

O aumento da vacuolização e a perda de formato regular de células do corpo gorduroso de *P. nigrispinus*, causados por azadiractina e novalurom, é um efeito histotóxico, comum em tecidos expostos a inseticidas (Santos Junior et al., 2020; Castro et al., 2021). O corpo gorduroso sintetiza enzimas de detoxicação, liberadas na hemolinfa (Roma et al., 2010). A distribuição do corpo gorduroso, também, expõe

o tecido a infecções e agentes xenobióticos (Tsakas & Marmaras, 2010). O grande número de vacúolos citoplasmáticos encontrados no corpo gorduroso de insetos expostos aos dois inseticidas favorece a recuperação, através da retirada de material contaminado e de substâncias tóxicas da célula, mas pode levá-la a mesma à morte, quando a vacuolização é intensa e atinge organelas importantes para o funcionamento celular (Tettamanti et al., 2006, Cossolin et al., 2019). Azadiractina reduziu a massa do corpo gorduroso e, conseqüentemente, a capacidade de síntese e armazenamento de substâncias com aumento do número de vacúolos em *Spodoptera eridania* (Stoll) (Lepidoptera: Noctuidae) e *C. claveri* (Neuroptera: Chrysopidae) (Scudeler et al., 2019). Novaluron causou perda de formato e aumentou o número de vacúolos de maior tamanho em células do intestino médio de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) (Santorum et al., 2019).

Azadiractina e Novaluron causaram danos ao desenvolvimento e reprodução de *P. nigrispinus*, reduzindo a sobrevivência e o aumento no número de malformações em adultos de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas expostas a azadiractina e novaluron, reduz o período em que o inseto está no campo e sua capacidade de predação pragas. Danos no corpo gorduroso, o principal órgão de síntese de vitelogenina, armazenamento energético e desintoxicação, provocados pelos inseticidas reduziram os parâmetros reprodutivos de fêmeas de *P. nigrispinus*. Novaluron aumentou o número de ovos por fêmea de *P. nigrispinus* acasaladas com machos emergidos de ninfas de quinto instar expostos a esse inseticida, podendo ser uma estratégia de aumento populacional desse predador em criação massal.

Referências Bibliográficas

- Almeida, G.D., Zanuncio, J.C., Senthil-Nathan, S., Pratissoli, D., Polanczyk, R.A., Azevedo, D.O., Serrão, J.E., 2014. Cytotoxicity in the midgut and fat body of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Geometridae) larvae exerted by neem seeds extract. *Invertebrate Survival Journal* 11: 79–86.
- Alyokhin, A., Guillemette, R., Choban, R., 2009. Stimulatory and suppressive effects of Novaluron on the Colorado potato beetle reproduction. *Journal of Economic Entomology* 102: 2078–2083.
- Alyokhin, A., Guillemette, R., Choban, R., 2009. Stimulatory and suppressive effects of novaluron on the Colorado potato beetle reproduction. *Journal of Economic Entomology* 102: 2078–2083.
- Amaral, K.D., Martínez, L.C., Lima, M.A.P., Serrão, J.E., Della Lucia, T.M.C., 2018. Azadirachtin impairs egg production in *Atta sexdens* leaf-cutting ant queens. *Environmental Pollution* 243: 809–814.
- Aribi, N., Oulhaci, M.C., Kilani Morakchi, S., Sandoz, J.C., Kaiser, L., Denis, B., Joly, D., 2017. Azadirachtin impact on mate choice, female sexual receptivity and male activity in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 143: 95–101.
- Barbosa, W.F., Meyer, L., Guedes, R.N.C., Smagghe, G., 2015. Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology* 24: 130–142.
- Betz, A., Andrew, N.R. 2020. Influence of non-lethal doses of natural insecticides spinetoram and azadirachtin on *Helicoverpa punctigera* (Native Budworm, Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. *Frontiers in Physiology* 11: 1089.

- Bonmatin, J.M., Mitchell, E.A.D., Glauser, G., Lumawig-Heitzman, E., Claveria, F., van Lexmond, M.B., Taira, K., Sanchez-Bayo, F., 2021. Residues of neonicotinoids in soil, water and people's hair: A case study from three agricultural regions of the Philippines. *Science of the Total Environment* 757: 143822.
- Boulahbel, B., Aribi, N., Kilani Morakchi, S., Soltani, N., 2015. Insecticidal activity of azadirachtin on *Drosophila melanogaster* and recovery of normal status by exogenous 20-hydroxyecdysone. *African Entomology* 23: 224–233.
- Cabrera, P., Cormier, D., Lucas, E., 2018. Sublethal effects of two reduced-risk insecticides: when the invasive ladybeetle is drastically affected, whereas the indigenous not. *Journal of Pest Science* 91: 1153–1164.
- Calabrese, E.J. Baldwin, L.A., 2003, Hormesis: The dose-response revolution. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 43: 97–175.
- Carvalho, J.R., Pratissoli, D., Araujo Junior, L.M., Damascena, A.P., Holts, A.M., Dalvi, L.P., Vianna, U.R., 2020. Predation behavior of *Podisus nigrispinus* on *Spodoptera eridania*. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 23(4): 1279–1282.
- Castro, B.M.C., Martínez, L.C. Plata Rueda, A., Soares, M.A., Wilcken, C.F., Zanuncio, A.J.V., Fiaz, M., Zanuncio, J.C., Serrão, 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.
- Catchot, B., Anderson, C.J.H., Gore, J., Jackson, R., Rakshit, K., Musser, F., Krishnan, N., 2020. Novaluron prevents oogenesis and oviposition by inducing ultrastructural changes in ovarian tissue of young adult *Lygus lineolaris*. *Pest Management Science* 76: 4057–4063.

- Chaudhary, S., Kanwar, R.K., Sehgal, A., Cahill, D.M., Barrow, C.J., Sehgal, R., Kanwar, J.R., 2017. Progress on *Azadirachta indica* based biopesticides in replacing synthetic toxic pesticides. *Frontiers in Plant Science* 8: 610.
- Cohen, E., 2006. Pesticide-mediated homeostatic modulation in arthropods. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85: 21–27.
- Cossolin, J.F.S., Pereira, M.J.B., Martinez, L.C., Turchen, L.M., Fiaz, M., Bozdogan, H., Serrão, J.E. (2019) Cytotoxicity of *Piper aduncum* (Piperaceae) essential oil in brown stink bug *Euchistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). *Ecotoxicology* 28: 763-770.
- Cutler, G.C., Scott Dupree, C.D., Tolman, J.H., Harris, C.R. 2006. Toxicity of the insect growth regulator novaluron to the non-target predatory bug *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *Biological Control* 38: 196–204.
- Cutler, G.C., Scott Dupree, C.D., Tolman, J.H., Harris, C.R., 2005. Acute and sublethal toxicity of novaluron, a novel chitin synthesis inhibitor, to *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest Management Science* 61: 1060–1068.
- Dasgupta, S., Meisner, C., Wheeler, D., Xuyen, K., Lam, N.T., 2007. Pesticide poisoning of farm workers—implications of blood test results from Vietnam. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 210: 121–132.
- Djeghader, N.E.H., Aïssaoui, L., Amira, K., Boudjelida, H., 2014. Impact of a chitin synthesis inhibitor, Novaluron, on the development and the reproductive performance of mosquito *Culex pipiens*. *World Applied Sciences Journal* 29: 954–960.
- Francesena, N., Schneider, M.I., 2018. Selectivity assessment of two biorational insecticides, azadirachtin and pyriproxyfen, in comparison to a neonicotinoid,

- acetamiprid, on pupae and adults of a Neotropical strain *Eretmocerus mundus* Mercet. *Chemosphere* 206: 349–358.
- Gastelbondo-Pastrana, B.I., Fernandes, F.H., Salvadori, D.M.F., Santos, D.C. 2019. The comet assay in *Ceraeochrysa claveri* (Neuroptera: Chrysopidae): A suitable approach for detecting somatic and germ cell genotoxicity induced by agrochemicals. *Chemosphere* 235: 70–75.
- Guo, W., Wu, Z., Yang, L., Cai, Z., Zhao, L., Zhou, S., 2018. Juvenile hormone-dependent Kazal-type serine protease inhibitor Greglin safeguards insect vitellogenesis and egg production. *The FASEB Journal* 33, 917–927.
- Hussain, A., AlJabr, A.M., Al Ayedh, H. 2019. Development-disrupting chitin synthesis inhibitor, novaluron, reprogramming the chitin degradation mechanism of Red palm weevils. *Molecules* 24: 4304.
- Ishaaya, I., Kontsedalov, S., Horowitz, A.R., 2003. Novaluron (Rimon), a novel IGR: potency and cross-resistance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 54: 157–164.
- Isman, M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51: 45–66.
- Jiang, L., Peng, L.L., Cao, Y.Y., Thakur, K., Hu, F., Tang, S.M., Wei, Z.J., 2020. Transcriptome analysis reveals gene expression changes of the fat body of silkworm (*Bombyx mori* L.) in response to selenium treatment. *Chemosphere* 245: 125660.
- Li, S., Yu, X., Feng, Q., 2019. Fat body biology in the last decade. *Annual Review of Entomology* 64: 315–333.

- Lohmeyer, K.H., Pound, J.M., Yeater, K.M., May, M.A. 2014. Efficacy of novaluron as a feed-through for control of immature horn flies, House flies, and stable flies (Diptera: Muscidae) developing in cow manure. *Journal of Medical Entomology* 51: 873–877.
- Martínez, L.C., Plata Rueda, A. Serrão, J.E., 2021. Effect of benzoylphenyl ureas on survival and reproduction of the lace bug, *Leptopharsa gibbicarina*. *Insects* 12: 34.
- Matioli, T.F., Zanardi, O.Z., Yamamoto, P.T., 2019. Impacts of seven insecticides on *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). *Ecotoxicology* 28: 1210–1219.
- Mordue Lunts, A.J., Nisbet, A.J., 2000. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 29: 615–632.
- Müller, C., 2018. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic and Applied Ecology* 30: 1–10.
- Oulhaci, C.M., Denis, B., Kilani Morakchi, S., Sandoz, J.C., Kaiser, L., Joly, D., Aribi, N. 2017. Azadirachtin effects on mating success, gametic abnormalities and progeny survival in *Drosophila melanogaster* (Diptera). *Pest Management Science* 74: 174–180.
- Resende-Silva, G.A., Joseph, D.A., Guedes, R.N.C., Cutler, G.C., 2019. Impact of Imidacloprid Soil Drenching on Survival, Longevity, and Reproduction of the Zoophytophagous Predator *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae: Asopinae). *Journal of Economic Entomology* 113: 108–114.
- Roma, G.C., Bueno, O.C., Camargo-Mathias, M.I., 2010. Morpho-physiological analysis of the insect fat body: A review. *Micron* 41: 395–401.

- Rugno, G.R., Zanardi, O.Z., Parra, J.R.P., Yamamoto, P.T., 2019. Lethal and sublethal toxicity of insecticides to the Lacewing *Ceraeochrysa Cubana*. *Neotropical Entomology* 48: 162–170.
- Santorum, M., Brancalhão, R.M.C., Guimarães, A.T.B., Padovani, C.R., Tettamanti, G., Santos, D.C., 2019. Negative impact of novaluron on the nontarget insect *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Environmental Pollution* 249: 82–90.
- Santorum, M., Gastelbondo-Pastrana, B.I., Scudeler, E.L., Santorum, M., Costa, R.M., Santos, D.C., 2021. Reproductive toxicity of novaluron in *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) and its impact on egg production. *Chemosphere* 273: 129592.
- Santos Junior, V.C., Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Bozdogan, H., Zanuncio, J.C. Serrão, J.E., 2019. Exposure to spinosad induces histopathological and cytotoxic effects on the salivary complex of the non-target predator *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere* 225: 688–695.
- Santos Junior, V.C., Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Fernandes, F.L., Tavares, W.S., Zanuncio, 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.
- Santos, I.T.B.F., Pinheiro, H.S.S., Santos, V.B., Santana, L.K.N., Poderoso, J.C.M., Ribeiro, G.T., 2018. Effects of temperature on the development of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae): Implications for mass rearing. *Florida Entomologist* 101(3): 458–463.
- Scudeler, E.L., Garcia, A.S.G., Padovani, C.R., Santos, D.C., 2019. Pest and natural enemy: how the fat bodies of both the southern armyworm *Spodoptera eridania*

- and the predator *Ceraeochrysa claveri* react to azadirachtin exposure. *Protoplasma* 256: 839–856.
- Shu, B., Yo, H., Li, Y., Zhong, H., Li, X., Cao, L., Lin, J. 2021. Identification of azadirachtin responsive genes in *Spodoptera frugiperda* larvae based on RNA-seq. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 172: 104745.
- Silva, C.T.S., Wanderley Teixeira, V., Cunha, F.M., Oliveira, J.V., Dutra, K.A., Ferraz Navarro, D.M.A., Teixeira, A.A.C., 2017. Effects of citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) midgut and fat body. *Biotechnic and Histochemistry* 93: 36–48.
- Simonet, G., Poels, J., Claeys, I., Van Loy, T., Franssens, V., De Loof, A., Vanden Broeck, J., 2004. Neuroendocrinological and molecular aspects of insect reproduction. *Journal of Neuroendocrinology* 16: 649–659.
- Sun, R., Cui, G., Chen, Y., Shu, B., Zhong, G., Yi, X., 2018. Proteomic profiling analysis of male infertility in *Spodoptera litura* larvae challenged with azadirachtin and its potential regulated pathways in the following stages. *Proteomics* 18: 1800192.
- Tanzubil, P.B., McCaffery, A.R. 1990. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. *Crop Protection* 9: 383–386.
- Tettamanti, G., Malagoli, D., Marchesini, E., Conjiu, T., Eguileor, M., Ottaviani, E., 2006. Oligomycin A induces autophagy in the IPLB-LdFB insect cell line. *Cell and Tissue Research* 326: 179–186.
- Torres, J.B., Zanuncio, J.C., Moura, M.A., 2006. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidoperan larval

- control in *Eucalyptus* in Brazil. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 1: 1–18.
- Tsakas, S., Marmaras, V.J., 2010. Insect immunity and its signalling: an overview. *Invertebrate Survivor Journal* 7: 228–238.
- van Lenteren, J.C., Bolckman, K., Köhl, J., Ravensberg, W.J., Urbaneja, A., 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63: 39–59.
- Zanuncio, J.C., Mourão, S.A., Martínez, L.C., Wilcken, C.F., Ramalho, F.S., Plata-Rueda, A., Soares, M.A., Serrão, J.E., 2016. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific Reports* 6: 30261.
- Zhang, J., Sun, T., Sun, Z., Li, H., Qi, X., Zhong, G., Yi, X., 2018. Azadirachtin acting as a hazardous compound to induce multiple detrimental effects in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Hazardous Materials* 359: 338–347.
- Zhao, G., Guo, H., Zhang, H., Zhang, X., Qian, H., Li, G., Xu, A., 2020. Effects of pyriproxyfen exposure on immune signaling pathway and transcription of detoxification enzyme genes in fat body of silkworm, *Bombyx mori*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 168: 104621.

CAPITULO 2

Desenvolvimento e reprodução do percevejo predador *Podisus nigrispinus* após exposição aos inseticidas reguladores de crescimento piriproxifen e tefubenzida

1. Introdução

Podisus nigrispinus (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) preda Coleoptera, Hemiptera e Lepidoptera pragas (Torres et al., 2006), sendo criado e liberado para o controle biológico (Peluzio et al., 2018; Silva et al., 2020) em diferentes culturas como algodão, soja e plantios florestais (Medeiros et al., 2004; Zanuncio et al., 2014; Castro et al., 2015). Esse predador ataca e injeta, em sua presas, compostos proteicos e não proteicos tóxicos produzidos por suas glândulas salivares, para matar e consumir as mesmas (Fialho et al., 2012; Martínez et al., 2014; 2016). O sucesso do ataque do *P. nigrispinus* depende dos tecidos do corpo da presa e da duração da ação do veneno, mesmo quando a presa escapa (Martínez et al., 2016; Campos et al., 2021).

Inseticidas utilizados no manejo integrado de pragas (MIP) devem ser seletivos a inimigos naturais (Santos Junior et al., 2020) para evitar a redução do controle biológico (Naranjo & Ellsworth, 2009; Santos Junior et al., 2019). A busca por moléculas menos impactantes ao meio ambiente e a organismos não alvos visa reduzir a contaminação de corpos d'água e o solo e o efeito residual (Santorum et al., 2019) e melhorar a compatibilidade com as demais estratégias do MIP (Joshi et al., 2020).

Inseticidas reguladores de crescimento (IRC) interrompem o crescimento, desenvolvimento e reduzem a reprodução e viabilidade de ovos de insetos (Barbosa

et al., 2018; Rolim et al., 2019). Os IRCs, a terceira geração de inseticidas, são menos tóxicos a vertebrados e invertebrados (polinizadores e inimigos naturais) com modo de ação específico e menos persistentes ao ambiente (Graf, 1993; Zibae et al., 2011). Os IRCs agem lentamente para causar a morte de insetos pragas e com maior seletividade para organismos não alvos que inseticidas neurotóxicos (Smagghe et al., 2019).

O pireproxifen, inseticida análogo ao hormônio juvenil, e o tebufenozida, agonista do ecdisônio, se destacam entre os IRCs regulando o desenvolvimento pós-embrionário e a reprodução de insetos (Alves et al., 2019; Roscoe et al., 2020). O impacto do piriproxifen, recomendado para o manejo de pragas no algodão, na sobrevivência dos predadores *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae), *Eriopis connexa* Germar (Coleoptera: Coccinellidae), *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae), e *P. nigrispinus* (Machado et al., 2019) foi baixa. No entanto, esse inseticida reduziu a sobrevivência, fecundidade, fertilidade e taxa líquida de reprodução de *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) e a longevidade, fecundidade e fertilidade de *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville (Coleoptera: Coccinellidae) quando aplicado em ninfas de segundo instar desses inimigos naturais (He et al., 2018; Iftikhar et al., 2020). O tebufenozida reduziu a reprodução e, conseqüentemente, a taxa de crescimento populacional, o tempo médio de cada geração e a taxa líquida de reprodução de *Ceraeochrysa cubana* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) (Ono et al., 2017).

O corpo gorduroso dos insetos é o principal tecido de armazenamento de energia e biossíntese de metabólitos intermediários, incluindo a vitelogenina, essencial na maturação de ovos (Arrese & Soulages, 2010; Guo et al., 2018). O funcionamento adequado dos sistemas reprodutores (masculino e feminino)

depende do corpo gorduroso, responsáveis pela reprodução e viabilidade de ovos (Arrese & Soulage, 2010; Hartfelder et al., 2017; Nantia et al., 2018). O piriproxifen aumentou a vacuolização, liberação do conteúdo celular para fora da célula e destruição de parte do corpo gorduroso de lagartas de quarto e quinto instares de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) (Zhao et al., 2020).

O piriproxifen e o tefubenoazida são inseticidas seletivos a predadores como *P. nigrispinus*, e indicados no manejo de pragas nas culturas de algodão, soja e eucalipto (Smagghe & Degheele, 1995; Medina et al., 2003; AGROFIT, 2021), mas prejudicam inimigos naturais (Ono et al., 2017; Stecca et al., 2017). O objetivo deste estudo foi verificar se os inseticidas reguladores de crescimento de insetos piriproxifen e tefubenoazide causam danos ao desenvolvimento e reprodução do predador não alvo *P. nigrispinus*. Para tanto foram avaliadas a sobrevivência, malformações, parâmetros reprodutivos e o corpo gorduroso de adultos de emergidos de ninfas expostas aos inseticidas piriproxifen e tefubenoazide.

2. Material e Métodos

2.1. Insetos

Ninfas de quinto instar e adultos de *P. nigrispinus* foram obtidos de criação massal do Laboratório de Controle Biológico de Insetos da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa, Minas Gerais, Brasil e mantidos a 27 ± 2 °C, $75 \pm 5\%$ UR, e fotoperíodo de 12:12 h [L: D]. Ninfas e adultos de *P. nigrispinus* foram alimentados com pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), folhas de *Eucalyptus grandis* (W. Hill ex. Maiden) (Myrtaceae) e água *ad libitum*.

2.2. Exposição aos inseticidas

O piriproxifen (Tiger 100 EC 100g L⁻¹; Sumitomo Chemical do Brasil Representação LTDA., São Paulo, SP, Brasil) e tebufenozida (Mimic 240 SC 240g L⁻¹; Iharabras S.A., Indústrias Químicas, Sorocaba, SP, Brasil) foram usados nos experimentos. Esses inseticidas foram diluídos em água destilada para preparar uma solução estoque (100 mL) com a dose recomendadas pelos fabricantes (piriproxifen 0,5 g L⁻¹ e tebufenozida 0,25 g L⁻¹) para o controle de pragas no campo. Água destilada foi usada como controle. A seguir, 1 µL de cada inseticida ou água destilada foi aplicado no tórax de cada ninfa (total de 285) de *P. nigrispinus*, as quais foram individualizadas em tubos de vidro (22,5 cm³) e receberam pupas de *T. molitor*, água e folhas de *Eucalyptus grandis*.

2.3. Sobrevivência

Ninfas de quinto instar de *P. nigrispinus*, expostas à dose comercial do piriproxifen e tebufenozida e aquelas do controle foram individualizadas em tubos de vidro (n=30 por inseticida). O número de insetos vivos foi avaliado, diariamente, por 50 dias após exposição aos inseticidas e no controle.

2.4. Malformações anatômicas

O número de malformações na cabeça, escutelo, asas e pernas, além de morte durante ecdise de adultos de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas de quinto instar expostas aos piriproxifen e tebufenozida (n= 30/tratamento), foram observados em estéreomicroscópio.

2.5. Parâmetros reprodutivos

Parâmetros reprodutivos dos adultos (machos e fêmeas, proporção 1:1), emergidos de ninfas de quinto instar de *P. nigrispinus* (n= 50) expostas aos piriproxifen e tebufenozida, foram avaliados. Uma fêmea tratada e um macho não tratado, ambos com dois dias de idade, foram isolados em potes (8 × 9,5 cm, 250

mL) formando 15 casais. O mesmo foi feito com machos emergidos de ninfas expostas aos inseticidas e fêmeas não tratadas. O controle foi composto por insetos não expostos aos inseticidas. Os períodos de oviposição (pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição) de fêmeas tratadas e o número de massa de ovos, ovos por massa de ovos e total de ovos e a viabilidade de ovos e longevidade de machos e fêmeas tratados foram avaliadas.

2.6. *Histopatologia corpo gorduroso de machos e fêmeas*

Quatro fêmeas e quatro machos de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas expostas aos piriproxifen e tebufenozida, foram crioanestesiadas a -4°C . O corpo gorduroso desses insetos foi dissecado em solução salina de insetos (0,1 M NaCl + 0,2 M KH_2PO_4 + 0,2 M Na_2HPO_4), fixados em solução de Zamboni por 24 horas a 4°C e desidratados em série crescente de etanol (70° , 80° , 90° e 95°) (Martínez et al., 2019). Amostras do corpo gorduroso foram embebidas em historesina (Leica Biosystems GmbH, Heildelberger, Germany), seccionadas com $3\ \mu\text{m}$ de espessura, coradas com hematoxilina e eosina e examinadas em microscópio de luz Leica DMLS.

2.7. *Estatística*

Dados de sobrevivência de *P. nigrispinus* foram submetidos à análise de sobrevivência usando o estimador Kaplan-Meier (método de Matel-Cox) com o programa GraphPad Prism v.8 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA), os de malformações e parâmetros reprodutivos à análise de variância (ANOVA) e comparação das médias entre tratamentos com o teste de Tukey ($P < 0,05$) utilizando o programa SAS versão 9.0 (SAS Institute, Campus Drive Cary, NC, USA). Dados dos parâmetros reprodutivos foram transformados com arco seno $\sqrt{x(\%)}$ para satisfazer as pressuposições de normalidade.

3. Resultados

3.1. Sobrevivência

A sobrevivência de adultos de *P. nigrispinus* foi semelhante com tebufenozida (42 dias) e no controle (39 dias) e maiores que com o inseticida piriproxifen (33 dias) ($\chi^2 = 19,64$, GL= 2, $P < 0,0001$) (Figura 1).

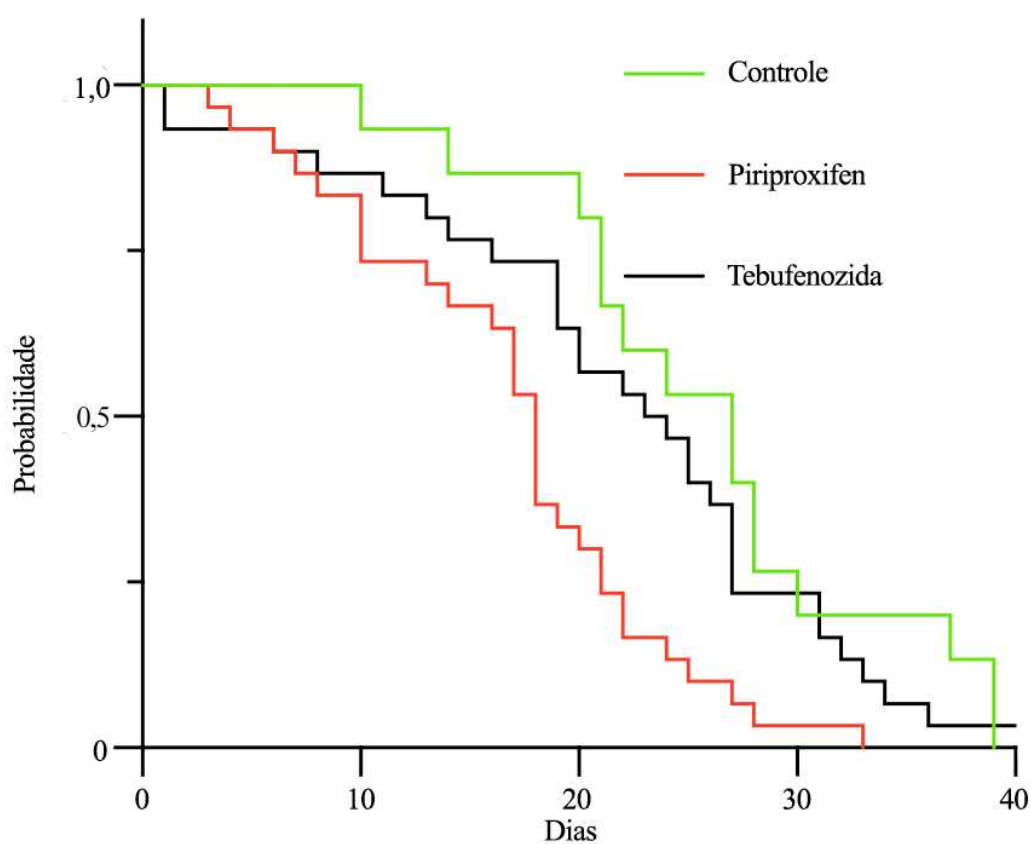


Figura 1. Sobrevivência de adultos de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae), emergidos de ninfas expostas ao piriproxifen e tebufenozida utilizando o estimador Kaplan-Meier (Método de Matel-Cox); $\chi^2 = 19,64$, GL= 2, $P < 0,0001$).

3.2. Malformações anatômicas

Malformações foram observadas em adultos de *P. nigrispinus* emergidos de ninfas expostas aos inseticidas, mas não no controle (Figura 2). Deformações na cabeça de adultos, emergidos de ninfas de quinto instar expostas com e piriproxifen e tebufenozida, não diferiram do controle ($F_{2,4} = 3,09$; $P < 0,1014$). Assimetria no escutelo foi maior em adultos, emergidos de ninfas de quinto instar expostas a pireprofixen, que naqueles emergidos de ninfas tratadas com tebufenozida e no controle ($F_{2,4} = 4,80$; $P < 0,0426$). O número de asas dobradas e reduções na área membranosa foram maiores em adultos emergidos de ninfas de quinto instar expostos a piriproxifen e tebufenozida que no controle ($F_{2,4} = 27,30$; $P < 0,0003$). O número de adultos, emergidos de ninfas de quinto instar expostos a piriproxifen, com dobras na tibia foi maior que no tratamento com tebufenozida e no controle, que não diferiram entre si ($F_{2,4} = 4,60$; $P < 0,0454$). Morte durante a muda foi maior em insetos expostos a tebufenozida que naqueles com piriproxifen e no controle ($F_{2,4} = 6,24$; $P < 0,0232$). A mortalidade de *P. nigrispinus* expostos a piriproxifen e tebufenozida que não atingiram a fase adulta foi de 20% e 23,33%, respectivamente.

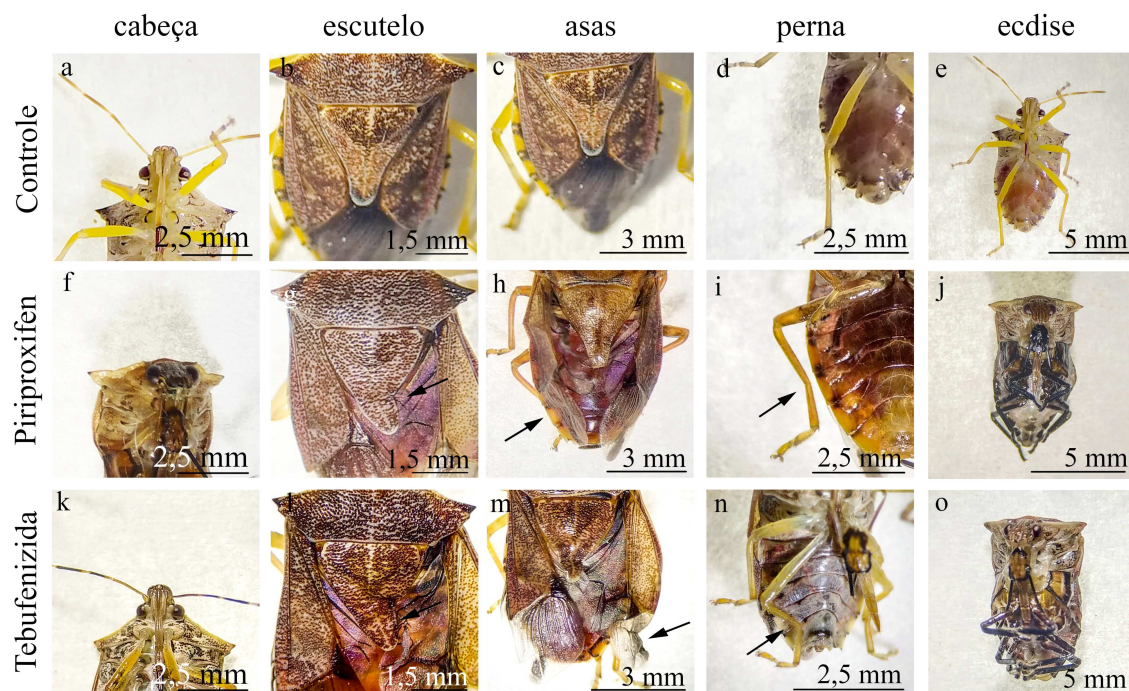


Figura 2. Anatomia externa de adultos de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) sem malformações nos insetos controle e com malformações (setas), emergidos de ninfas expostas aos inseticidas pireproxifen e tebufenozida. Insetos morreram durante a ecdise (j, o).

3.3. Parâmetros reprodutivos

3.3.1. Período de oviposição

Os períodos de pré-oviposição ($F_{2,14} = 4,26$; $P < 0,0242$) e oviposição ($F_{2,14} = 6,08$; $P < 0,0064$) de fêmeas de *P. nigrispinus*, emergidas de ninfas de quinto instar expostas ao piriproxifen e tebufenozida, foram menores que no controle e o de pós oviposição ($F_{2,14} = 0,67$; $P = 0,5213$) não diferiu entre tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição, números de ovos, posturas, ovos por postura, viabilidade de ovos e longevidade (média \pm erro padrão) de fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) emergidas de ninfas de quinto instar expostas a piriproxifen e tefubenoazida

Parâmetros	Controle	Piriproxifen	Tebufenozida
Pré oviposição (dias)	10,67 \pm 2,58a	6,8 \pm 5,85b	10,733 \pm 3,35a
Oviposição (dias)	23,87 \pm 6,91a	14,4 \pm 6,12b	18,53 \pm 7,30ab
Pós oviposição (dias)	2,8 \pm 3,91a	1,4 \pm 3,74a	1,53 \pm 2,33a
Ovos/fêmea	95,44 \pm 29,3a	44,96 \pm 40,64b	69,36 \pm 50,56ab
posturas	20,87 \pm 4,31a	14,33 \pm 6,38b	17,60 \pm 8,48ab
Ovos/postura	18,59 \pm 2,66a	15,45 \pm 5,61a	16,76 \pm 4,83a
Viabilidade de ovos (%)	75,31 \pm 14,47a	42,13 \pm 39,11b	47,77 \pm 40,34ab
Longevidade (dias)	35,8 \pm 8,41a	27,87 \pm 5,54b	31 \pm 7,65ab

Médias seguidas de mesma letra, por linha, não diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

3.3.2. Fêmeas expostas \times machos não expostos aos inseticidas

Os números de ovos ($F_{2,14} = 5,03$; $P < 0,0136$) e de posturas ($F_{2,14} = 3,28$; $P < 0,0524$) por fêmea, viabilidade de ovos ($F_{2,14} = 4,5$; $P < 0,0203$) e longevidade de fêmeas ($F_{2,14} = 5,0$; $P < 0,0140$) foram menores para fêmeas de *P. nigrispinus*, emergidas de ninfas de quinto instar expostas ao piriproxifen, que para aquelas expostas a tebufenoazida e controle. O número de ovos por postura ($F_{2,14} = 1,64$; $P = 0,2129$) não diferiu entre tratamentos (Tabela 1).

3.3.3. Fêmeas não expostas \times machos expostos aos inseticidas

Os números de ovos por fêmea ($F_{2,14}= 39,09$; $P < 0,0001$), de massa de ovos ($F_{2,14}= 5,21$; $P < 0,0119$) e de ovos por postura ($F_{2,14}= 25,25$; $P < 0,0001$) e a viabilidade de ovos ($F_{2,14}= 5,11$; $P < 0,0128$) foram menores para fêmeas não expostas aos inseticidas que acasalaram com machos de *P. nigrispinus* emergidos de ninfas de quinto instar expostas a piriproxifen e tefubenzida e no controle. A longevidade ($F_{2,14}= 29,37$; $P < 0,0001$) de machos, emergidos de ninfas de quinto instar expostas aos piriproxifen e tefubenzida, foi menor que no controle (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros reprodutivos (média \pm erro padrão) de fêmeas que acasalaram com machos de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae), emergidos de ninfas de quinto instar expostas a piriproxifen e tefubenzida, e longevidade de machos emergidos de ninfas de quinto instar expostas a esses inseticidas

Parâmetros	Controle	Piriproxifen	Tefubenzida
Ovos/fêmea	131,13 \pm 27,29a	70,27 \pm 15,54c	102,2 \pm 16,85b
Posturas	12,40 \pm 4,45a	8,93 \pm 2,66b	8,80 \pm 2,31b
Ovos/posturas	10,22 \pm 2,02b	7,67 \pm 1,07c	12,90 \pm 3,12a
Viabilidade de ovos (%)	71,53 \pm 9,63a	59,53 \pm 15,36a	56,46 \pm 15,53b
Longevidade (dias)	32,33 \pm 6,04a	19,87 \pm 5,11c	26,53 \pm 4,03b

Médias seguidas de mesma letra, por linha, na mesma linha não diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

3.4. Histopatologia do corpo gorduroso

O formato de células do corpo gorduroso de fêmeas e machos de *P. nigrispinus* no controle é poligonal e o citoplasma rico em vacúolos esféricos e núcleos irregulares (Figuras 3a, 3d). As células do corpo gorduroso de fêmeas tratadas com piriproxifen foram irregulares, com vacúolos irregulares e maiores que aqueles do controle (Figura 3b) e os vacúolos em machos foram numerosos e

menores que no controle (Figura 3e). O formato de células e vacúolos do corpo gorduroso de fêmeas tratadas com tebufenozida foi irregular e os dos vacúolos do corpo gorduroso de machos irregulares (Figuras 3.c, 3f).

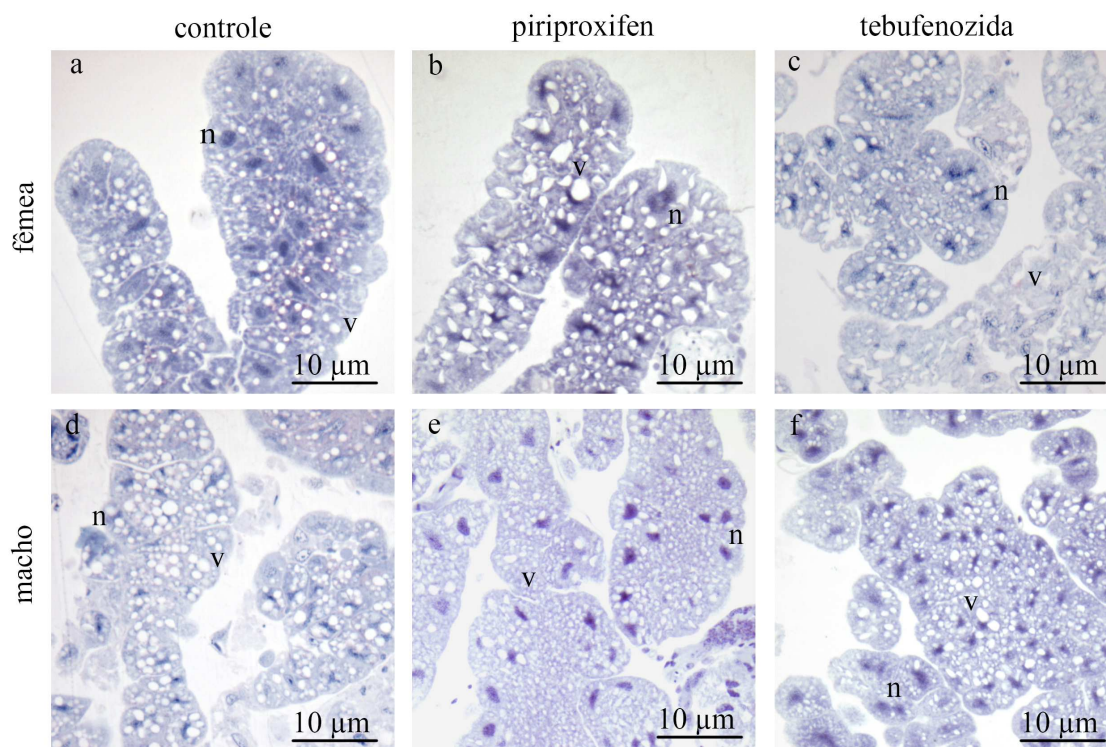


Figura 3. Microscopia de luz de corpo gorduroso de machos e fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) emergidos de ninfas de quinto instar expostos a azadiractina e novalurom, mostrando o aspecto do núcleos (n) e vacúolos citoplasmáticos (v).

4. Discussão

A menor sobrevivência de *P. nigrispinus*, com piriproxifen que no controle, reduz a permanência desse inimigo natural em campo e, conseqüentemente, o controle biológico. A ação mais lenta dos IRCs em relação aos inseticidas neurotóxicos (Smagghe et al., 2019), reduz populações de insetos de forma mais

gradual. O desbalanço hormonal, causado pelo piriproxifen, aumenta o número de espécies reativas de oxigênio no corpo provocando estresse de tecidos e podendo causar a morte do inseto (Sezer & Ozalp, 2015, Wang et al., 2019). A sobrevivência de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), expostas à dose de campo do piriproxifen, foi, também, menor (Fisher et al., 2018). O tebufenozida, também, de ação lenta provocou mortalidade gradual de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (Fiaz et al., 2018).

Malformações em adultos de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas expostas aos piriproxifen e tebubenzozide, foram, possivelmente, provocadas durante a muda, pois estes inseticidas afetam o crescimento ou desenvolvimento de insetos (Yadav et al., 2019; Roscoe et al., 2020). Isto é comum para inseticidas reguladores de crescimento (Doucet & Retnakaran, 2012; Francesena et al., 2018; Timoumi et al., 2019) afetando o balanço dos hormônios juvenil, ecdisonio e insulín-like, responsáveis pela regulação da reserva de carboidratos precursores da quitina em insetos (Keshan et al., 2017). O piriproxifen reduziu a quantidade de trealose na hemolinfa de *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) (Zibaae et al., 2011) e essa redução aumentou o número de malformação em adultos de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) (Liu et al., 2020). Aplicações de piriproxifen em ninfas de *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) provocaram malformações de antenas e asas do parasitoide *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae) (Francesena et al., 2018) devido ao efeito no hormônio juvenil e do 20-hidroxiecdisonio, os quais induzem a expressão de genes que regulam a produção de trealase, enzima utilizada na hidrólise de trealose para síntese de quitina (Yu et al., 2020). Methoxyfenozide, agonista do ecdisônio semelhante ao tebufenozida diminuiu a atividade de trealose, glicogênio e glucose,

impedindo a síntese de quitina e provocando falhas na nova epiderme e no processo de muda (Zhang et al., 2020). A alimentação em dieta artificial contaminada com tebufenozida, por lagartas de *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae) causou malformação em suas pupas e em asas de adultos (Kontogiannatos et al., 2015) como observado em *P. nigrispinus*. O maior número ninfas mortas durante o processo de ecdise, daquelas expostas ao tebufenozida, está relacionado a redução da fase ninfal, causando morte durante o processo de ecdise incompleto, como relatado para *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) (Smagghe & Degheele, 1997). Inseticidas agonistas do ecdisônio agem como 20-hidroxiectdisônio, induzindo a expressão de genes que regulam ecdise mas não se desligam, impedindo a redução da expressão dos genes relacionados a ecdise e reprimindo aqueles relacionados a formação cuticular e esclerotização do novo exoesqueleto, provocando morte como em *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae) (Retnakaran et al., 2003) e *P. nigrispinus*.

O menor período de pré-oviposição de *P. nigrispinus* está relacionado a aceleração do desenvolvimento dos ovários, provocado pelo piriproxifen como relatado para *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) (Amiri et al., 2012). O hormônio juvenil estimula aspectos ligados à reprodução e seu esgotamento no corpo do inseto bloqueia o desenvolvimento de ovários devido a redução de acúmulo de lipídios e o tamanho dos folículos epiteliais (Song et al., 2014). O fenoxicarb, outro análogo do hormônio juvenil, acelerou o desenvolvimento de ovários em fêmeas e de glândulas acessórias de machos de *Scotinophara lurida* (Burmeister) (Hemiptera: Pentatomidae), além de reduzir o período de pré-oviposição desse inseto (Cho et al., 2007).

O menor número de ovos e longevidade de fêmeas de *P. nigrispinus* podem estar relacionados ao desbalanço de vitelogenina no corpo gorduroso e na hemolinfa provocado pelo piriproxifen, diminuindo a imunidade do inseto e seus parâmetros reprodutivos (Zibae et al., 2011). A contaminação do corpo gorduroso por piriproxifen estimula genes de desintoxicação, aumentando a síntese de enzimas de desintoxicação e vacuolização do tecido (Zhao et al., 2020), diminuindo a síntese de proteínas, lipídios e carboidratos, e conseqüentemente a reprodução de fêmeas (Mulye & Gordon, 1993; Reis et al., 2018). Vitelogeninas são as principais proteínas que compõem a gema e fornecem nutrientes para a oogênese e o desenvolvimento embrionário em insetos (Hagedorn & Kunkel, 1979; Shang et al., 2018). Piriproxifen reduziu a fertilidade e longevidade de fêmeas de *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae) (Rill et al., 2007) e a de *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae) (Ohba et al., 2013; Yadav et al., 2019). A menor viabilidade de ovos de *P. nigrispinus* está relacionada à ação ovicida de inseticidas análogos do hormônio juvenil (Suman et al., 2013) interrompendo a embriogênese e diminuindo a viabilidade de ovos em insetos das ordens Coleoptera, Hemiptera e Hymenoptera (Ohba et al., 2013; Boukouvala & Kavallieratos, 2020; Naruse et al., 2021). O piriproxifen, aplicado topicamente em fêmeas, reduziu a emergência de ninfas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) (Singh & Kumar, 2015) e a emergência de *Stephanitis pyrioides* (Scott) (Hemiptera: Tingidae) (Joseph, 2019).

A falta de efeito do tebufenozida nos parâmetros reprodutivos de *P. nigrispinus* discorda do relatado para *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae) quando aplicados em suas larvas (Frankenhuyzen & Régnière, 2017). Isto confirma relatos deste inseticida, agonista do ecdisônio e

indicado no controle de lagartas, ser, seletivo para insetos predadores (Carlson, 2000) como relatado quando aplicados em ninfas de primeiro instar de *Ceraeochrysa cincta* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae) (Rugno et al., 2016).

O menor número de ovos por fêmea, massa de ovos, ovos por massa de ovos e viabilidade de ovos de *P. nigrispinus* podem estar relacionados à menor longevidade de machos oriundos de ninfas de quinto instar expostos a piriproxifen e tebufenozida. A cópula estimula a produção de ovos em fêmeas e aquelas de *P. nigrispinus* necessitam de múltiplas cópulas durante a fase adulta para uma maior reprodução (Rodrigues et al., 2008, Xu & Wang, 2011). A menor longevidade de machos reduz o número de cópulas aumentando a proporção de ovos inférteis por fêmea e diminuindo viabilidade dos ovos de *P. nigrispinus* (Torres & Zanuncio, 2001). Piriproxifen reduziu a longevidade de machos de *Musca domestica* Linnaeus (Diptera: Muscidae) (Khan, 2021) e o tebufenozida a produção e viabilidade de ovos de *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) acasaladas com machos contaminados com esse inseticida (Seth et al., 2004).

O aumento na vacuolização e a perda do formato regular nas células do corpo gorduroso de *P. nigrispinus*, nos adultos emergidos de ninfas expostas a piriproxifen e tebufenozida, são sinais da tentativa do tecido em se desintoxicar (Chaaban et al., 2019). O corpo gorduroso é um tecido importante em processos de desintoxicação, com distribuição central em contato direto com a hemolinfa e a vacuolização é um processo associado à ação desintoxicante defendendo células e evitando que grandes quantidades de substâncias tóxicas atinjam os demais órgãos (Alves et al., 2010; Wang et al., 2013; Chaaban et al., 2019). A vacuolização é um sintoma comum, após exposição ao piriproxifen e tebufenozida, tendo sido observada em células de intestino de larvas de *A. aegypti* e vacúolos cuticulares no

tegumento de larvas de *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) (El-Shazly & Refaie, 2002; Fiaz et al., 2019) e em células de intestino de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) (Fiaz et al., 2018).

Piriproxifen e tebufenozida causaram danos ao desenvolvimento e desenvolvimento do predador *P. nigrispinus*. A menor fertilidade e sobrevivência de fêmeas de *P. nigrispinus*, oriundas de ninfas expostas ao inseticida pireproxifen, diminuí o número de predadores ao longo do tempo e o período em que estão predando. O tebufenozida reduziu parâmetros reprodutivos em fêmeas acasaladas com machos contaminados e causou malformações em adultos, mas com menor impacto que o do piriproxifen para o predador *P. nigrispinus*.

Referências

- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura do Governo Federal. www.agricultura.gov.br. Acessado em 24 de maio de 2021.
- Alves, P.E.S., Oliveira, M.D.A., Almeida, P.M., Martins, F.A., Cavalcante, A.A.C.M., Andrade, T.J.A.D., Feitosa, C.M., Rai, M., Reis, A.C., Costa Junior, J.S., 2019. Determination by chromatography and cytotoxic and oxidative effects of pyriproxyfen and pyridalyl. *Chemosphere* 224, 398–406.
- Alves, S.N., Serrão, J.E., Melo, A.L., 2010. Alterations in the fat body and midgut of *Culex quinquefasciatus* larvae following exposure to different insecticides. *Micron* 41, 592–597.
- Amiri, A., Bandani, A.R., Arvishzadeh, A., 2012. Effects of the insect growth regulators methoxyfenozide and pyriproxyfen on adult diapause in Sunn pest

- Eurygaster integriceps* (Hemiptera: Scutelleridae). Journal of Agricultural Science and Technology 14, 1205–1218.
- Arrese, E.L., Soulages, J.L., 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. Annual Review of Entomology 55, 207–225.
- Barbosa, P.R.R., Oliveira, M.D., Barros, E.M., Michaud, J.P., Torres, J.B., 2018. Differential impacts of six insecticides on a mealybug and its coccinellid predator. Ecotoxicology and Environmental Safety 147, 963–971.
- Boukouvala, M.C., Kavallieratos, N.G., 2020. Effect of six insecticides on egg hatching and larval mortality of *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). Insects 11, 263.
- Campos, J.M., Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Weigand W., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., 2021. Insecticide potential of two saliva components of the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars. Toxin Reviews 1–10.
- Carlson, G.R., 2000. Tebufenozide: a novel caterpillar control agent with unusually high target selectivity. Green Chemical Syntheses and Processes 2, 8–17.
- Castro, A.A., Poderoso, J.C.M., Ribeiro, R.C., Legaspi, J.C., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2015. Demographic parameters of the insecticide-exposed predator *Podisus nigrispinus*: implications for IPM. BioControl 60, 231–239.
- Chaaban, A., Richardi, V.S., Carrer, A.R., Brum, J.S., Cipriano, R.R., Martins, C.E.N., Silva, M.A.N., Deschamps, C., Molento, M.B., 2019. Insecticide activity of *Curcuma longa* (leaves) essential oil and its major compound α -phellandrene against *Lucilia cuprinalarvae* (Diptera: Calliphoridae): Histological and ultrastructural biomarkers assessment. Pesticide Biochemistry and Physiology 153, 17–27.

- Cho, J.R., Lee, M., Kim, H.S., Boo, K.S., 2007. Effect of the juvenile hormone analog, fenoxycarb on termination of reproductive diapause in *Scotinophara lurida* (Burmeister) (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 10, 145–150.
- Doucet, D., Retnakaran, A., 2012. Insect chitin: metabolism, genomics and pest management. *Advances in Insect Physiology* 43, 437–511.
- El-Shazly, M.M., Refaie, B.M., 2002. Larvicidal effect of the juvenile hormone mimic pyriproxyfen on *Culex pipiens*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 18, 321–328.
- Fialho, M.C.Q., Moreira, N.R., Zanuncio, J.C., Ribeiro, A.F., Terra, W.R., Serrão, J.E. 2012. Prey digestion in the midgut of the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Insect Physiology* 58: 850-856.
- Fiaz, M., Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Gonçalves, W.G., Shareef, M., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., 2018. Toxicological and morphological effects of tebufenozide on *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Chemosphere* 212, 337–345.
- Fiaz, M., Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Gonçalves, W.G., Souza, D.L.L., Cossolin, J.F.S., Carvalho, P.E.G.R., Martins, G.F., Serrão, J.E., 2019. Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. *PeerJ* 7, e7489.
- Fisher, A., Colman, C., Hoffmann, C., Fritz, B., Rangel, J., 2018. The effects of the insect growth regulators methoxyfenozide and pyriproxyfen and the acaricide bifentazate on honey bee (Hymenoptera: Apidae) forager survival. *Journal of Economic Entomology* 111, 510–516.

- Francesena, N., Schneider, M.I., 2018. Selectivity assessment of two biorational insecticides, azadirachtin and pyriproxyfen, in comparison to a neonicotinoid, acetamiprid, on pupae and adults of a Neotropical strain *Eretmocerus mundus* Mercet. *Chemosphere* 206, 349–358.
- Frankenhuyzen, K., Régnière, J., 2017. Multiple effects of tebufenozide on the survival and performance of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). *The Canadian Entomologist* 149, 227–240.
- Graf, J.F., 1993. The role of insect growth regulators in arthropod control. *Parasitology Today* 9, 471–474.
- Guo, W., Wu, Z., Yang, L., Cai, Z., Zhao, L., Zhou, S., 2018. Juvenile hormone-dependent Kazal-type serine protease inhibitor Greglin safeguards insect vitellogenesis and egg production. *The FASEB Journal* 33, 917–927.
- Hagedorn, H.H., Kunkel, J.G., 1979. Vitellogenin and vitellin in insects. *Annual Review of Entomology* 24, 475–505.
- Hartfelder, K., Tiberio, G.J., Lago, D.C., Dallacqua, R.P., Bitondi, M.M.G., 2017. The ovary and its genes—developmental processes underlying the establishment and function of a highly divergent reproductive system in the female castes of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 49, 49–70.
- He, F., Sun, S., Sun, X., Ji, S., Li, X., Zhang, J., Jiang, X., 2018. Effects of insect growth-regulator insecticides on the immature stages of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 164, 665–674.
- Iftikhar, A., Hafeez, F., Hafeez, M., Farooq, M., Aziz, M.A., Sohaib, M., Naeem, A., Lu, Y. 2020. Sublethal effects of a juvenile hormone analog, Pyriproxyfen on

- demographic parameters of non-target predator, *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville (Coleoptera: Coccinellidae). *Ecotoxicology* 29: 1017–1028.
- Joseph, S.V., 2019. Transovarial effects of insect growth regulators on *Stephanitis pyrioides* (Hemiptera: Tingidae). *Journal of Pest Science* 75, 2182–2187.
- Joshi, N.K., Leslie, T., Rajotte, E.G., Biddinger, D., 2020. Environmental impacts of reduced-risk and conventional pesticide programs differ in commercial apple orchards, but similarly influence pollinator community. *Chemosphere* 240, 124926.
- Keshan, B., Thounaojam, B., Kh, S.D., 2017. Insulin and 20-hydroxyecdysone action in *Bombyx mori*: Glycogen content and expression pattern of insulin and ecdysone receptors in fat body. *General and Comparative Endocrinology* 241, 108–117.
- Khan, H.A.A. 2021. Pyriproxyfen induces lethal and sublethal effects on biological traits and demographic growth parameters in *Musca domestica*. *Ecotoxicology* 30, 610–621.
- Kontogiannatos, D., Swevers, L., Zakasis, G., Kourti, A., 2015. The molecular and physiological impact of bisphenol A in *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecotoxicology* 24, 356–367.
- Liu, X., Zou, Z., Zhang, C., Liu, X., Wang, J., Xin, T., Xia, B., 2020. Knockdown of the trehalose-6-phosphate synthase gene using RNA interference inhibits synthesis of trehalose and increases lethality rate in asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Insects* 11, 605.
- Machado, A.V.A., Potin, D.M., Torres, J.B., Silva Torres, C.S.A., 2019. Selective insecticides secure natural enemies action in cotton pest management. *Ecotoxicology and Environment Safety* 184, 109669.

- Martínez, L.C., Fialho, M.C.Q., Barbosa, L.C.A., Oliveira, L.L., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., 2016. Stink bug predator kills prey with salivary non-proteinaceous compounds. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 68, 71–78.
- Martínez, L.C., Fialho, M.C.Q., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E. 2014. Ultrastructure and cytochemistry of salivary glands of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Protoplasma* 251: 535–543.
- Medeiros, R.S., Ramalho, F.S., 2004. Estimative of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) development time with non linear models. *Neotropical Entomology* 33, 141–148.
- Medina, P., Smaghe, G., Budia, F., Tirry, L., Viñuela, E. 2003. Toxicity and absorption of azadirachtin, diflubenzuron, pyriproxyfen, and tebufenozide after popical application in predatory larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology* 32: 196–203.
- Mohaghegh, J., De Clercq, P., Tirry, L., 2001. Functional response of the predators *Podisus maculiventris* (Say) and *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) to the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae): effect of temperature. *Journal of Applied Entomology* 125, 131–134.
- Mulye, H., Gordon, R., 1993. Effects of two juvenile hormone analogs on hemolymph and fat-body metabolites of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae). *Canadian Journal of Zoology* 71, 1169–1174.
- Nantia, E.A., Kada, A.S., Manfo, F.P.T., Tangu, N.N., Mbifung, K.M., Mbouobda, D.H., Kenfack, A., 2018. Parastar insecticide induced changes in reproductive

- parameters and testicular oxidative stress biomarkers in Wistar male rats. *Toxicology and Industrial Health* 34, 499–506.
- Naranjo, S.E., Ellsworth, P.C., 2009. Fifty years of the integrated control concept: moving the model and implementation forward in Arizona. *Pest Management Science* 65, 1267–1286.
- Naruse, S., Ogino, M., Nakagawa, T., Yasuno, Y., Jouraku, A., Shiotsuki, T., Shinada, T., Miura, K., Minakuchi, C., 2021. Ovicidal activity of juvenile hormone mimics in the bean bug, *Riptortus pedestris*. *Journal of Pesticide Science* 46, 60–67.
- Ohba, S., Ohashi, K., Pujiyati, E., Higa, Y., Kawada, H., Mito, N., Takagi, M., 2013. The effect of pyriproxyfen as a “population growth regulator” against *Aedes albopictus* under semi-field conditions. *PLoS ONE* 8, e67045.
- Oliveira, H.N., Pratissoli, D., Pedruzzi, E.P., Espindula, M.C., 2004. Desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* alimentado com *Spodoptera frugiperda* e *Tenebrio molitor*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39, 947–951.
- Ono, E.K., Zanardi, O.Z., Santos, K.F.A., Yamamoto, P.T., 2017. Susceptibility of *Ceraeochrysa cubana* larvae and adults to six insect growth-regulator insecticides. *Chemosphere* 168, 49–57.
- Peluzio, R.J.E., Castro, B.M.C., Brügger, B.P., Plata-Rueda, A., Fernandes, F.L., Santos, R.H.S., Wilcken, C.F., Zanuncio, J.C., 2018. Does diet of prey affect life table parameters of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae)? *Florida Entomologist* 101, 40–43.
- Reis, T.C., Soares, M.A., Santos, J.B., Santos, S.A., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., Ferreira, E.A., 2018. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 90, 3625–3633.

- Retnakaran, A., Krell, P., Feng, Q., Arif, B. 2003. Ecdysone agonists: Mechanism and importance in controlling insect pests of agriculture and forestry. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 54: 187–199.
- Rill, S., Grafton-Cardwell, E.E., Morse, J., 2007. Effects of pyriproxyfen on California red scale (Hemiptera: Diaspididae) development and reproduction. *Journal of Entomological Entomology* 100, 1435–1443.
- Rodrigues, A.R.S., Serrão, J.E., Teixeira, V.W., Torres, J.B., Teixeira, A.A. 2008. Spermatogenesis, changes in reproductive structures, and time constraint associated with insemination in *Podisus nigrispinus*. *Journal of Insect Physiology* 54, 1543–1551.
- Rolim, G.G., Barros, E.M., Barbosa, P.R.R., Arruda, L.S., Torres, J.B., 2019. Sublethal effects of insect growth regulators on boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 112, 2222–2228.
- Roscoe, L.E., Forbes, G., Lamb, R., Silk, J.P., 2020. Effects of topical tebufenozide application to *Choristoneura fumiferana* Pupae (Lepidoptera: Tortricidae). *Insect* 11, 184.
- Rugno, G.R., Zanardi, O.Z., Cuervo, J.B., Morais, M.R., Yamamoto, P.T., 2016. Impact of insect growth regulators on the predator *Ceraeochrysa cincta* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae). *Ecotoxicology* 25, 940–949.
- Santorum, M., Brancalhão, R.M.C., Guimarães, A.T.B., Padovani, C.R., Tettamanti, G., Santos, D.C., 2019. Negative impact of novaluron on the nontarget insect *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Environmental Pollution* 249, 82–90.
- Santos Junior, V.C., V.C., Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Bozdogan, H., Zanuncio, J.C., Serrão, J.E., 2019. Exposure to spinosad induces histopathological and

cytotoxic effects on the salivary complex of the non-target predator *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere* 225, 688–695.

Santos Junior, V.C., Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Fernandes, F.L., Tavares, W.S., Zanuncio, 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.

Seth, R.K., Kaur, J.J., Rao, D.K., Reynolds, S.E. 2004. Effects of larval exposure to sublethal concentrations of the ecdysteroid agonists RH-5849 and tebufenozide (RH-5992) on male reproductive physiology in *Spodoptera litura*. *Journal of Insect Physiology* 50, 505–517.

Sezer, B., Ozalp, P., 2015. Effect of juvenile hormone analogue, pyriproxyfen on antioxidant enzymes of greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae: Galleriinae) larvae. *Pakistan Journal of Zoology* 47, 665–669.

Shang, F., Niu, J.Z., Ding, B.Y., Zhang, Q., Ye, C., Zhang, W., Smaggle, G., Wang, J.J., 2018. Vitellogenin and its receptor play essential roles in the development and reproduction of the brown citrus aphid, *Aphis* (Toxoptera) *citricidus*. *Insect Molecular Biology* 27, 221–233.

Silva, W.M., Martinez, L.C., Plata-Rueda, A., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2020. Respiration, predatory behavior and prey consumption by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs exposed to some insecticides. *Chemosphere* 261, 127720.

Singh, S., Kumar, K., 2015. Effect of juvenoids pyriproxyfen and diofenolan on embryogenesis and postembryonic development of blow fly *Chrysomya*

- megacephala* (Diptera: Calliphoridae) following egg treatment. *Parasitology Research* 114, 3213–3222.
- Smaghe, G., Degheele, D. 1995. Selectivity of nonsteroidal ecdysteroid agonists RH 5849 and RH 5992 to nymphs and adults of predatory soldier bugs, *Podisus nigrispinus* and *P. maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Economic Entomology* 88: 40–45.
- Smaghe, G., Degheele, D. 1997. Comparative toxicity and tolerance for the ecdysteroid mimic tebufenozide in a laboratory and field strain of cotton leafworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 90: 278–282.
- Smaghe, G., Zotti, M., Retnakaran, A., 2019. Targeting female reproduction in insects with biorational insecticides for pest management: a critical review with suggestions for future research. *Current Opinion in Insect Science* 31, 65–69.
- Song, J., Wu, Z., Wang, Z., Deng, S., Zhou, S., 2014. Krüppel-homolog 1 mediates juvenile hormone action to promote vitellogenesis and oocyte maturation in the migratory locust. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 52, 94–101.
- Stecca, C.S., Silva, D.M., Bueno, A.F., Pasini, A., Denez, M.D., Andrade, K. 2017. Selectivity of insecticides used in soybean crop to the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Semina, Ciências Agrárias* 38: 3469-3480.
- Strapasson, P., Pinto-Zevallos, D.M., Zarbin, P.H.G., 2016. Soybean (*Glycine max*) plants genetically modified to express resistance to glyphosate: can they modify airborne signals in tritrophic interactions?. *Chemoecology* 26, 7–14.

- Suman, D.S., Wang, Y., Bilgrami, A.L., Galgler, R., 2013. Ovicidal activity of three insect growth regulators against *Aedes* and *Culex* mosquitoes. *Acta Tropica* 128, 103–109.
- Timoumi, R., Amara, I., Neffati, F., Najjar, M.F., Golli-Bennour, E.E., Bacha, H., Abid-Essefi, S., 2019. Acute triflumuron exposure induces oxidative stress responses in liver and kidney of Balb/C mice. *Environmental Science and Pollution Research* 26, 3723–3730.
- Torres, J.B., Zanuncio, J.C. 2001. Effects of sequential mating by males on reproductive output of the stinkbug predator, *Podisus nigrispinus*. *Biocontrol* 46, 469–480.
- Torres, J.B., Zanuncio, J.C., Moura, M.A., 2006. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval control in *Eucalyptus* forests in Brazil. *Biocontrol News and Information* 15, 1–18.
- Wang, C., Zhang, Y., Li, F., Wei, W., 2019. Conserved roles of glucose in suppressing reactive oxygen species induced cell death and animal survival. *Aging* 11, 5726–5743.
- Wang, Y.H., Gu, Z.Y., Wang, J.M., Sun, S.S., Wang, B.B., Jin, Y.Q., Shen, W.D., Li, B., 2013. Changes in the activity and the expression of detoxification enzymes in silkworms (*Bombyx mori*) after phoxin feeding. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 105, 13–17.
- Xu, J., Wang, Q. 2011. Seminal fluid reduces female longevity and stimulates egg production and sperm trigger oviposition in a moth. *Journal of Insect Physiology* 57, 385–390.

- Yadav, K., Dhiman, S., Acharya, B.N., Ghorpade, R.R., Sukumaran, D., 2019. Pyriproxyfen treated surface exposure exhibits reproductive disruption in dengue vector *Aedes aegypti*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 13, e0007842.
- Yu, H., Huang, Y., Lu, Z., Zhang, Q., Su, H., Du, Y., Yi, L., Zhong, B., Chen, C., 2020. Inhibition of trehalase affects the trehalose and chitin metabolism pathways in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Insect Science* 0, 1–17.
- Zanuncio, J.C., Tavares, W.C., Fernandes, B.V., Wilcken, C.F., Zanuncio, T.V., 2014. Production and use of Heteroptera predators for the biological control of *Eucalyptus* pests in Brazil. *Ekoloji* 23, 98–104.
- Zhang, G., Zou, H., Geng, H., Ding, N., Wang, Y., Zhang, J., Zou, C., 2020. Fenoxycarb and methoxyfenozide (RH-2485) affected development and chitin synthesis through disturbing glycometabolism in *Lymantria dispar* larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 163, 64–75.
- Zhao, G., Guo, H., Zhang, H., Zhang, X., Qian, H., Li, G., Xu, A., 2020. Effects of pyriproxyfen exposure on immune signaling pathway and transcription of detoxification enzyme genes in fat body of silkworm, *Bombyx mori*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 168, 104621.
- Zibae, A., Zibae, I., Sendi, J.J., 2011. A juvenile hormone analog, pyriproxifen, affects some biochemical components in the hemolymph and fat bodies of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 100, 289–298.

CAPÍTULO 3

Hormese na reprodução de fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Hem.: Pentatomidae) acasaladas com machos emergidos de ninfas de quinto instar contaminadas com o inseticida novalurom

O inseticida novalurom, do grupo das benzoiluréias, é de terceira geração, seletivo e, ambientalmente, compatível (Mondal & Parween, 2000) no manejo de lagartas em culturas como algodão, batata, feijão, milho e soja (AGROFIT, 2021). As benzoiluréias são inseticidas reguladores de crescimento agindo na biossíntese de proteínas precursoras da quitina, causando a deposição irregular da endocutícula, interrompendo a ecdise e causando a morte de insetos (Ishaaya et al., 2003; Cutler & Scott-Dupree, 2007; Santorum et al., 2019). Inseticidas reguladores de crescimento, ao contrário dos convencionais, não causam mortalidade imediata, mas diminuem populações de pragas em longo prazo afetando a reprodução, embriogênese e desenvolvimento pós-embrionário (Mondal & Parween, 2000).

Podisus nigrispinus (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) é um percevejo predador generalista, nativo da América Latina e utilizado no manejo de pragas, principalmente lagartas, em áreas agrícolas e florestais (Pires et al., 2020). Esse inimigo natural, com alta capacidade predatória, tem sido criado (De Bortoli et al., 2016; Zanuncio et al., 2001) e liberado no manejo de pragas (Strapasson et al., 2016; Denez et al., 2014). O predador *P. nigrispinus* no manejo integrado de pragas com inimigos naturais pode ser contaminado por inseticidas químicos utilizados. Alguns inseticidas podem não causar mortalidade em doses sub-letais, mas melhorar a performance de inimigos naturais, o que é denominado hormese (Calabrese, 1999) e tem sido relatado em ácaros (Forbes, 2000) e Pentatomidae (Zanuncio et al. 2003).

O objetivo deste trabalho é relatar a ocorrência de hormese, causada pelo novalurom, na reprodução de fêmeas acasaladas com machos de *P. nigrispinus* emergidos de ninfas de quinto instar contaminadas com esse inseticida.

Ninfas de quinto instar de *P. nigrispinus* foram obtidas da criação massal do Laboratório de Controle Biológico de Insetos da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Um μL da dose de campo ($0,075 \text{ g L}^{-1}$) de novalurom (Rinon 100 EC 100 g L^{-1} ; Adama Brasil S.A., Londrina, PR, Brasil) foi aplicado no

dorso de cada uma dessas ninfas, as quais foram alimentadas com larvas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) receberam, também, água até a fase adulta. Machos emergidos de ninfas contaminadas, com esse inseticida, foram acasalados com fêmeas não contaminadas, formando 15 casais desse predador. O controle teve 15 casais com machos e fêmeas emergidos de ninfas não submetidas ao novalurom. O número e a viabilidade de ovos por fêmea foram observados, diariamente, e submetidos à análise de variância (ANOVA).

O número de ovos, diários, por fêmea de *P. nigrispinus*, acasaladas com machos emergidos de ninfas de quinto instar expostas ao novalurom, foi de 4,9, sendo 31,26% maior que daquelas acasaladas com machos emergidos de ninfas não contaminadas com esse inseticida (3,7 ovos/fêmea/dia), mas a viabilidade de ovos foi semelhante entre tratamentos (Figuras 1 e 2). Essa maior produção de ovos pode ser caracterizada como hormese, definida como um estímulo à resposta adaptativa após exposição a uma dose de um agente estressor, resultando em ganho em algum parâmetro de vida do organismo (Calabrese, 1999). Isto reforça relatos de efeito hormético do novalurom no desenvolvimento de larvas e na reprodução de fêmeas do Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) (Cutler et al., 2005; Alyokhin et al., 2009). Outros inseticidas, incluindo permetrina, imidacloprida e gammacyhalotrina, causam hormese aumentando a reprodução de *P. nigrispinus* e de *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae) (Pereira et al., 2009; Zanuncio et al., 2011; Rix & Cutler 2021).

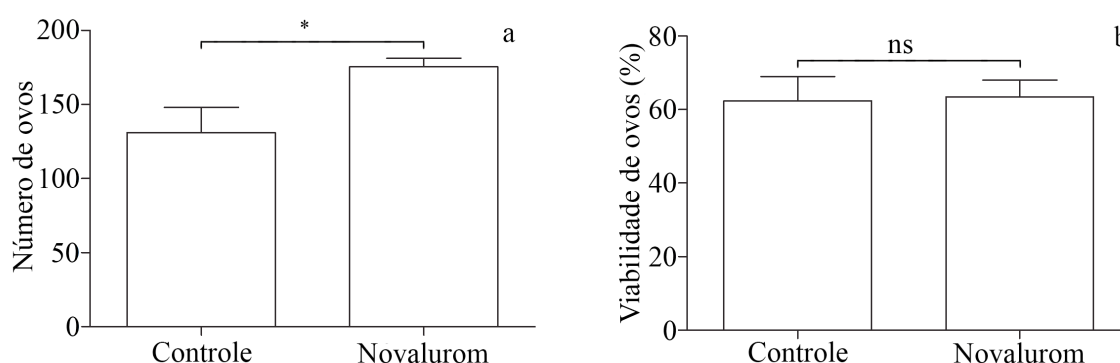


Figura 1. Número (a) e viabilidade de ovos (b) por fêmea de *Podisus nigrispinus* (Hemipera: Pentatomidae) acasaladas com machos emergidos de ninfas de quinto instar no controle ou expostas a dose comercial de nuvalurom. (*) significativo, (ns) não significativo.

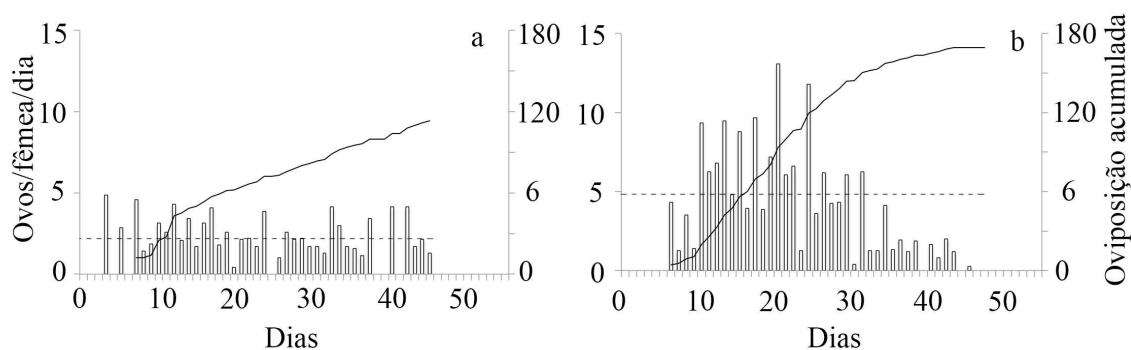


Figura 2. Média diária e total de ovos por fêmea de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) no controle (a) e acasaladas com machos emergidos de ninfas de quinto instar expostas ao novalurom (b).

O aumento populacional de insetos pragas, causado pela hormese, é prejudicial por poder aumentar os danos em culturas. Por outro lado, este efeito em insetos benéficos como polinizadores, parasitoides e predadores é benéfico e pode melhorar a produção agropecuária pela maior polinização e o controle biológico feito por esses organismos (Cutler & Guedes, 2017).

A maior reprodução, causada pelo efeito hormético do novalurom, indica que machos *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas expostas a este inibidor de crescimento, podem ser utilizados em criações comerciais para aumentar o número de indivíduos desse inimigo natural para liberações em programas de manejo integrado de pragas agrícolas e florestais.

Acknowledgements

To the Brazilian institutions “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)”, “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES- Finance Code 001)”, “Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)” and “Programa Cooperativo sobre Proteção Florestal (PROTEF) do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF)” for financial support.

Referências

- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura do Governo Federal. www.agricultura.gov.br. Acessado em 24 de setembro de 2021.
- Alyokhin, A., Guillemette, R., Choban, R., 2009. Stimulatory and suppressive effects of novaluron on the Colorado potato beetle reproduction. *Journal of Economic Entomology* 102: 2078–2083.
- Calabrese, E.J. and Baldwin, L.A. (2003) Hormesis: The dose-response revolution. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 43: 97-175.
- Cutler, G.C., Guedes, R.N.C., 2017. Occurrence and significance of insecticide-induced hormesis in insects. *Pesticide dose: effects on the environment and target and non-target organisms* 1249: 101–119.
- Cutler, G.C., Scott Dupree, C.D., 2007. Novaluron: prospects and limitations in insect pest management. *Pest Technology* 1: 38–46.
- Cutler, G.C., Scott Dupree, C.D., Tolman, J.H., Harris, C.R., 2005. Acute and sublethal toxicity of novaluron, a novel chitin synthesis inhibitor, to *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest Management Science* 61: 1060–1068.
- Forbes, V.E. 2000. Is hormesis an evolutionary expectation? *Functional Ecology* 14: 12-24.
- Ishaaya, I., Kontsedalov, S., Horowitz, A.R., 2003. Novaluron (Rimon), a novel IGR: potency and cross-resistance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 54: 157–164.
- Mondal, K.A.M.S.H., Parween, S., 2000. Insect growth regulators and their potential in the management of stored-product insect pests. *Integrated Pest Management Reviews* 5: 255–295.
- Pereira, A.I.A., Ramalho, F.C., Bandeira, C.M., Malaquias, J.B., Zanuncio, J.C., 2009. Age-dependent fecundity of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) with sublethal doses of gamma-cyhalothrin. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52: 1157–1166.
- Pires, E.M., Zanuncio, J.C., Nogueira, R.M., Soares, M.A., Oliveira, M.A., 2020. Dispersal of the zoophytophagous predator *Brontocoris tabidus* and *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) in an *Eucalyptus* plantation. *Florida Entomologist* 103:168–171.

- Rix, R.R., Cutler, G.C., 2021. Neonicotinoid exposures that stimulate predatory stink bug, *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae), reproduction do not inhibit its behavior. *Journal of Economic Entomology*, toab085.
- Santorum, M., Brancalhão, R.M.C., Guimarães, A.T.B., Padovani, C.R., Tettamanti, G., Santos, D.C., 2019. Negative impact of novaluron on the nontarget insect *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Environmental Pollution* 249: 82–90.
- Zanuncio, J.C., Jusselino Filho, P., Ribeiro, R.C., Zanuncio, T.V., Ramalho, F.S., Serrão, J.E., 2011. Hormetic responses of a stinkbug predator to sublethal doses of pyrethroid. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 87: 608–614.
- Zanuncio, T.V., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., Guedes, R.N.C. (2003) Permethrin-induced hormesis on the predator *Supputis cincticeps* (Stal, 1860) (Heteroptera: Pentatomidae). *Crop Protection* 22: 941-947.

CONCLUSÕES FINAIS

Azadiractina, novalurom, piriproxifen e tebufenozida proaram danos no desenvolvimento e reprodução de *P. nigrispinus*.

A redução da sobrevivência em adultos de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas expostas aos azadiractina, novalurom e piriproxifen reduz o período em que o inseto esta no campo. Todos os inseticidas provocaram malformações de adultos de *P. nigrispinus*, emergidos de ninfas expostas ao mesmo, podendo reduzir capacidade de predação desse inimigo natural.

Azadiractina, novalurom e piriproxifen reduziram os parâmetros reprodutivos de fêmeas emergidas de ninfas de quinto instar expostas aos mesmos, e a azadiractina, piriproxifen e tebufenozida reduziram parâmetros reprodutivos de fêmeas acasaladas com machos emergidos de ninfas expostas, podendo comprometer a manutenção populacional do predador em longo prazo.

Danos no corpo gorduroso, o principal órgão de síntese de vitelogenina, armazenamento energético, e enzimas detoxificantes provocados pelos inseticidas reduziram os parâmetros reprodutivos de fêmeas de *P. nigrispinus* e longevidade de machos.

Novalurom aumentou no número de ovos por fêmea de *P. nigrispinus* acasaladas com machos emergidos de ninfas de quinto instar expostos a esse inseticida, podendo ser uma estratégia de aumento populacional desse predador em criação massal.

O tebufenozida reduziu parâmetros reprodutivos em fêmeas acasaladas com machos, mas com menor impacto que os demais inseticidas para o predador *P. nigrispinus*.