

WILSON RODRIGUES VALBON

**IMPACTO DE DELTAMETRINA E PIRIPROXIFENO NA  
SOBREVIVÊNCIA E NAS HABILIDADES PREDATÓRIAS DE  
PERCEVEJOS AQUÁTICOS**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

V139i Valbon, Wilson Rodrigues, 1991-  
2016 Impacto de deltametrina e piriproxifeno na sobrevivência e  
nas habilidades predatórias de percevejos aquáticos / Wilson  
Rodrigues Valbon. – Viçosa, MG, 2016.  
viii, 50f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Eugênio Eduardo de Oliveira.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Inseticida - Toxicologia. 2. *Belostoma anurum*.  
3. *Buenoa amnigenus*. 4. Ecologia aquática. I. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de  
Pós-graduação em Entomologia. II. Título.

CDD 22. ed. 632.9517

WILSON RODRIGUES VALBON

**IMPACTO DE DELTAMETRINA E PIRIPROXIFENO NA  
SOBREVIVÊNCIA E NAS HABILIDADES PREDATÓRIAS DE  
PERCEVEJOS AQUÁTICOS**

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

APROVADA: 25 de julho de 2016.

---

Ana Lúcia Salaro

---

Gustavo Ferreira Martins

---

Hudson Vaner Ventura Tomé  
(Coorientador)

---

Eugênio Eduardo de Oliveira  
(Orientador)

# Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela certeza de sua presença, fidelidade e refúgio.

Agradeço ao Departamento de Entomologia e à Universidade Federal de Viçosa, pela educação e a oportunidade de realizar este trabalho.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço ao Professor e Orientador Eugênio Eduardo de Oliveira pelos ensinamentos em fisiologia e toxicologia, confiança, dedicação, amizade, extrema competência e rigor nas orientações deste trabalho.

Agradeço ao Professor Raul Guedes pelo empréstimo de equipamentos e inseticidas do Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia.

Agradeço ao coorientador Dr. Hudson Tomé pela ajuda no planejamento dos bioensaios, elaboração dos gráficos e apoio técnico.

Agradeço à equipe do Laboratório de Fisiologia e Neurobiologia de Invertebrados pelo apoio técnico, amizade e os momentos compartilhados no laboratório. Aos estagiários, Shaiene Silva e Ryan Souza pela ajuda na realização dos experimentos e, em especial, a Gabryele Ramos pela ajuda na instalação da criação dos insetos.

Agradeço à Nathaly Castellanos pela ajuda com o LyX.

Agradeço à equipe do Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia pelo apoio técnico e amizade.

Agradeço ao Professor Gustavo Martins pelo fornecimento das larvas de mosquito e por participar da banca de avaliação.

Agradeço à Professora Ana Lucia Salaro pela disponibilização da piscicultura para coleta dos insetos aquáticos e por participar da banca de avaliação.

Agradeço à Dra. Julianna Freires Barbosa (UFRJ) pela ajuda na identificação da espécie utilizada nos experimentos.

Agradeço à minha namorada Amanda Túler pelo amor, apoio, respeito e fidelidade apesar de toda a distância e dificuldades enfrentadas.

Agradeço aos meus grandes amigos Hígor Rodrigues e Vitor Zuim, pelos momentos de diversão, conversas e apoio.

Agradeço aos meus amigos de república Hígor Rodrigues, Wagner Barbosa e Fábio Pinto pelos momentos de diversão, conversas e principalmente por fazer de Viçosa um lar apesar das dificuldades.

Em especial, agradeço a toda minha família, minha mãe Zenilda Bastos e meu pai Jonas Valbon pelo amor e educação a mim dedicado. Apesar da distância e das poucas vezes que passamos juntos nesse período, o amor e afeto por vocês levo comigo.

Muito obrigado por tudo!!!

# Resumo

VALBON, Wilson Rodrigues M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2016. **Impacto de deltametrina e piriproxifeno na sobrevivência e nas habilidades predatórias de percevejos aquáticos.** Orientador: Eugênio Eduardo de Oliveira. Coorientador: Hudson Vaner Ventura Tomé.

A contaminação dos ecossistemas por inseticidas tem suscitado o interesse na investigação do impacto destes compostos em organismos não-alvo. No entanto, em se tratando da entomofauna aquática ainda existe uma carência de informações sobre os efeitos desses poluentes ambientais. Os inseticidas utilizados no controle de larvas de mosquitos vetores e de pragas agrícolas tem relevante contribuição na contaminação de corpos d'água. Entre estes grupos de inseticidas, destacam-se o inseticida piretroide deltametrina e o regulador de crescimento de insetos piriproxifeno. Alguns grupos de insetos aquáticos não-alvo desses inseticidas são predadores de artrópodes vetores de doenças e são utilizados como organismos modelos para estudos de contaminação por inseticidas em ambientes aquáticos. Em vista disto, esta dissertação foi conduzida com objetivo de avaliar a toxicidade dos inseticidas deltametrina e piriproxifeno aos percevejos aquáticos *Belostoma anurum* (Hemiptera: Belostomatidae) e *Buenoa annigenus* (Hemiptera: Notonectidae), bem como as alterações nas suas habilidades predatórias quando submetidos à exposição subletal destes inseticidas. A toxicidade destes compostos aos mosquitos foi avaliada em larvas de quarto ínstar (L4) de *Ae. aegypti* suscetíveis a inseticidas. A suscetibilidade de ninfas de barata d'água, *Be. anurum*, foi avaliada em exposição à concentrações crescentes de deltametrina e as alterações nas habilidades predatórias foram avaliadas em exposição à concentração correspondente a  $CL_{10}$  ( $13 \mu\text{g i.a./L}$ ). A suscetibilidade e a habilidade predatória de adultos do percevejo predador, *Bu. annigenus*, e de ninfas de *Be. anurum* foram avaliadas em exposição às concentrações de piriproxifeno de 0,5 e  $50 \mu\text{g i.a./L}$ , onde a maior dose equivale a recomendação para aplicação em campo. Ninfas de *Be. anurum* foram menos suscetíveis à deltametrina do que larvas de *Ae. aegypti*, com razão de seletividade ( $CL_{50}$  para *Be. anurum*/ $CL_{50}$  para *Ae. aegypti*) de 32,72 para o predador. Reduções significativas foram observadas nas sobrevivências de *Ae. aegypti* e *Be. anurum*, em concentrações de delatmetrina maiores que 1,0 e  $9,0 \mu\text{g i.a./L}$ , respectivamente. As alterações nas habilidades predatórias de *Be. anurum* foram mais

evidentes no primeiro dia de avaliação, após 24 h de exposição. O tempo gasto por ninfas de *Be. anurum* para predação de larvas de *Ae. aegypti* foi maior no primeiro dia de avaliação. O consumo médio diário e consumo total foram menores quando os insetos foram expostos à deltametrina. O piriproxifeno, por sua vez, reduziu a sobrevivência de larvas, porém, não apresentou segurança aos predadores *Bu. amnigenus* e *Be. anurum* nas concentrações avaliadas. Adultos de *Bu. amnigenus* foram altamente sensíveis ao piriproxifeno na concentração de 50 µg i.a./L, porém, a habilidade predatória não foi afetada quando expostos à 0,5 µg i.a./L. A redução da habilidade predatória de *Be. anurum* mediada por exposição ao piriproxifeno foi mais evidente no primeiro dia de avaliação, após 24 h de exposição. O consumo total de larvas de *Ae. aegypti* por ninfas de *Be. anurum* foi menor somente quando o predador foi exposto a 50 µg i.a./L. Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que deltametrina e piriproxifeno afetam a sobrevivência e habilidade predatória de percevejos aquáticos. Tal situação pode levar a alterações na comunidade de artrópodes presentes em ecossistemas aquáticos, até mesmo quando tais inseticidas encontram em concentrações não-letais.

# Abstract

VALBON, Wilson Rodrigues M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2016. **Impact of deltamethrin and pyriproxyfen on the predatory abilities of true water bugs.** Advisor: Eugênio Eduardo de Oliveira. Co-Advisor: Hudson Vaner Ventura Tomé.

Contamination of the ecosystem by insecticides has raised interest in investigating the impact of these compounds on non-target organisms. However, there is still a lack of information on the sublethal effects of these environmental pollutants to aquatic insect fauna. The insecticides commonly used to control mosquitoes vectors of diseases have significant contribution to the contamination of water bodies. Among these groups of insecticides, stands out the pyrethroid insecticide deltamethrin and the insect growth regulator pyriproxyfen, which are commonly used not only to control mosquitoes but also to control insect pests in agriculture, and hence, can also reach the aquatic ecosystem. Some groups of aquatic insects are predatory of various arthropods vectors of diseases and are used as model organisms for studies of insecticidal contamination in aquatic environments. In this way, this work was conducted to evaluate the toxicity of deltamethrin and pyriproxyfen to *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) as well as the changes in the predatory abilities of the true water bugs *Belostoma anurum* (Hemiptera: Belostomatidae) and *Buenoa annigenus* (Hemiptera: Notonectidae) submitted to sublethal exposure of these insecticides. The toxicity of these compounds to mosquitoes was assessed on L4 *Ae. aegypti* larvae. Susceptibility of the water bug nymphs, *Be. anurum*, was evaluated in exposure to increasing concentrations of deltamethrin and the changes in predatory abilities were evaluated in an exposure concentration corresponding to CL<sub>10</sub> (13 µg a.i. L<sup>-1</sup>). Susceptibility and predatory capacity of, *Bu. annigenus* adults and *Be. anurum* nymphs were evaluated using pyriproxyfen exposure to concentrations of 0.5 and 50 µg a.i. L<sup>-1</sup>, being the higher dosage equivalent to field rate recommendation. *Be. anurum* nymphs were less susceptible to deltamethrin than *Ae. aegypti* with selectivity ratio (LC<sub>50</sub> to *Be. anurum*/LC<sub>50</sub> for *Ae. aegypti*) of 32.72 in favor of the predator. Significant reductions were observed in the survival of *Ae. aegypti* and *Be. anurum* in deltamethrin concentrations higher than 1.0 and 9.0 µg a.i. L<sup>-1</sup>, respectively. Changes in predatory abilities of *Be. anurum* were more evident on the first day of evaluation, after 24 h of exposure. The time spent by *Be. anurum*

nymphs to capture *Ae. aegypti* was higher in the first day of evaluation. The average daily consumption and total consumption were lower when the insects were exposed to the pyrethroid insecticide. The insecticide pyriproxyfen, in turn, was effective in controlling *Ae. aegypti*, with a significant reduction in the larvae survival, but it did not provide security to the predators *Bu. amnigenus* and *Be. anurum* in the evaluated concentrations. *Bu. amnigenus* adults were highly sensitive to pyriproxyfen in a concentration of  $50 \mu\text{g a.i. L}^{-1}$ , but its predatory capacity was not affected when exposed to  $0.5 \mu\text{g a.i. L}^{-1}$ . The reduction of predatory ability to *Be. anurum* mediated by the exposure to pyriproxyfen was most evident in the first day of evaluation after 24 h of exposure. Total consumption of *Ae. aegypti* larvae by *Be. anurum* nymphs was lower only when the predator was exposed to  $50 \mu\text{g a.i. L}^{-1}$ . Thus, the results of this study suggest that deltamethrin and pyriproxyfen are efficient in controlling *Ae. aegypti*. Moreover, these compounds affect the survival and predatory ability of true water bugs. Such a situation may result in changes in the arthropod community present in aquatic ecosystems, even when pesticides are present at low concentrations.

# Sumário

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Introdução geral</b>   | <b>1</b>  |
| Referências . . . . .   | 3         |
| <b>Suscetibilidade e habilidade predatória de ninfas de <i>Belostoma anurum</i> (Hemiptera: Belostomatidae) expostas à deltametrina</b> | <b>6</b>  |
| Resumo . . . . .  | 7         |
| Abstract . . . . .  | 8         |
| 1.1 Introdução . . . . .  | 8         |
| 1.2 Material e Métodos . . . . .  | 10        |
| 1.2.1 <i>Obtenção e criação dos insetos</i> . . . . .   | 10        |
| 1.2.2 <i>Inseticida</i> . . . . .   | 10        |
| 1.2.3 <i>Bioensaio de concentração-mortalidade</i> . . . . .  | 11        |
| 1.2.4 <i>Bioensaio de sobrevivência</i> . . . . .   | 11        |
| 1.2.5 <i>Bioensaio de tempo para predação</i> . . . . .   | 12        |
| 1.2.6 <i>Bioensaio de habilidade predatória</i> . . . . .   | 12        |
| 1.2.7 <i>Análise estatística</i> . . . . .  | 12        |
| 1.3 Resultados . . . . .  | 13        |
| 1.3.1 <i>Curva concentração-mortalidade</i> . . . . .   | 13        |
| 1.3.2 <i>Bioensaio de sobrevivência</i> . . . . .   | 14        |
| 1.3.3 <i>Bioensaio de tempo de predação</i> . . . . .   | 15        |
| 1.3.4 <i>Bioensaio de habilidade predatória</i> . . . . .   | 16        |
| 1.4 Discussão . . . . .   | 23        |
| 1.5 Agradecimentos . . . . .  | 25        |
| 1.6 Referências . . . . .   | 25        |
| <b>Efeitos na sobrevivência e habilidade predatória de percevejos aquáticos mediados por piriproxifeno</b>                              | <b>28</b> |
| Resumo . . . . .  | 29        |
| Abstract . . . . .  | 30        |
| 2.1 Introdução . . . . .  | 30        |
| 2.2 Material e Métodos . . . . .  | 32        |
| 2.2.1 <i>Obtenção e criação dos insetos</i> . . . . .   | 32        |
| 2.2.2 <i>Inseticida</i> . . . . .   | 33        |
| 2.2.3 <i>Bioensaio de sobrevivência</i> . . . . .   | 33        |
| 2.2.4 <i>Bioensaio de predação</i> . . . . .  | 33        |
| 2.2.5 <i>Análise estatística</i> . . . . .  | 34        |

## Sumário

|       |  |           |
|-------|--|-----------|
| 2.3   | Resultados . . . . .                                     | 34        |
| 2.3.1 | <i>Bioensaio de sobrevivência</i> . . . . .              | 34        |
| 2.3.2 | <i>Bioensaio de predação com Bu. amnigenus</i> . . . . . | 37        |
| 2.3.3 | <i>Bioensaio de predação com Be. anurum</i> . . . . .    | 40        |
| 2.4   | Discussão . . . . .                                      | 46        |
| 2.5   | Agradecimentos . . . . .                                 | 47        |
| 2.6   | Referências . . . . .                                    | 47        |
|       | <b>Conclusões gerais</b>                                 | <b>50</b> |

# Introdução geral

Inúmeros estudos apontam efeitos adversos de xenobióticos (e.g., inseticidas, herbicidas, fungicidas, metais pesados) em organismos não-alvo terrestres, mas pouco ainda se tem disponível a respeito dos efeitos em artrópodes aquáticos (Relyea & Edwards, 2010; Hanlon & Relyea, 2013). A contaminação por inseticidas é considerada um estressor importante em ecossistemas aquáticos (Relyea & Hoverman, 2006; Butchart et al., 2010; Gutiérrez et al., 2016). No entanto, os efeitos destes compostos em organismos aquáticos, bem como suas interações (e.g. predador-presa) são, muitas das vezes, de elevada complexidade e de difícil avaliação. Essa complexidade está associada à grande dificuldade na determinação de parâmetros que melhor expliquem o potencial de alteração da comunidade aquática (Relyea & Edwards, 2010; Reynaldi et al., 2011; Hanlon & Relyea, 2013; Halstead et al., 2014).

Entre as formas de contaminação em ecossistemas aquáticos, o controle de insetos vetores de doenças (e.g. *Aedes aegypti*, *Culex* spp., *Anopheles* spp. (Diptera: Culicidae)) apresenta grande relevância. Somado a isso, os inseticidas utilizados no controle de insetos-praga na agricultura também são sujeitos a alcaçarem os corpos d'água e podem acarretar em efeitos letais a organismos não-alvo (Invest & Lucas, 2008; Van den Berg et al., 2012; Bengoa et al., 2014; Ponlawat et al., 2013; Gutiérrez et al., 2016; Tuten et al., 2016).

Além da letalidade, alguns estudos têm noticiado alterações comportamentais decorrentes da exposição subletal ou de curto prazo à inseticidas em organismos não-alvo (Nørum et al., 2010; Reynaldi et al., 2011; Tooming et al., 2014; Gutiérrez et al., 2016). Dentre estas alterações, encontram-se a redução na taxa de alimentação, alterações citomorfológicas no sistema nervoso central e intestino, além de alterações do comportamento locomotor (Moreira-Santos et al., 2005; Amiard-Triquet, 2009; Hanlon & Relyea, 2013; Gutiérrez et al., 2016).

Entre os inseticidas utilizados no controle de mosquitos e insetos-praga na agricultura, estão os piretroides e reguladores de crescimento de insetos (Bengoa et al., 2014; Tuten et al., 2016). Os piretroides são inseticidas neurotóxicos e induzem a inibição do fechamento dos canais de sódio, resultando numa permeabilidade prolongada da membrana do axônio ao sódio (Soderlund et al., 2002; Soderlund, 2012). Tal condição acarreta em falta de coordenação motora, convulsões e hiperatividade, ou em exposição subletal, causa paralisia temporária (Prasifka et al., 2008; Nørum et al., 2010). Adicionalmente, os piretroides apresentam relevância quanto à toxicidade à vertebrados e insetos aquáticos (Nørum et al., 2010; Tooming et al., 2014; Halstead et al., 2015; Augusiak et al., 2016; Gutiérrez et al., 2016).

O piriproxifeno, por sua vez, é um regulador de crescimento, que de modo geral, atua ligando-se a diferentes receptores do hormônio juvenil e agonisticamente ativam os mesmos genes ativados por esse hormônio (Riddiford, 1994). A eficiência do inseticida ocorre na fase larval, onde sobrecarrega o sistema hormonal e interfere no desenvolvimento do inseto e, em alguns casos, reduz a atividade alimentar (Invest & Lucas, 2008; Seccacini et al., 2008; Nasr et al., 2010). Em adultos, o inseticida pode atuar no corpo gorduroso, gônadas, glândulas acessórias, músculos e sistema nervoso (Wyatt & Davey, 1996).

Alterações no comportamento locomotor podem afetar diretamente a habilidade predatória de inimigos naturais de insetos e acarretar em desorganização de muitas comunidades ecológicas, incluindo comunidades aquáticas (Reynaldi et al., 2011). No ecossistema aquático, os insetos das famílias Notonectidae e Belostomatidae são importantes predadores de outros insetos aquáticos e pequenos vertebrados em ambientes lóticos e lênticos (Consoli et al., 1989; Pereira et al., 1993; Toledo, 2003; Shaalan et al., 2009; Kweka et al., 2011). Esses organismos são comumente usados como bioindicadores de qualidade de água, o que lhes tornam excelentes modelos para avaliação da contaminação de corpos d'água por xenobióticos (Mogren et al., 2013; Halstead et al., 2015). Embora a relevância do assunto seja ampla, poucos estudos tem sido conduzidos visando elucidar os efeitos subletais de inseticidas em insetos aquáticos.

Portanto, as experimentações científicas descritas na presente dissertação foram conduzidas visando avaliar a toxicidade dos inseticidas deltametrina e piriproxifeno aos precevejos aquáticos, *Belostoma anurum* (Hemiptera: Belostomatidea) e *Buena*

*amnigenus* (Hemiptera: Notonectidae). A toxicidade destes compostos foi-se averiguada mediante a condução de bioensaios tanto do tipo de concentração-mortalidade bem como de sobrevivência. Ademais, foram avaliadas possíveis alterações na habilidade predatória desses percevejos decorrente da exposição subletal a estes inseticidas. Deste modo, os resultados descritos no presente estudo contribuem para a avaliação dos riscos ecológicos decorrentes da exposição de predadores aquáticos (i.e., *B. amnigenus* e *B. anurum*) a inseticidas comumente utilizados no controle de *A. aegypti*.

## Referências

- Amiard-Triquet, C.** 2009. Behavioral disturbances: the missing link between suborganismal and supra-organismal responses to stress? Prospects based on aquatic research. *Human and Ecological Risk Assessment*, 15: 87-110.
- Augusiak, J.; Van den Brink, P. J.** 2016. The influence of insecticide exposure and environmental stimuli on the movement behaviour and dispersal of a freshwater isopod. *Ecotoxicology*, 1–15.
- Bengoa M., Eritja R.; Lucientes J.** 2014. Ground ultra-low volume adulticiding field trials using pyrethroids against *Aedes albopictus* in the Baix Llobregat region, Spain. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 30: 42-50.
- Butchart, S. H. M.; Walpole, M.; Collen, B.; van Strien, A.; Scharlemann, J. P. W.; et al.** 2010. Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*, 328: 1164–1168.
- Consoli, R. A. G. B. Pereira, M. H.; Melo, A. L.; Pereira, L. H.** 1989. *Belostoma micantulum* Stal, 1858 (Hemiptera: Belostomatidae) as a predator of larvae and pupae of *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae) in laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84: 577-578.
- Gutiérrez, Y.; Santos, H. P.; Serrão, J. E.; Oliveira, E. E.** 2016. Deltamethrin-mediated toxicity and cytomorphological changes in the midgut and nervous system of the mayfly *Callibaetis radiatus*. *PLoS One*, 3: e0152383.
- Halstead, N. T.; Civitello, D. J.; Rohr, J. R.** 2015. Comparative toxicities of organophosphate and pyrethroid insecticides to aquatic macroarthropods. *Chemosphere*, 135: 265–271.
- Halstead, N. T.; McMahon, T. A.; Johnson, S. A.; Raffel, T. R.; Romansic, J. M.; Crumrine, P. W.; Rohr, J. R.** 2014. Community ecology theory predicts the effects of agrochemical mixtures on aquatic biodiversity and ecosystem properties. *Ecology Letters*, 17: 932–941.
- Hanlon, S. M.; Relyea, R.** 2013. Sublethal effects of pesticides on predator-prey interactions in amphibians. *Copeia*, 4: 691-698.

**Invest. J.; Lucas, J.** 2008. Pyriproxyfen as a mosquito larvicide. In: Robinson 30 WJ, Bajomi D, eds. Proceedings of the Sixth International Conference on Urban 31 Pests. 2008 July 13–16; Budapest, Hungary. Veszpre ´m, Budapest, Hungary: 32 OOK-Press. p 239–245.

**Kweka, E. J.; Zhou, G.; Gilbreath, T. M.; Afrane, Y.; Nyindo, M.; Githeko, A. K.; Yan, G.** 2011. Predation efficiency of *Anopheles gambiae* larvae by aquatic predators in western Kenya highlands. *Parasites & Vectors*, 128(4): 1-7.

**Mogren, C. L.; Walton, W. E; Parker, D. R.; Trumble, J. T.** 2013. Trophic transfer of arsenic from an aquatic insect to terrestrial insect predators. *PLoS One*, 8(6): e67817.

**Moreira-Santos, M.; Fonseca, A. L.; Moreira, S. M.; Osten, J. R.; Silva, E. M.; Soares, A. M. V. M.; Guilhermino, L. Ribeiro, R.** 2005. Short-term sublethal (sediment and aquatic roots of floating macrophytes) assays with a tropical chironomid based on postexposure feeding and biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24: 2234-2242.

**Nasr, H. M.; Badawy, M. E. I.; Rabea, E. I.** 2010. Toxicity and biochemical study of two insect growth regulators, buprofezin and pyriproxyfen, on cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98: 198–205.

**Nørum, U.; Friberg, N.; Jensen, M. R.; Pedersen, J. M.; Bjerregaard, P.** 2010. Behavioural changes in three species of freshwater macroinvertebrates exposed to the pyrethroid lambda-cyhalothrin: laboratory and stream microcosm studies. *Aquatic Toxicology*, 98: 328–335.

**Pereira, M. H; Silva, R. E.; Azevedo, A. M. S.; Melo, A. L.; Pereira, L. H.** 1993. Predations of *Biomphalaria glabrata* during the development of *Belostoma anurum* (Hemiptera, Belostomatidae). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 35: 405-409.

**Ponlawat, A.; Fansiri, T.; Kurusartra, S.; Pongsiri1, A; McCardle, P. W.; Evans, B. E.; Richardson, J. H.** 2013. Development and evaluation of a pyriproxyfentreated device to control the dengue vector, *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 44: 167-178.

**Prasifka, J. R.; Lopez, M. D.; Hellmich, R. L.; Prasifka, P. L.** 2008. Effects of insecticide exposure on movement and population size estimates of predatory ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Pest Management Science*, 64: 30–36.

**Relyea, R. A.; Edwards, K.** 2010. What Doesn't kill you makes you sluggish: how sublethal pesticides alter predator–prey interactions. *Copeia*, 4: 558-567.

**Relyea R. A.; Hoverman J.** 2006. Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. *Ecology Letters*, 9: 1157–1171.

**Reynaldi, S.; Meiser, M.; Liess, M.** 2011. Effects of the pyrethroid fenvalerate on the alarm response and on the vulnerability of the mosquito larva *Culex pipiens molestus* to the predator *Notonecta glauca*. *Aquatic Toxicology*, 104: 56-60, 2011.

- Riddiford, L. M.** 1994. Cellular and molecular actions of juvenile hormone: general considerations and premetamorphic actions. *Advances in Insect Physiology*, 24: 213-274.
- Shalan, E. A. S.; Canyon, D. V.** 2009. Aquatic insect predators and mosquito control. *Tropical Biomedicine*, 26: 223–261.
- Seccacini, E.; Lucia, A.; Harburguer, L.; Zerba, E.; Licastro, S; Masuh, H.** 2008. Effectiveness of pyriproxyfen and diflubenzuron formulations as larvicides against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24: 398-403.
- Soderlund, D. M.** 2012. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. *Archives of Toxicology*, 86: 165–181.
- Soderlund, D. M.; Clark, J. M.; Sheets, L. P.; Mullin, L. S.; Piccirillo, V. J.; Sargent, D.; Stevens, J. T.; Weiner, M. L.** 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171: 3–59.
- Tuten, H. C.; Moosmann, P.; Mathis, A.; Schaffner, F.** 2016. Effects of pyriproxifen on *Aedes japonicus* development and its auto-dissemination by gravid females in laboratory trials. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 32: 55-58.
- Toledo, L. P.** 2003. Predation on seven South American anuran species by water bugs (Belostomatidae). *Phyllomedusa*, 2: 105:108.
- Tooming, E.; Merivee, E.; Must, A.; Sibul, I.; Williams, I.** 2014. Sub-lethal effects of the neurotoxic pyrethroid insecticide Fastac<sup>®</sup> 50EC on the general motor and locomotor activities of the non-targeted beneficial carabid beetle *Platynus assimilis* (Coleoptera: Carabidae). *Pest Management Science*, 70: 959–966.
- Van den Berg, H.; Zaim, M.; Yadav, R. S.; Soares, A.; Ameneshewa, B.; Mnzava, A.; Hii, J.; Dash, A.P.; Ejov, M.** 2012. Global trends in the use of insecticides to control vector-borne diseases. *Environmental Health Perspectives*. 120: 577–582.
- Wyatt, G. R.; Davey, K. G.** 1996. Cellular and molecular actions of juvenile hormone. II. Roles of juvenile hormone in adult insects. *Advances in Insect Physiology*, 26: 1-155.

**Suscetibilidade e habilidade predatória de  
ninfas de *Belostoma anurum* (Hemiptera:  
Belostomatidae) expostas à deltametrina**

## Suscetibilidade e habilidade predatória de ninfas de *Belostoma anurum* (Hemiptera: Belostomatidae) expostas à deltametrina

### Resumo

O inseticida piretroide deltametrina apresenta relevante importância no contexto agrícola e urbano, por ser utilizado no controle de insetos-praga e vetores de doenças. No entanto, a aplicação dessa tecnologia pode acarretar em contaminação do ecossistema aquático e afetar organismos não-alvo. As informações disponíveis sobre os efeitos subletais de inseticidas em inimigos naturais (i.e., organismos que regulam populações de insetos-pragas) focam principalmente em predadores terrestres. Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar a suscetibilidade e os efeitos subletais nas habilidades predatórias de barata d'água, *Belostoma anurum* expostas à deltametrina. Larvas de *A. aegypti* e ninfas de *B. anurum* foram obtidos de criação estabelecida em laboratório. Larvas de quarto ínstar de *A. aegypti* (L4) e ninfas de *B. anurum* foram expostos à concentrações crescentes de deltametrina (5 a 1000 µg i.a./L), para estimativa das curvas de concentração-mortalidade e de sobrevivência. A habilidade predatória de ninfas de *B. anurum* foi avaliada após exposição à concentração de deltametrina correspondente a CL<sub>10</sub> (13 µg i.a./L). Deltametrina apresentou alta toxicidade à *A. aegypti* e uma razão de seletividade de 32,72 vezes para *B. anurum*. A redução da sobrevivência das espécies foi concentração-dependente e a habilidade predatória de *B. anurum* também foi afetada por deltametrina. As alterações foram mais evidentes no primeiro dia de avaliação após a exposição, com aumento do tempo para predação e redução do número de larvas consumidas. Os resultados indicaram que embora deltametrina seja altamente eficiente no controle de *A. aegypti*, esse inseticida reduz a sobrevivência do predador *B. anurum*. Assim, em um cenário de exposição ao inseticida, *B. anurum* pode estar sujeito a redução da sobrevivência bem como de sua habilidade predatória.

**Palavras-chave:** ecotoxicologia, ambiente aquático, inseticida, barata d'água

## Abstract

The insecticide deltamethrin shows relevant importance in the agriculture and urban areas for its use in the control of agricultural pests as well as insect disease vectors. However, application of this compound can result in contamination of aquatic ecosystem and affect non-target organisms. Available information on the sublethal effects of insecticides on natural enemies (i.e., organisms that regulate insect-pest populations) focuses primarily on terrestrial predators. Therefore, the objective of this study was to evaluate the susceptibility and sublethal effects of predatory water cockroach, *Belostoma anurum*, exposed to deltamethrin. *A. aegypti* larvae and *B. anurum* nymphs were obtained from established laboratory. Four instar larvae of *A. aegypti* (L4) and *B. anurum* nymphs (2<sup>nd</sup> instar) were exposed to increasing concentrations of deltamethrin (5 to 1000  $\mu\text{g a.i. L}^{-1}$ ) to estimate concentration-mortality and survival curves. The predatory ability of *B. anurum* nymphs was evaluated after exposure to the deltamethrin concentration corresponding to LC<sub>10</sub> (13  $\mu\text{g a.i. L}^{-1}$ ). Deltamethrin showed high toxicity to *A. aegypti* and a selectivity ratio of 32.72-fold for *B. anurum*. The reduction of species survival was concentration-dependent and the predatory ability of *B. anurum* was also affected by deltamethrin. The changes were more evident on the first day of evaluation after exposure, with increased time to predation and reduction in the number of larvae consumed. The results indicated that although deltamethrin is highly efficient in the control of *A. aegypti*, this insecticide reduces the survival of the predator *B. anurum*. Thus, in an insecticide exposure scenario, *B. anurum* may be subject to reduced survival as well as its predatory ability.

**Key words:** ecotoxicology, aquatic environment, pesticide, water bug

## 1.1 Introdução

Alguns insetos aquáticos desempenham papel importante no ecossistema, por atuarem como inimigos naturais de diversos artrópodes vetores de doenças e pequenos vertebrados, e ainda serem utilizados como organismos modelos para estudos de contaminação de ambientes aquáticos (Toledo, 2003; Shaalan & Canyon, 2009; Figueiredo de Andrade et al., 2010; Halstead et al., 2015). Esses organismos são sujeitos a ex-

posição à xenobióticos e qualquer alteração pode levar a desordens na estrutura da comunidade aquática, caso as relações ecológicas intra e interespecíficas sejam afetadas (Desneux et al., 2007; Relyea & Hoverman, 2008; Reynaldi et al., 2011).

Deltametrina é um inseticida piretroide que apresenta largo espectro de utilidade, sendo eficiente no controle de insetos-praga na agricultura e mosquitos vetores de doenças em ambiente urbano (Van den Berg et al., 2012; EPA, 2013; Bengoa et al. 2014). O mecanismo de ação eficiente e a baixa toxicidade à mamíferos, quando comparado a outros inseticidas, coloca os piretroides em posição de destaque (Amweng et al., 2015). No entanto, o uso indiscriminado e contínuo desse composto pode acarretar em seleção de organismos alvos resistentes e desencadear efeitos adversos em inimigos naturais de insetos (Desneux et al., 2007; WHO, 2013; Strode et al., 2014; Halstead et al., 2015). Ademais, alguns estudos apontam que insetos aquáticos não-alvo são altamente sensíveis quando expostos à piretroides (Weston et al., 2005; Hanlon & Relyea, 2013; Halstead et al., 2015; Gutiérrez et al., 2016).

Inimigos naturais gastam uma proporção significativa de sua vida em busca de hospedeiros ou presas. Esse comportamento de procura depende inteiramente de transmissões nervosas, que são alvo de inseticidas neurotóxicos por diferentes modos de ação (Toledo, 2003; Desneux et al., 2007; Kweka et al., 2011). Os piretroides, além da letalidade, são conhecidos pelo seu efeito direto sobre o sistema locomotor de artrópodes, induzindo diferentes graus de paralisia e alterações na atividade locomotora, dependendo da concentração (Desneux et al., 2007; Prasifka et al., 2008; Nørum et al., 2010). Quando expostos à concentração subletal de piretroides, alguns insetos tem suas atividades vitais comprometidas, tal condição pode levar a redução da alimentação e, conseqüentemente declínio da população (Desneux et al., 2004; Desneux et al., 2007; Nørum et al., 2010).

No entanto, informações acerca dos efeitos subletais de inseticidas no comportamento predatório de insetos aquáticos predadores são escassos. Mediante a isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade do inseticida deltametrina à larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e os efeitos subletais nas habilidades predatórias de barata d'água, *Belostoma anurum* (Hemiptera: Belostomatidae).

## 1.2 Material e Métodos

### 1.2.1 Obtenção e criação dos insetos

*Aedes aegypti*: larvas de quarto ínstar (L4) suscetível a piretroide (cepa PPCampos/Campos dos Goytacazes - RJ) foram obtidas da colônia mantida no insetário do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, MG, Brasil). As larvas foram alimentadas com ração de tartaruga Fed (Reptolife, Alcon Pet, Camburiú, SC, Brasil), sob temperatura ( $25 \pm 2$  °C) e fotoperíodo (12 h) controlados (Marriel et al., 2016).

*Belostoma anurum*: adultos de *B. anurum* foram coletados utilizando rede entomológica (D-net) no setor de piscicultura da Universidade Federal de Viçosa (UFV, Viçosa, MG, Brasil, 20°45' S, 42°52' W) e levados para o Laboratório de Fisiologia e Neurobiologia de Invertebrados para estabelecimento da população. Os adultos foram mantidos em aquário (30 x 40 x 60 cm) com água proveniente dos tanques de piscicultura para permitir a cópula. Machos com ovos no hemiélitro foram individualizados e após emergência, as ninfas foram individualizadas em recipientes de vidro (30 ml) até o quarto ínstar para evitar o canibalismo. Ninfas do primeiro ao terceiro ínstar foram alimentadas diariamente com larvas de *A. aegypti*. As ninfas de quarto ínstar foram transferidas para recipientes de vidro maiores (100 ml). Ninfas de quarto e quinto ínstar e adultos de *B. anurum* foram alimentados com *Martarega* spp. e *Buenoa* spp. (Hemiptera: Notonectidae) coletados no setor de piscicultura. Todos os ínstars e adultos de *B. anurum* foram mantidos em água proveniente dos tanques de piscicultura à  $25 \pm 5$  °C e 12 h de fotoperíodo.

### 1.2.2 Inseticida

Nos bioensaios foi utilizado a formulação comercial do inseticida piretroide deltametrina (Decis 25 EC® [25 g de deltametrina/L] Bayer CropScience, São Paulo, SP, Brasil). As concentrações de inseticida utilizadas foram preparadas mediante diluição em recipientes de vidro contendo água destilada e durante a exposição ao inseticida os insetos não foram alimentados.

### 1.2.3 Bioensaio de concentração-mortalidade

L4 de *A. aegypti* foram expostas às concentrações de 0,5; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 10  $\mu\text{g}$  i.a./L em recipientes de vidro com 200 mL de solução inseticida e cobertos com tampa plástica. Para cada concentração foram realizadas quatro repetições de 20 insetos. Por sua vez, ninfas de segunda geração (F2) de *B. anurum* (0-72 h após a ecdise) foram expostas individualmente às concentrações de 9; 90; 150; 240; 280 e 1000  $\mu\text{g}$  i.a./L em recipientes de vidro, porém, contendo apenas 100 mL de solução inseticida e cobertos com tecido organza. Para cada concentração foram realizadas cinco repetições de 10 insetos. A mortalidade foi avaliada 24 h após a exposição. No tratamento controle, os insetos foram expostos à água destilada e insetos sem movimentação após estímulos mecânicos foram considerados mortos. Para *B. anurum*, a exposição inseticida foi realizada individualmente para evitar o canibalismo.

### 1.2.4 Bioensaio de sobrevivência

No bioensaio de sobrevivência, as espécies foram expostas a concentração abaixo da  $CL_{50}$ ,  $CL_{50}$  e acima da  $CL_{90}$  (letal), obtidas no bioensaio de concentração-mortalidade. L4 de *A. aegypti* foram expostas às concentrações de 1,0; 3,0 e 7,0  $\mu\text{g}$  i.a./L em recipientes de vidro com 200 mL de solução inseticida e cobertos com tampa plástica. Para cada tratamento foram realizadas quatro repetições de 20 insetos e a mortalidade foi avaliada a cada 24 h até a emergência dos adultos. Por sua vez, ninfas de segunda geração (F2) de *B. anurum* (0-72 h após a ecdise) foram expostas às concentrações de 9, 90 e 280  $\mu\text{g}$  i.a./L em recipientes de vidro com 100 mL de solução inseticida e cobertos com tecido organza. Para cada tratamento foram realizadas trinta repetições (insetos) e a avaliação foi realizada a cada 24 h até a ecdise ou morte das ninfas. No tratamento controle, os insetos foram expostos à água destilada e insetos sem movimentação após estímulos mecânicos foram considerados mortos. Para *B. anurum*, a exposição inseticida foi realizada individualmente para evitar o canibalismo.

### **1.2.5 Bioensaio de tempo para predação**

Ninfas de segunda geração (F2) de *B. anurum* (0-72 h após a ecdise) foram expostas à concentração de 13  $\mu\text{g}$  de i.a./L (correspondente a  $\text{CL}_{10}$ , baseado no bioensaio de concentração-resposta) por 24 h. Após a exposição inseticida, os insetos foram removidos e mantidos em recipientes de vidro com 20 mL de água destilada por uma hora. Decorrido esse período de recuperação, foi oferecida uma L4 de *A. aegypti* e mensurado o tempo gasto para a predação, em segundos. Para cada tratamento (controle e 13  $\mu\text{g}$  de i.a./L) foram realizadas oito repetições (insetos) e o tempo máximo de espera para a predação foi de dois minutos (120 segundos). Concentrações acima da  $\text{CL}_{10}$  não foram utilizadas devido aos insetos apresentarem sintomas de intoxicação, como redução do comportamento natatório.

### **1.2.6 Bioensaio de habilidade predatória**

Ninfas de segunda geração (F2) de *B. anurum* (0-72 h após a ecdise) foram expostas à concentração de 13  $\mu\text{g}$  de i.a./L (correspondente a  $\text{CL}_{10}$ , baseado no bioensaio de concentração-resposta) por 24 h. Após a exposição inseticida, os insetos foram removidos e mantidos em recipientes de vidro com 100 mL de água destilada por uma hora. Decorrido esse período de recuperação, foram oferecidas L4 de *A. aegypti* em três densidades (3, 6 e 9 larvas). O número de larvas predadas foi avaliado em intervalos de 40 minutos durante seis horas, e a densidade de L4 de *A. aegypti* foi restabelecida no final de cada avaliação. A avaliação do número de L4 predadas foi realizada durante quatro dias e para cada tratamento (concentrações e densidades) foram realizadas quinze repetições (insetos) .

### **1.2.7 Análise estatística**

As curvas dos bioensaios de concentração-mortalidade foram estimadas pelo modelo de Probit, utilizando o procedimento PROC PROBIT (SAS Institute, 2008). Os dados dos bioensaios de sobrevivência foram submetidos à análise de sobrevivência, utilizando os estimadores de Kaplan-Meier (método Log-rank) e comparadas pelo teste

de Holm-Sidak com o software SigmaPlot 12.5 (Systat Software, San Jose, Califórnia, EUA). Os dados de predação larval foram submetidos a análises de variância com medidas repetidas no tempo para determinar os efeitos do inseticida, da densidade e do tempo de recuperação. Os fatores estudados foram inseticida e densidade, e larvas predadas como pseudorepetição. O tempo necessário para predação da primeira larva bem como a quantidade predadas a cada 40 min foram utilizados como medidas repetidas no tempo. Os dados de larvas predadas também foram submetidos à análise de variância (One-Way) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey.

## 1.3 Resultados

### 1.3.1 Curva concentração-mortalidade

O modelo de Probit foi adequado para os resultados de concentração-mortalidade de *A. aegypti* e *B. anurum*. Baseados em baixos valores de  $\chi^2$  e alto valor de  $P$  ( $> 0,05$ ), a  $CL_{50}$  estimada para *A. aegypti* foi de 2,78 (2,27 - 3,30)  $\mu\text{g}$  de i.a./L, enquanto que a  $CL_{50}$  estimada para *B. anurum* foi de 90,89 (64,37 - 121,48)  $\mu\text{g}$  de i.a./L (Figura 1.1, Tabela 1.1).

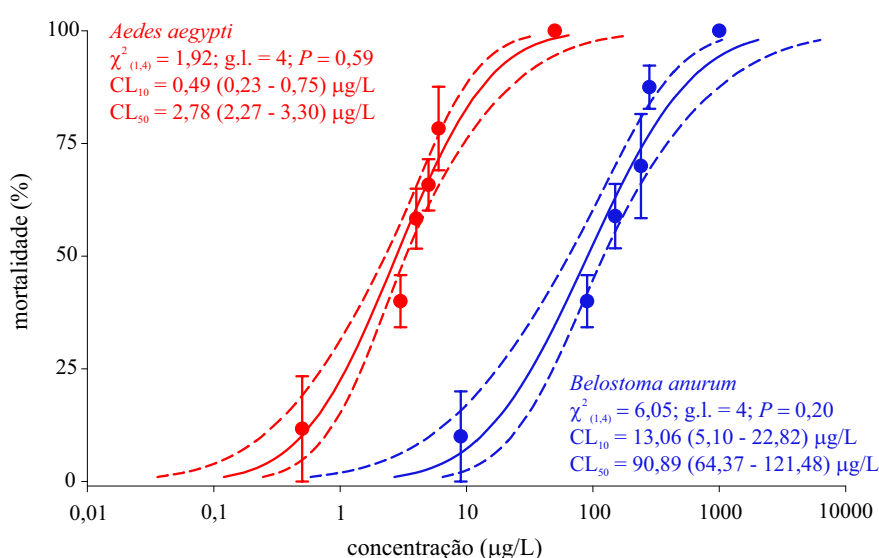


Figura 1.1: Curvas concentração-mortalidade de L4 de *Aedes aegypti* e ninfas de *Belostoma anurum* após 24 h de exposição a deltametrina. Os valores da concentração letal (CL) foram estimados baseados nos ensaios de concentração-mortalidade usando análises de Probit. Linhas pontilhadas denotam intervalos de confiança de 95%. Pontos representam a mortalidade média ( $\pm$  EP) de cada tratamento testado.

Baseado nos valores de CL<sub>50</sub>, o inseticida deltametrina utilizado para controle de *A. aegypti* apresentou razão de seletividade (RS) de 32,72 para o predador *B. anurum* (Tabela 1.1). A concentração utilizada para avaliar as alterações no tempo para predação e habilidade predatória foi a CL<sub>10</sub> 13,06 (5,10 - 22,82) µg de i.a./L (Figura 1.1).

Tabela 1.1: Toxicidade de deltametrina a *Aedes aegypti* e *Belostoma anurum*. Os valores das concentrações letais (CL<sub>50</sub>) foram estimados baseados nos bioensaios de concentração-mortalidade usando análise de Probit. Concentrações estão expressadas em µ i.a./L.

| Espécie           | N <sup>a</sup> | Inclinação<br>± EP <sup>b</sup> | CL <sub>50</sub><br>(IC a 95%) <sup>c</sup> | GL <sup>d</sup> | χ <sup>2e</sup> | P valor <sup>f</sup> | RS CL <sub>50</sub> <sup>g</sup> |
|-------------------|----------------|---------------------------------|---|-----------------|-----------------|----------------------|----------------------------------|
| <i>A. aegypti</i> | 420            | 4,35 ± 0,56                     | 2,78<br>(2,27 - 3,30)                       | 4               | 1,92            | 0,58                 | -                                |
| <i>B. anurum</i>  | 209            | 1,58 ± 0,21                     | 90,89<br>(64,37 - 121,48)                   | 4               | 6,05            | 0,19                 | 32,72<br>(16,32 - 65,57)         |

<sup>a</sup>Número de insetos usados. <sup>b</sup>Erro-padrão. <sup>c</sup>Intervalo de confiança da CL<sub>50</sub> a 95%de probabilidade. <sup>d</sup>Número de graus de liberdade. <sup>e</sup>Teste qui-quadrado. <sup>f</sup>Valor da probabilidade. <sup>g</sup>Razão de seletividade (CL<sub>50</sub> para *B. anurum* /CL<sub>50</sub> para *A. aegypti*).

### 1.3.2 Bioensaio de sobrevivência

As concentrações de deltametrina testadas reduziram significativamente a sobrevivência e o tempo de mortalidade de *A. aegypti* (Log-Rank: χ<sup>2</sup> = 241,89; g.l. = 3, P < 0,001) e *B. anurum* (Log-Rank: χ<sup>2</sup> = 102,04; g.l. = 2, P < 0,001) (Figura 1.2). Nenhuma larva de *A. aegypti* sobreviveu após 24 h de exposição a 7,0 µg i.a./L, enquanto que aproximadamente 100% das ninfas de *B. anurum* morreram quando expostas à concentração de 280 µg i.a./L (Figura 1.2A, Figura 1.2C). O tempo médio de sobrevivência diferiu entre os tratamentos para as duas espécies, pelo teste de Holm-Sidak (P < 0,001) (Figura 1.2B, Figura 1.2D). Na menor concentração que *A. aegypti* foi exposto (1,0 µg i.a./L), o tempo médio de sobrevivência foi de 180 h e *B. anurum*, na menor concentração (9,0 µg i.a./L) o tempo médio foi de 106 h.

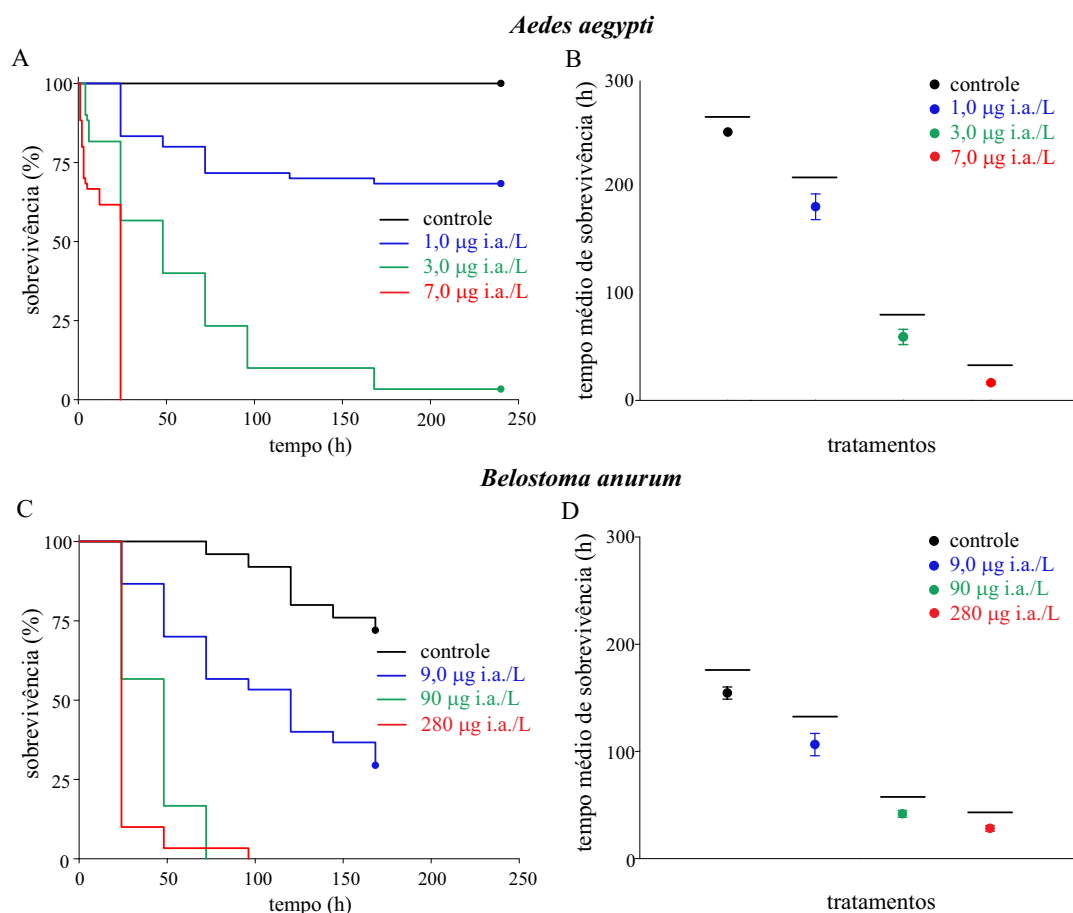


Figura 1.2: Curvas de sobrevivência de (A) L4 de *Aedes aegypti* e (C) ninfas de *Belostoma anurum* expostas à deltametrina e controle com os tempos médios ( $\pm$  EP) de sobrevivência (B, D). Médias seguidas por linhas na mesma altura não diferem estatisticamente pelo teste de Holm-Sidak.

### 1.3.3 Bioensaio de tempo de predação

A análise de variância com medidas repetidas no tempo mostrou efeito da interação entre tempo e concentração ( $F_{(3,11)} = 3,68$ ;  $P = 0,046$ ) (Tabela 1.2, Figura 1.3). Quando as ninfas de *B. anurum* foram expostas a concentração de 13 µg de i.a./L, o tempo gasto para capturar a larva apresentou regressão exponencial negativa ( $y = 687,51 e^{(-2,34x)}$ ; [ $R^2 = 0,26$ ;  $P = 0,0047$ ]), com redução do tempo ao longo dos dias. O tempo foi maior somente no primeiro dia (24 h após exposição), havendo uma recuperação paulatina na velocidade na captura das presas. O tempo para predação diminuiu de 105 para 25 segundos, ao longo dos dias. Quando os insetos não foram expostos ao inseticida o tempo para captura manteve-se constante ( $P > 0,05$ ), com média de 38,53 segundos (Figura 1.3).

Tabela 1.2: Análise de variância com medidas repetidas no tempo para o tempo médio para predação por ninfas de *Belostoma anurum* para predação de larvas de *Aedes aegypti*, após 24 h de exposição à deltametrina.

| Fontes de variação   | gl                | F                 | P             |      |        |
|----------------------|-------------------|-------------------|---------------|------|--------|
| Entre fatores        |                   |                   |               |      |        |
| Concentração (C)     | 1                 | 3,59              | <0,08         |      |        |
| Erro                 | 92                | -                 | -             |      |        |
| Dentro de cada fator |                   |                   |               |      |        |
|                      | gl <sub>den</sub> | gl <sub>num</sub> | Wilks' lambda | F    | P      |
| Tempo (T)            | 3                 | 11                | 0,641         | 2,05 | 0,164  |
| T x C                | 3                 | 11                | 0,404         | 3,68 | 0,046* |

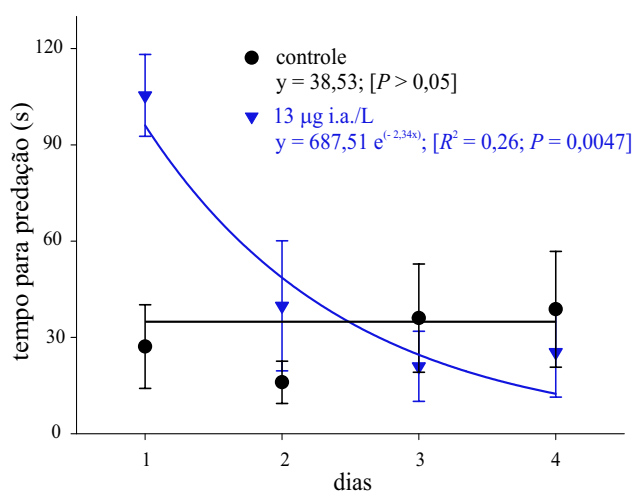


Figura 1.3: Tempo médio ( $\pm$  EP) por ninfas de *Belostoma anurum* (após 24 h de exposição à deltametrina) para predação de larvas de *Aedes aegypti*.

### 1.3.4 Bioensaio de habilidade predatória

A análise de variância com medidas repetidas no tempo mostrou efeito do tempo ( $F_{(8,85)} = 17,74; P < 0,0001$ ), concentração ( $F_{(1,1)} = 153,70; P < 0,0001$ ), densidade ( $F_{(1,2)} = 12,27; P < 0,0001$ ), interação entre tempo e concentração ( $F_{(8,85)} = 22,0; P < 0,0001$ ), interação entre tempo e densidade ( $F_{(16,170)} = 1,87; P = 0,026$ ), interação entre concentração e densidade ( $F_{(2,2)} = 19,06; P < 0,0001$ ) e interação entre tempo, concentração e densidade ( $F_{(16,170)} = 2,71; P = 0,0007$ ) no primeiro dia de avaliação (Tabela 1.3, Figura 1.4).

Após 24 h de exposição à deltametrina, os insetos na densidade três consumiram menos larvas que o controle, mantendo-se constante ao longo do tempo (Figura 1.4A). Nas densidades seis e nove, os insetos expostos à deltametrina consumiram menos

Tabela 1.3: Análise de variância com medidas repetidas no tempo para o número médio de larvas predadas de *Aedes aegypti* por *Belostoma anurum*, após 24 h de exposição à deltametrina.

| Fontes de variação | gl | F      | P        |
|--------------------|----|--------|----------|
| Entre fatores      |    |        |          |
| Concentração (C)   | 1  | 153,70 | <0,0001* |
| Densidade (D)      | 2  | 12,27  | <0,0001* |
| C x D              | 2  | 19,06  | <0,0001* |
| Erro               | 92 | -      | -        |

|                      | gl <sub>den</sub> | gl <sub>num</sub> | Wilks' lambda | F     | P        |
|----------------------|-------------------|-------------------|---------------|-------|----------|
| Dentro de cada fator |                   |                   |               |       |          |
| Tempo (T)            | 8                 | 85                | 0,374         | 17,47 | <0,0001* |
| T x C                | 8                 | 85                | 0,325         | 22,00 | <0,0001* |
| T x D                | 16                | 170               | 0,723         | 1,87  | 0,0260*  |
| T x C x D            | 16                | 170               | 0,635         | 2,71  | 0,0007*  |

larvas que o controle. No entanto, mostraram um aumento na predação ao longo do tempo (Figura 1.4B, Figura 1.4C).

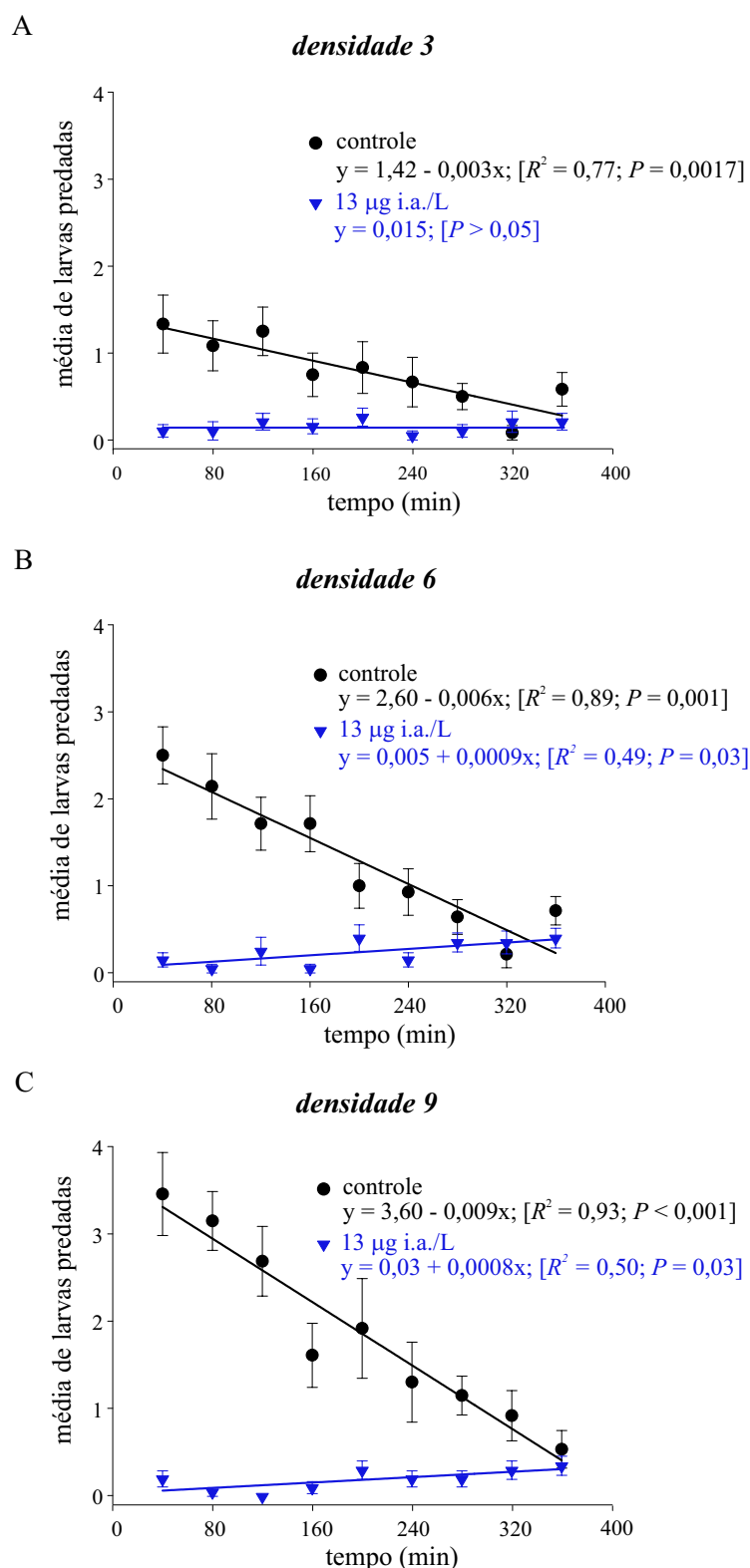


Figura 1.4: Número médio ( $\pm$  EP) de larvas predadas de *Aedes aegypti* por *Belostoma anurum* em diferentes densidades, após 24 h de exposição à deltametrina. (A) Densidade três, (B) seis e (C) nove.

A análise de variância com medidas repetidas no tempo mostrou efeito do tempo ( $F_{(3,72)} = 239,94$ ;  $P < 0,0001$ ), concentração ( $F_{(1,1)} = 48,89$ ;  $P < 0,0001$ ), densidade ( $F_{(1,2)}$

= 35,16;  $P < 0,0001$ ), interação entre tempo e concentração ( $F_{3,72} = 35,35$ ;  $P < 0,0001$ ), interação entre concentração e densidade ( $F_{(2,2)} = 7,69$ ;  $P = 0,0009$ ) e interação entre tempo e densidade ( $F_{(6,144)} = 14,73$ ;  $P < 0,0001$ ) ao longo dos dias de avaliação (Tabela 1.4, Figura 1.5).

Tabela 1.4: Análise de variância com medidas repetidas no tempo para a predação diária de larvas predadas de *Aedes aegypti* por *Belostoma anurum*.

| Fontes de variação   | gl         | F          | P             |        |          |
|----------------------|------------|------------|---------------|--------|----------|
| Entre fatores        |            |            |               |        |          |
| Concentração (C)     | 1          | 48,89      | <0,0001*      |        |          |
| Densidade (D)        | 2          | 35,16      | <0,0001*      |        |          |
| C x D                | 2          | 7,69       | 0,0009*       |        |          |
| Erro                 | 74         | -          | -             |        |          |
|                      | $gl_{den}$ | $gl_{num}$ | Wilks' lambda | F      | P        |
| Dentro de cada fator |            |            |               |        |          |
| Tempo (T)            | 3          | 72         | 0,090         | 239,94 | <0,0001* |
| T x C                | 3          | 72         | 0,404         | 35,35  | <0,0001* |
| T x D                | 6          | 144        | 0,383         | 14,73  | <0,0001* |
| T x C x D            | 6          | 170        | 0,869         | 1,74   | 0,1150   |

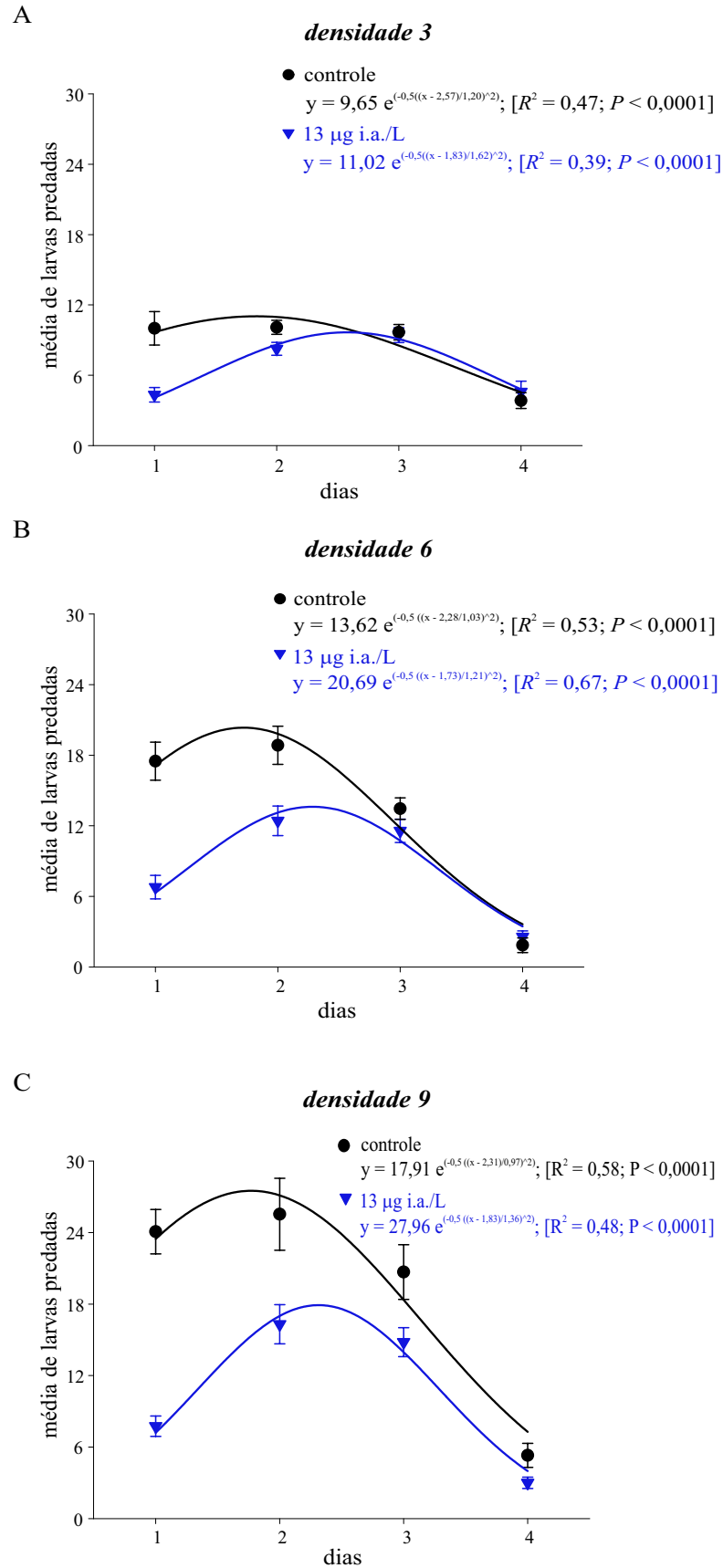


Figura 1.5: Número médio diário ( $\pm$  EP) de larvas de *Aedes aegypti* predadas por *Belostoma anurum* em diferentes densidades. (A) Densidade três, (B) seis e (C) nove.

O consumo médio de larvas, 24 h após a exposição ao inseticida, foi maior quando os insetos não foram expostos ao inseticida. Todas as densidades apresentaram regressão não linear Gaussian, com pico de consumo após 48 h do início do experimento, para o controle. Por outro lado, os expostos ao inseticida, tiveram um retardo no pico de consumo, o que indica uma recuperação dos insetos ao longo dos dias. Há uma tendência do consumo se igualar com o controle, após 96 h da exposição inseticida, independente da densidade avaliada (Figura 1.5).

Houve um acréscimo no número total de larvas de *A. aegypti* predadas por ninfas de *B. anurum* com o aumento da densidade e a maior predação ocorreu na densidade de nove larvas (Figura 1.6). O total de larvas predadas foi afetado por deltametrina na densidade de três larvas ( $F_{(1,1)} = 6,33; P = 0,020$ ) (Figura 1.6A), seis ( $F_{(1,1)} = 15,42; P < 0,001$ ) (Figura 1.6B) e nove larvas ( $F_{(1,1)} = 25,22; P < 0,001$ ) (Figura 1.6C).

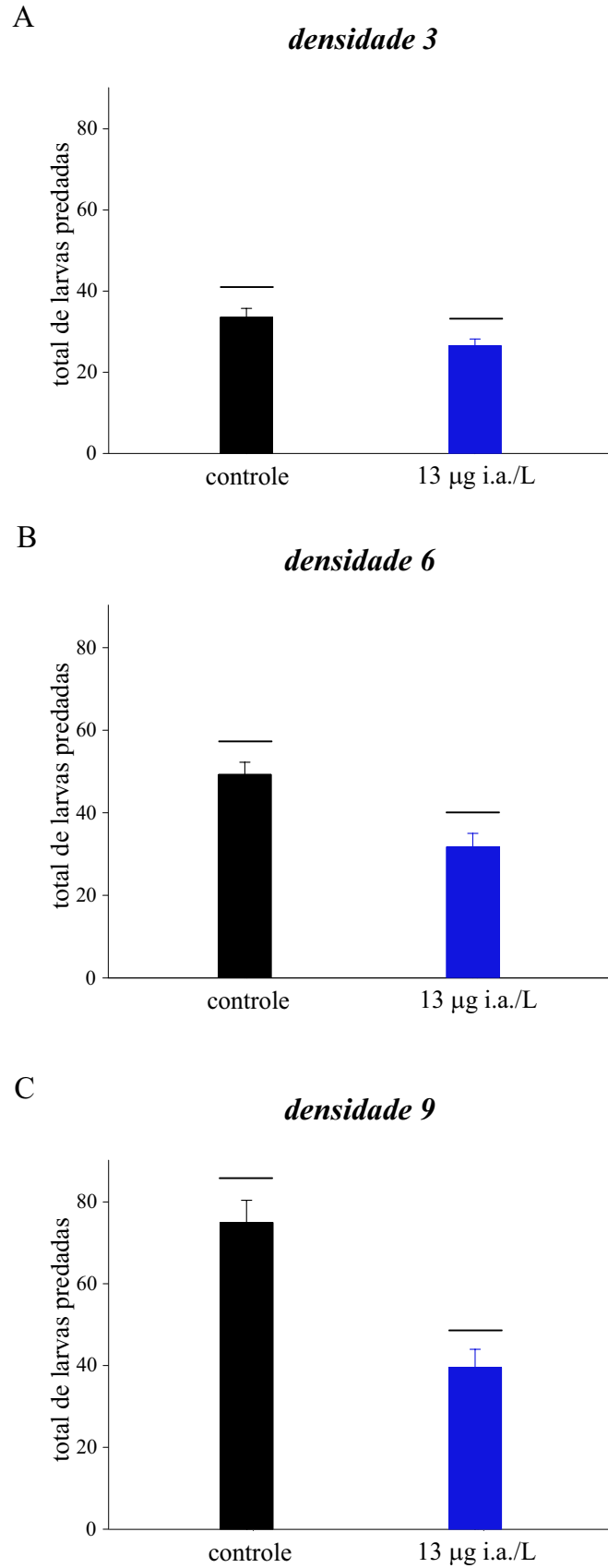


Figura 1.6: Total de larvas ( $\pm$  EP) de *Aedes aegypti* predadas por *Belostoma anurum* na densidade três (A), seis (B) e (C) nove, no final de quatro dias de avaliação. Médias com linhas seguidas na mesma altura não diferem entre si pelo teste de Tukey.

## 1.4 Discussão

Inseticidas piretroides apresentam elevada toxicidade a diversos grupos de organismos não-alvo, incluindo, artrópodes aquáticos (Nørum et al., 2010; Tooming et al., 2014; Halstead et al., 2015; Augusiak & Van den Brink, 2016; Gutiérrez et al., 2016). Os resultados do presente estudo mostraram que deltametrina tem grande potencial no controle de larvas de *A. aegypti*, mas apresenta efeitos subletais à *B. anurum*, com notáveis alterações na sua habilidade predatória.

Larvas de *A. aegypti* foram sensíveis a exposição à deltametrina após 24 h, com baixo valor de  $CL_{50}$  ). O efeito letal de deltametrina nessa população de *A. aegypti* já foi relatado em outros estudos (Tomé et al., 2014; Marriel et al., 2016). Piretroides apresentam rápido modo de ação por atuar no sistema nervoso central, e a exposição leva a sintomas de intoxicação evidentes, como a perda de coordenação (Soderlund et al., 2002; Soderlund, 2012; Tooming et al., 2014).

Em ninfas de *B. anurum*, a toxicidade de deltametrina foi menor do que em larvas de *A. aegypti*, a concentração necessária para causar a mesma mortalidade em 24 h, foi aproximadamente trinta vezes maior. Essa menor suscetibilidade de *B. anurum* à deltametrina levou a uma razão de seletividade de 32. A seletividade encontrada em algumas espécies pode ser atribuída a toxicodinâmica do inseticida no organismo, que envolve as interações moleculares do xenobiótico com os sítos de ação. Tais como, diferenças estruturais em subsítos de ligação, interfaces de subunidade do receptor, ou regiões transmembranares (Casida & Durkin, 2013; Pereira et al., 2014).

Somado a isso, o caminho que o inseticida percorre até atingir o sítio de ação no organismo (toxicocinética) pode acarretar em diferenças na suscetibilidade, como, por exemplo, barreira física e química promovida pela cutícula e a eficiência de enzimas detoxificativas (Casida & Durkin, 2013). A menor suscetibilidade de *B. anurum* à deltametrina pode ser explicada, em parte, pelo fato dos insetos utilizados serem de primeira e segunda geração oriundos de indivíduos coletados em campo. Assim, as ninfas de *B. anurum* podem ser mais eficientes na detoxificação de xenobióticos em comparação com as larvas de *A. aegypti*, essas que foram criadas em laboratório por várias gerações sem exposição a qualquer tipo xenobióticos.

Na menor concentração de deltametrina (1,0  $\mu\text{g}$  i.a./L), a sobrevivência de *A. aegypti*

foi reduzida em 30%, após 240 h de exposição. Em estudo com a mesma população e idade, a sobrevivência de *A. aegypti* foi reduzida em aproximadamente 40% quando expostos a 1,0 µg i.a./L de deltametrina, após 264 h de exposição (Marriel et al., 2016). A exposição à deltametrina também reduziu a sobrevivência de ninfas de *B. anurum*, no entanto, essas mostraram-se menos suscetível ao inseticida, uma vez que as concentrações foram maiores. Embora não tenha sido alvo do presente estudo, a menor toxicidade de deltametrina em ninfas de *B. anurum* pode estar associado, entre outros aspectos, à eficiência do metabolismo detoxificativo dessa espécie (Ranson et al., 2002; Lycett et al., 2006; Pereira et al., 2014).

O tempo de predação de larvas de *A. aegypti* por ninfas de *B. anurum* foi maior logo após a exposição ao inseticida, com redução desse tempo ao longo dos dias. Uma hipótese para esse aumento de tempo para predação pode ser a redução do reflexo, ou ainda, a falta de coordenação, uma vez que estas características costumam ser o primeiro sintoma de intoxicação por piretroide (Soderlund et al., 2002; Nørum et al., 2010). A falha na coordenação é seguida por hiperatividade ou, em alguns casos, quando expostos a baixas concentrações, ocorre a redução da atividade que leva a imobilização (Prasifka et al., 2008; Nørum et al., 2010; Marriel et al., 2016). Dado que os insetos, neste estudo, foram expostos à concentração subletal (CL<sub>10</sub>), é provável que o efeito letárgico temporário contribuiu para o maior tempo envolvido na captura da presa. Além disso, a redução da habilidade predatória nos primeiros dias após a exposição à deltametrina pode ter ocorrido devido ao estresse promovido pelo inseticida.

Alteração na agilidade de capturar presa encontrada neste estudo, levou ao comprometimento da habilidade predatória em *B. anurum*. O consumo de larvas de *A. aegypti* por ninfas de *B. anurum* foi menor quando o predador foi exposto a CL<sub>10</sub> de deltametrina, com maior efeito observado logo após a exposição. Essa menor quantidade de larva capturada no primeiro dia de avaliação estão coerentes com o resultado encontrado no bioensaio de tempo gasto para predação.

Ao longo dos dias de avaliação houve recuperação da habilidade predatória, esse resultado pode estar associado a desintoxicação do xenobiótico ou, ainda, a reabilitação do ritmo de locomoção (Prasifka et al., 2008; Tooming et al., 2014). Quando expostos a concentrações subletais de alfa-cipermetrina (< 1,0 mg/L), *Platynus assimilis* (Coleoptera: Carabidae) teve a atividade motora recuperada dois dias após o tratamento (To-

oming et al., 2014). *Scarites quadriceps* (Coleoptera: Carabidae), quando subletalmente expostos à lambda-cialotrina, observou-se efeito do tempo na recuperação, onde uma hora após exposição, os insetos percorreram maiores distâncias (Prasifka et al., 2008).

A recuperação da habilidade predatória foi observada 48 h após a exposição, no qual os insetos apresentaram um pico de consumo, essa situação pode estar associado ao sintoma de hiperatividade (Prasifka et al., 2008). Mesmo ocorrendo essa recuperação na habilidade predatório, o consumo de larvas pelos insetos expostos ao inseticida foi menor. Com isso, a exposição subletal à deltametrina promove alterações a curto prazo na agilidade de *B. anurum* e, conseqüentemente, redução da habilidade predatória da espécie. Essa condição pode representar prejuízos longo prazo para espécie, uma vez que a sobrevivência e reprodução podem ser reduzidas.

Além da redução da atividade alimentar, a condição de estresse subletal pode refletir em diversos processos vitais e padrões comportamentais. Entre estes, migração, seleção de habitat, reprodução, termorregulação e habilidade anti-predação (Haynes, 1988; Thompson, 2003; Prasifka et al., 2008; Reynaldi et al., 2011). Mediante a isso, a utilização de deltametrina no controle de *A. aegypti* e outras espécies de insetos pode acarretar em contaminação do ecossistema aquático e levar a alterações nos parâmetros comportamentais de *B. anurum*.

## 1.5 Agradecimentos

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

## 1.6 Referências

**Adams, B.; Kapan, D. D.** 2009. Man bites mosquito: understanding the contribution of human movement to vector-borne disease dynamics. *PloS One*, 4 (8): 4 e6763.

**Amweg, E.; Weston, D.** 2005. Use and toxicity of pyrethroid pesticides in the Central Valley, California, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24: 1300–1301.

- Augusiak, J.; Van den Brink, P. J.** 2016. The influence of insecticide exposure and environmental stimuli on the movement behaviour and dispersal of a freshwater isopod. *Ecotoxicology*, 25: 1338–1352.
- Casida, J. E.; Durkin, K. A.** 2013. Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annual Review of Entomology*, 58: 99–117.
- Desneux, N.; Decourtye, A.; Delpuech, J.M.** 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52: 81–106.
- Desneux, N.; Pham-Delègue, M. H.; Kaiser, L.** 2004. Effects of sub-lethal and lethal doses of lambda-cyhalothrin on oviposition experience and host searching behaviour of a parasitic wasp, *Aphidius ervi*. *Pest Management Science*, 60: 381–389.
- Figueiredo de Andrade, C. A.; Santana, D. J.; Carvalho e Silva, S. P.** 2010. Predation on *Scinax x-signatus* (Anura: Hylidae) by the giant water bug *Lethocerus annulipes* (hemiptera: Belostomatidae) in a brazilian restinga habitat. *Amphibia Reptilia*, 14: 307–309.
- Gutiérrez, Y.; Santos, H. P.; Serrão, J. E.; Oliveira, E. E.** 2016. Deltamethrin-mediated toxicity and cytomorphological changes in the midgut and nervous system of the mayfly *Callibaetis radiatus*. *PLoS One*, 11: e0152383.
- Halstead, N. T.; Civitello, D. J.; Rohr, J. R.** 2015. Comparative toxicities of organophosphate and pyrethroid insecticides to aquatic macroarthropods. *Chemosphere*, 135: 265–271.
- Hanlon, S. M.; Relyea, R.** 2013. Sublethal effects of pesticides on predator-prey interactions in amphibians. *Copeia*, 4: 691–698.
- Haynes, K. F.** 1988. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Review of Entomology*, 33: 149–168.
- Kweka, E. J.; Zhou, G.; Gilbreath, T. M.; Afrane, Y.; Nyindo, M.; Githeko, A. K.; Yan, G.** 2011. Predation efficiency of *Anopheles gambiae* larvae by aquatic predators in western Kenya highlands. *Parasites & Vectors*, 128(4): 1-7.
- Lycett, G.; McLaughlin, L.; Ranson, H.; Hemingway, J.; Kafatos, F.; Loukeris, T.; Paine, M.** 2006. *Anopheles gambiae* P450 reductase is highly expressed in oenocytes and *in vivo* knockdown increases permethrin susceptibility. *Insect Molecular Biology*, 15: 321–327.
- Marriel, N. B.; Tomé, H. V. V.; Guedes, R. C. N.; Martins, G. F.** 2016. Deltamethrin-mediated survival, behavior, and oenocyte morphology of insecticide-susceptible and resistant yellow fever mosquitos (*Aedes aegypti*). *Acta Tropica*, 158: 88–96.
- Nørum, U.; Friberg, N.; Jensen, M. R.; Pedersen, J. M.; Bjerregaard, P.** 2010. Behavioural changes in three species of freshwater macroinvertebrates exposed to the pyrethroid lambda-cyhalothrin: laboratory and stream microcosm studies. *Aquatic Toxicology*, 98: 328–335.

- Pereira, R. R.; Picanço, M. C.; Santana, P. A.; Moreira, S. S.; Guedes, R. N.; Corrêa, A. S.** 2014. Insecticide toxicity and walking response of three pirate bug predators of the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. *Agricultural and Forest Entomology*, 16: 293–301.
- Prasifka, J. R.; Lopez, M. D.; Hellmich, R. L.; Prasifka, P. L.** 2008. Effects of insecticide exposure on movement and population size estimates of predatory ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Pest Management Science*, 64: 30–36.
- Ranson, H.; Claudianos, C.; Ortelli, F.; Abgrall, C.; Hemingway, J.; Sharakhova, M. V.; Unger, M. F.; Collins, F. H.; Feyereisen, R.** 2002. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science*, 298: 179–181.
- Relyea, R. A.; Hoverman, J. T.** 2008. Interactive effects of predators and a pesticide on aquatic communities. *Oikos*, 117: 1647–1658.
- Reynaldi, S.; Meiser, M.; Liess, M.** 2011. Effects of the pyrethroid fenvalerate on the alarm response and on the vulnerability of the mosquito larva *Culex pipiens molestus* to the predator *Notonecta glauca*. *Aquatic Toxicology*, 104: 56–60.
- Shalan, E. A. S.; Canyon, D. V.** 2009. Aquatic insect predators and mosquito control. *Tropical Biomedicine*, 26: 223–261.
- Soderlund, D. M.** 2012. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. *Archives of Toxicology*, 86: 165–181.
- Soderlund, D. M.; Clark, J. M.; Sheets, L. P.; Mullin, L. S.; Piccirillo, V. J.; Sargent, D.; Stevens, J. T.; Weiner, M. L.** 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171: 3–59.
- Strode, C.; Donegan, S.; Garner, P.; Enayati, A. A.; Hemingway, J.** 2014. The impact of pyrethroid resistance on the efficacy of insecticide-treated bed nets against african Anopheline mosquitoes: systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*, 11: e1001619.
- Thompson, H. M.** 2003. Behavioural effects of pesticides in bees—their potential for use in risk assessment. *Ecotoxicology*, 12: 317–330.
- Tomé, H. V. V.; Pascini, T. V.; Dângelo, R. A.; Guedes, R. N.; Martins, G. F.** 2014. Survival and swimming behavior of insecticide-exposed larvae and pupae of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. *Parasites & Vectors*, 7(195): 1–9.
- Tooming, E.; Merivee, E.; Must, A.; Sibul, I.; Williams, I.** 2014. Sub-lethal effects of the neurotoxic pyrethroid insecticide Fastac<sup>®</sup> 50EC on the general motor and locomotor activities of the non-targeted beneficial carabid beetle *Platynus assimilis* (Coleoptera: Carabidae). *Pest Management Science*, 70: 959–966.
- Weston, D.; Holmes, R.; You, J.; Lydy, M.** 2005. Aquatic toxicity due to residential use of pyrethroid insecticides. *Environmental Science & Technology*, 39: 9778–9784.
- WHO, 2013.** Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

**Efeitos na sobrevivência e habilidade  
predatória de percevejos aquáticos  
mediados por piriproxifeno**

## Efeitos na sobrevivência e habilidade predatória de percevejos aquáticos mediados por piriproxifeno

### Resumo

Diversas formas de contaminação por inseticidas podem ocorrer em ecossistemas aquáticos. Dentre elas, o controle de mosquito vetores de doenças tem relevante contribuição no que tange a contaminação de corpos d'água. Em organismos aquáticos, os efeitos de inseticidas podem ser potencializados, uma vez que estão sujeitos a uma maior exposição. No ecossistema aquático, insetos predadores desempenham um papel importante no controle biológico de larvas de mosquitos e são comumente utilizados em avaliações de risco por contaminantes. Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar se o inseticida piriproxifeno utilizado para controle de *Aedes aegypti* apresenta toxicidade e altera a capacidade predatória dos percevejos aquáticos *Buenoa annigenus* e *Belostoma anurum*. Espécimes dos insetos foram coletados em tanques de piscicultura e levadas para laboratório para identificação e realização dos bioensaios. Larvas de quarto ínstar de *Ae. aegypti* (L4), adultos de *Bu. annigenus* e ninfas de *Be. anurum* foram expostos a concentração de campo de piriproxifeno recomendada para controle de *Ae. aegypti* e a concentração correspondente a 1% (50 e 0,5 µg i.a./L, respectivamente). Nosso estudo possibilitou o primeiro registro da espécie *Bu. annigenus* no estado de Minas Gerais. O inseticida piriproxifeno apresentou alta toxicidade a larvas de *Ae. aegypti*. A sobrevivência dos percevejos predadores foi reduzida quando expostos a 50 µg i.a./L e *Bu. annigenus* foi a espécie mais suscetível ao inseticida. *Be. anurum* consumiu mais larvas de *Ae. aegypti* do que *Bu. annigenus*. A capacidade predatória de *Be. anurum* foi reduzida após 24 h de exposição a 50 µg i.a./L. Assim, os nossos resultados indicaram que a formulação comercial do piriproxifeno não é segura aos predadores *Bu. annigenus* e *Be. anurum*. A concentração de campo reduz a sobrevivência de ambos os predadores e em *Be. anurum* a capacidade predatória é reduzida.

**Palavras-chave:** ecotoxicologia, inseticida, barata d'água, Notonectidae

## Abstract

Several forms of contamination by pesticides may occur in aquatic ecosystems. Among them, the control mosquito disease vectors have significant contribution with respect to contamination water bodies. In aquatic organisms, the effects of insecticides can be enhanced, because they are subject to greater exposure. In the aquatic ecosystem, predatory insects play a important role in the biological control of mosquito larvae and are commonly utilized by contaminants in risk assessments. Thus, this study was conducted aiming to evaluate the toxicity of pyriproxyfen used to control *Aedes aegypti* presents toxicity and alter the predatory ability of true water bugs *Buenoa amnigenus* and *Belostoma anurum*. Specimens of insects were collected in fish-farming installations and taken to the laboratory for identification and implementation of bioassays. Fourth instar larvae of *Ae. aegypti* (L4), *Bu. amnigenus* adults and *Be. anurum* nymphs were exposed to pyriproxyfen field concentration recommended for controlling *Ae. aegypti* and the concentration corresponding to 1% (50 and 0.5  $\mu\text{g a.i. L}^{-1}$ , respectively). Our study allowed the first record of the species *Bu. amnigenus* in the state of Minas Gerais. The pyriproxyfen insecticide showed high toxicity to *Ae. aegypti* larvae. The survival of predatory bugs was reduced when exposed to 50  $\mu\text{g a.i. L}^{-1}$  and *Bu. amnigenus* was the most susceptible than *Be. anurum*. *Be. anurum* consumed more *Ae. aegypti* than *Bu. amnigenus*. Predatory ability to *Be. anurum* was reduced after 24 h exposure to 50  $\mu\text{g a.i. L}^{-1}$ . Thus, our findings indicated that the commercial formulation of pyriproxyfen is not safe to the predators *Bu. amnigenus* and *Be. anurum*. The field concentration reduces the survival of both predators and *Be. anurum* ability predatory is reduced.

**Key words:** ecotoxicology, insecticides, water bug, Notonectidae

## 2.1 Introdução

Atualmente, existe uma crescente preocupação sobre fontes diretas e indiretas de contaminação por inseticidas em ecossistemas aquáticos (Hanlon & Relyea, 2013; Halstead et al., 2014). Uma vez que estes ambientes são depósito final de diversos contaminantes químicos e organismos aquáticos presentes estão sujeitos a efeitos adversos (Mogren et al., 2013; Halstead et al., 2015; Gutiérrez et al., 2016).

O inseticida piriproxifeno é um regulador de crescimento utilizado para controle de insetos vetores de doenças e insetos-praga na agricultura (Seccacini et al., 2008; Nasr et al., 2010; Tuten et al., 2016). A eficiência desse inseticida ocorre principalmente na fase imatura devido a ação análoga ao hormônio juvenil, sobrecarregando o sistema hormonal e interferindo no desenvolvimento do inseto e até mesmo reduzindo a atividade alimentar (Invest & Lucas, 2008; Seccacini et al., 2008; Nasr et al., 2010). Alguns trabalhos relatam a segurança de piriproxifeno e outros inseticidas a insetos aquáticos não-alvo, mas, recentemente, tem-se observado efeitos negativos nesses insetos (Mulla, 1995; Halstead et al., 2015; Gutiérrez et al., 2016). Somado a isso, o conhecimento sobre as alterações comportamentais promovidas por inseticidas em insetos aquáticos predadores são limitados.

Alguns estudos apontam que os insetos predadores pertencentes dos gênero *Belostoma* e *Buenoa* são inimigos naturais importantes que contribuem para o controle biológico de larvas de mosquitos (Rodríguez-Castro et al., 2006; Quiroz-Martínez & Rodríguez-Castro, 2007; Kweka et al., 2011). No contexto ecológico, a predação é descrita como um fator importante na organização de muitas comunidades, incluindo as aquáticas (Reynaldi et al., 2011). No entanto, os efeitos de inseticidas nas interações predador-presa são muitas vezes complexos por afligir a comunidade (Halstead et al., 2014). Com isso, informações que elucidam os efeitos subletais desses compostos no indivíduo fornece informações que podem ser extrapoladas para níveis superiores no ecossistema aquático (Relyea & Edwards, 2010; Reynaldi et al., 2011; Hanlon & Relyea, 2013; Halstead et al., 2014).

Mediante a isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade e os efeitos subletais do inseticida piriproxifeno aos percevejos aquáticos predadores *Buenoa amnigenus* (Hemiptera: Notonectidae) e *Belostoma anurum* (Hemiptera: Belostomatidae).

## 2.2 Material e Métodos

### 2.2.1 Obtenção e criação dos insetos

*Aedes aegypti*: larvas de quarto ínstar (L4) suscetível a piretroide (cepa PPCampos/Campos dos Goytacazes - RJ) foram obtidas da colônia mantida no insetário do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, MG, Brasil). As larvas foram alimentadas com ração de tartaruga Fed (Reptolife, Alcon Pet, Camburiú, SC, Brasil), sob temperatura ( $25 \pm 2$  °C) e fotoperíodo (12 h) controlados (Marriell et al., 2016).

*Buenoa amnigenus*: adultos de *Bu. amnigenus* foram coletados utilizando rede entomológica (D-net) no setor de piscicultura da Universidade Federal de Viçosa (UFV, Viçosa, MG, Brasil,  $20^{\circ}45' S$ ,  $42^{\circ}52' W$ ). Após a coleta, alguns exemplares foram separados para a identificação. A identificação da espécie foi realizada com auxílio de chave específica para o gênero *Buenoa* (Barbosa & Nessimian, 2013), na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) pela Dra. Julianna Freires Barbosa. Após identificados, os insetos coletados foram levados para o Laboratório de Fisiologia e Neurobiologia de Invertebrados e mantidos em jejum sob condições controladas ( $25 \pm 5$  °C e 12 h de fotoperíodo). Antes dos bioensaios, os insetos eram mantidos em béqueres com 500 mL de água destilada e revestidos com papel branco, para evitar estímulos visuais externos, por 24-48 h (aclimatação).

*Belostoma anurum*: adultos de *Be. anurum* foram coletados utilizando rede entomológica (D-net) no mesmo local supracitado e levados para laboratório para estabelecimento da população. Os adultos foram mantidos em aquário (30 x 40 x 60 cm) com água proveniente dos tanques de piscicultura para permitir a cópula. Machos com ovos no hemiélitro foram individualizados e após emergência, as ninfas foram individualizadas em recipientes de vidro (30 ml) até o quarto ínstar para evitar o canibalismo. Ninfas do primeiro ao terceiro ínstar foram alimentadas diariamente com larvas de *A. aegypti*. As ninfas de quarto ínstar foram transferidas para recipientes de vidro maiores (100 ml). Ninfas de quarto e quinto ínstar e adultos de *B. anurum* foram alimentados com *Martarega* spp. e *Buenoa* spp. (Hemiptera: Notonectidae) coletados no setor de piscicultura. Todos os ínstaes e adultos de *B. anurum* foram mantidos em água proveniente dos tanques de piscicultura à  $25 \pm 5$  °C e 12 h de fotoperíodo.

### 2.2.2 *Inseticida*

Nos bioensaios foi utilizado a formulação comercial do inseticida regulador de crescimento de insetos (Tiger 100 EC<sup>®</sup> [100 g piriproxifeno/L], Sumitomo Chemical Ltda, São Paulo, Brasil). Os insetos foram expostos à concentração de campo do inseticida recomendada para controle de *A. aegypti* (50 µg de i.a./L) e a concentração correspondente a 1% desta (0,5 µg de i.a./L). As concentrações de inseticida utilizadas foram preparadas mediante diluição em recipientes de vidro contendo água destilada e durante a exposição ao inseticida os insetos não foram alimentados.

### 2.2.3 *Bioensaio de sobrevivência*

Larvas de quarto ínstar (L4) de *Ae. aegypti* foram mantidas em recipientes de vidro com 200 mL de solução inseticida e cobertos com tampa plástica. Quatro repetições de 25 insetos foram realizadas em cada tratamento e a mortalidade foi avaliada a cada 24 h até a emergência dos adultos. Adultos de *Bu. amnigenus* após 24 h de aclimação foram mantidos em béqueres com 300 mL de solução inseticida e cobertos com tecido organza. Cinco repetições de dez insetos foram realizadas para cada tratamento. Ninfas de segundo ínstar de *Be. anurum* (0-72 h de idade) foram mantidas individualmente em recipientes de vidro com 100 mL de solução inseticida e cobertos com tecido organza. Trinta repetições (insetos) foram realizadas para cada tratamento. Para *Bu. amnigenus* e *Be. anurum* a avaliação foi realizada a cada 24 h até a mortalidade dos insetos em todos tratamentos. No controle, insetos de cada espécie foram expostos a água destilada. Insetos sem movimentação após estímulos mecânicos foram considerados mortos.

### 2.2.4 *Bioensaio de predação*

Adultos de *Bu. amnigenus* (após 48 h de aclimação) e ninfas de segundo ínstar de *Be. anurum* (0-72 h de idade) foram expostos às concentrações de 0,5 e 50 µg de i.a./L por 24 h. Após a exposição inseticida, os insetos foram removidos e mantidos em recipientes de vidro com 100 mL de água destilada por uma hora. Decorrido esse período de

recuperação, foram oferecidas larvas de quarto ínstar de *A. aegypti* em três densidades (3, 6 e 9 larvas). O número de larvas predadas foi avaliado em intervalos de 40 minutos durante 6 h, e a densidade foi restabelecida no final de cada avaliação. A avaliação do número de larvas predadas foi realizada durante quatro dias e foram realizadas quinze repetições (insetos) para cada tratamento (concentrações e densidade).

### 2.2.5 *Análise estatística*

Os dados dos bioensaios de sobrevivência foram submetidos à análise de sobrevivência, utilizando os estimadores de Kaplan-Meier (método Log-rank) e comparadas pelo teste de Holm-Sidak com o software SigmaPlot 12.5 (Systat Software, San Jose, Califórnia, EUA). Os dados de predação larval foram submetidos a análises de variância com medidas repetidas no tempo para determinar os efeitos do inseticida, da densidade e do tempo de recuperação. Os fatores estudados foram inseticida e densidade, e larvas predadas como pseudorepetição. O número de larvas predadas a cada 40 min foi utilizado como medidas repetidas no tempo. Os dados de larvas predadas também foram submetidos à análise de variância (One-Way) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey.

## 2.3 Resultados

### 2.3.1 *Bioensaio de sobrevivência*

As concentrações de piriproxifeno testadas reduziram significativamente a sobrevivência (tempo mortalidade-resposta) das três espécies, *Ae. aegypti* (Log-Rank:  $\chi^2 = 399,29$ ; g.l. = 2,  $P < 0,001$ ), *Bu. amnigenus* (Log-Rank:  $\chi^2 = 84,40$ ; g.l. = 2,  $P < 0,001$ ) e *Be. anurum* (Log-Rank:  $\chi^2 = 51,32$ ; g.l. = 2,  $P < 0,001$ ) (Figura 2.1). Piriproxifeno apresentou toxicidade similar para larvas de *Ae. aegypti* e adultos de *Bu. amnigenus*. Após 24 h de exposição a 50  $\mu\text{g}$  i.a./L a sobrevivência foi aproximadamente 11% para *Ae. aegypti* e nenhum indivíduo de *Bu. amnigenus* sobreviveu (Figura 2.1A, Figura C). Nessas mesmas espécies, na concentração de 0,5  $\mu\text{g}$  i.a./L o tempo médio de sobrevi-

vência foi de aproximadamente 113 e 79 h, respectivamente (Figura 2.1B, Figura 2.1D). *Be. anurum* foi menos suscetível ao piriproxifeno, entre as três espécies. Após 24 h de exposição a 50 µg i.a./L a sobrevivência foi aproximadamente de 90% e não houve diferença no tempo médio de sobrevivência entre o controle e 0,5 µg i.a./L (Figura 2.1E, Figura 2.1F).

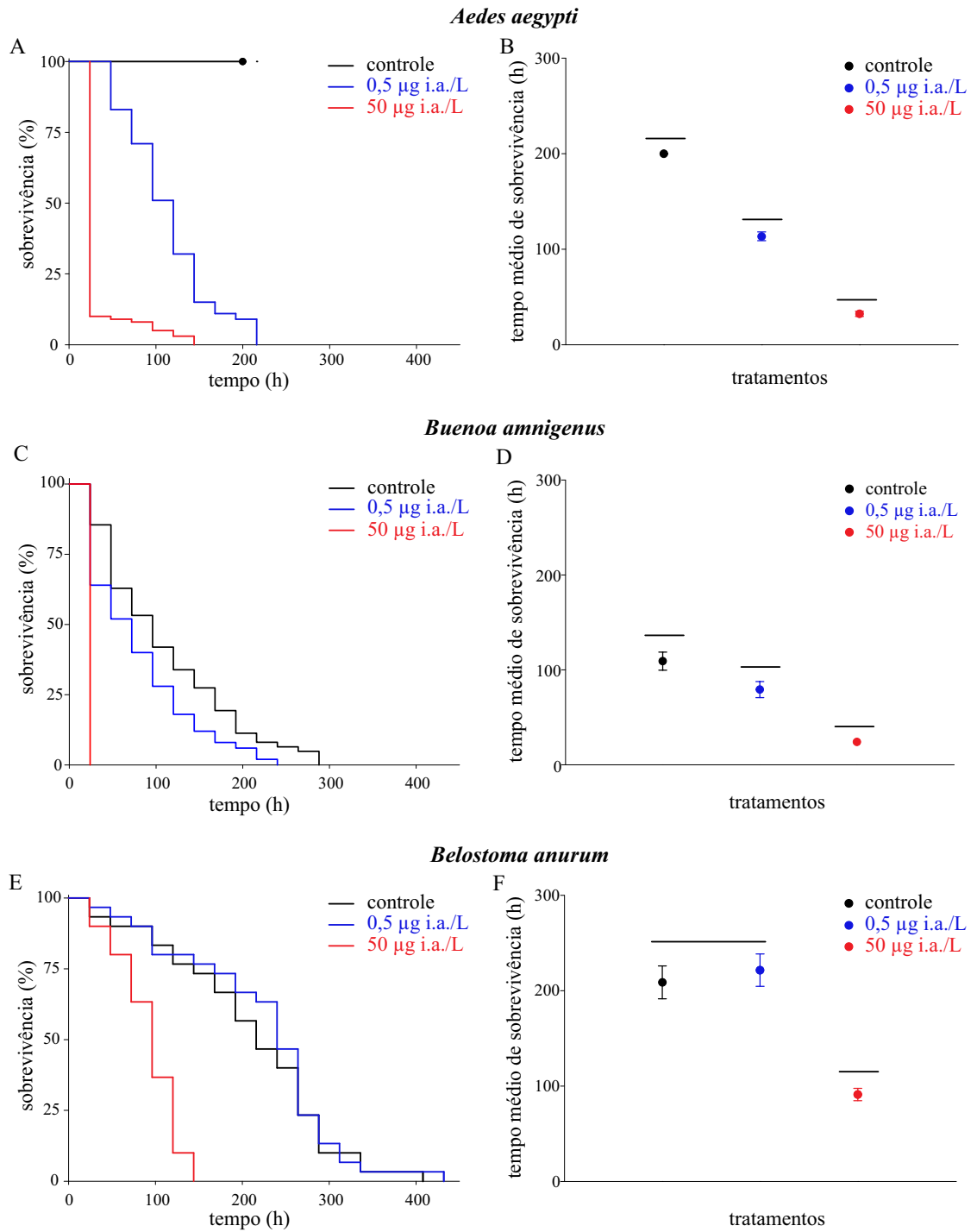


Figura 2.1: Curvas de sobrevivência de (A) L4 de *Aedes aegypti*, (C) adultos de *Buena annigenus* e (E) ninfas de segundo ínstar de *Belostoma anurum* expostos ao piriproxifeno e controle, com o respectivos tempo médio ( $\pm$  EP) de sobrevivência (B, D, F). Médias seguidas por linhas na mesma altura não diferem estatisticamente pelo teste de Holm-Sidak.

### 2.3.2 Bioensaio de predação com *Bu. amnigenus*

No bioensaio de capacidade predatória com *Bu. amnigenus*, os insetos foram expostos apenas à concentração de 0,5 µg i.a./L, uma vez que a concentração piriproxifeno recomendada para controle de *Ae. aegypti* (50 µg i.a./L) causou 100% de mortalidade após 24 h de exposição (Figura 2.1C).

A análise de variância com medidas repetidas no tempo mostrou efeito do tempo ( $F_{(8,92)} = 15,52$ ;  $P < 0,0001$ ) e do inseticida ( $F_{(1,2)} = 3,92$ ;  $P = 0,05$ ) (Tabela 2.1, Figura 2.2). A predação de larvas de *Ae. aegypti* por adultos de *Bu. amnigenus* foi afetada pela concentração de piriproxifeno nas três densidades. Em todas as densidades avaliadas, insetos expostos a 0,5 µg i.a./L, apresentaram maior consumo de larvas nos primeiros 40 minutos, situação que pode ser melhor observada na densidade de três larvas (Figura 2.2). Nas densidades três e nove o consumo entre controle e tratados se igualou a partir de 240 minutos (Figura 2.2A, Figura 2.2C). O mesmo não foi observado para a densidade seis, onde o consumo manteve-se maior no controle (Figura 2.2B).

Tabela 2.1: Análise de variância com medida repetida no tempo para o número médio de larvas predadas de *Aedes aegypti* por *Buenoa amnigenus*, após 24 h de exposição à piriproxifeno.

| Fontes de variação   | gl                | F                 | P             |       |          |
|----------------------|-------------------|-------------------|---------------|-------|----------|
| Entre fatores        |                   |                   |               |       |          |
| Inseticida (I)       | 1                 | 3,92              | 0,05*         |       |          |
| Densidade (D)        | 2                 | 0,81              | 0,44          |       |          |
| I x D                | 2                 | 1,36              | 0,26          |       |          |
| Erro                 | 99                | -                 | -             |       |          |
|                      | gl <sub>den</sub> | gl <sub>num</sub> | Wilks' lambda | F     | P        |
| Dentro de cada fator |                   |                   |               |       |          |
| Tempo (T)            | 8                 | 92                | 0,425         | 15,52 | <0,0001* |
| T x I                | 8                 | 92                | 0,876         | 1,61  | 0,1317   |
| T x D                | 16                | 184               | 0,803         | 1,33  | 0,1811   |
| T x I x D            | 16                | 184               | 0,853         | 0,95  | 0,5128   |

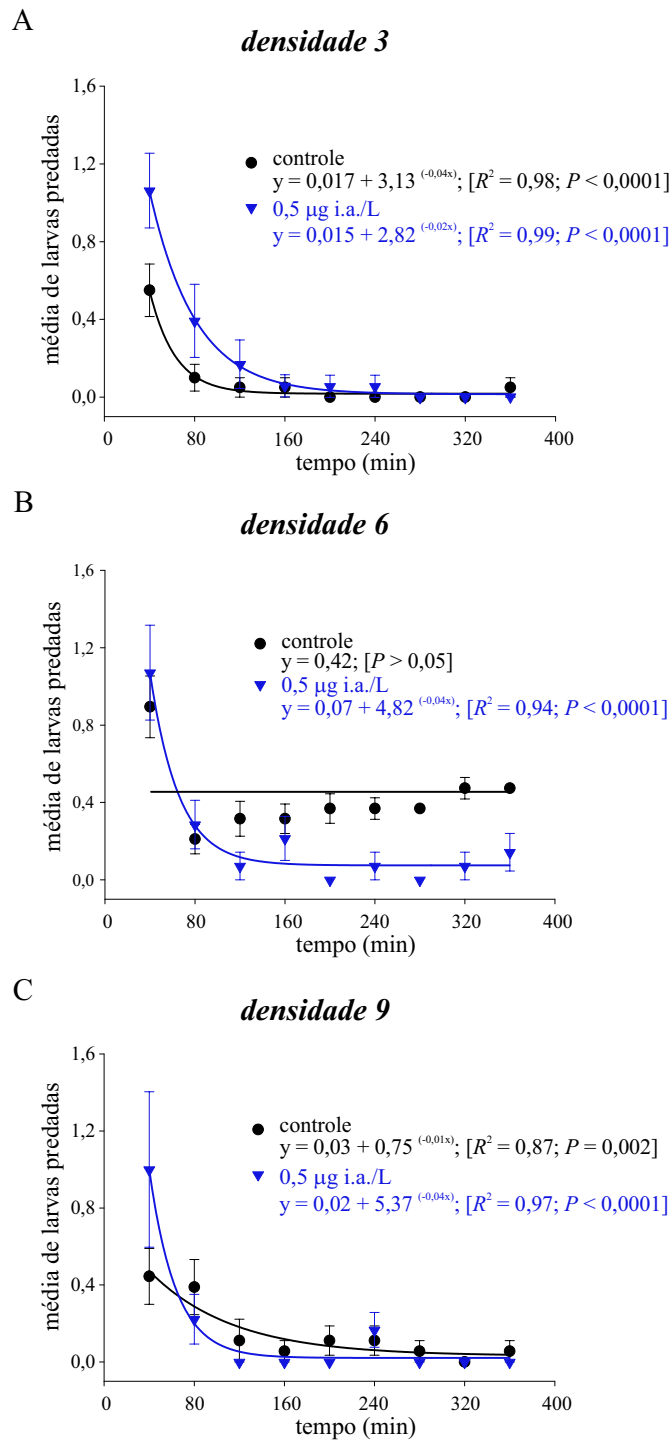


Figura 2.2: Número médio ( $\pm$  EP) de larvas de *Aedes aegypti* predadas por *Buenoa annigenus* em diferentes densidades, após 24 h de exposição do predador. (A) Densidade três, (B) seis e (C) nove.

A média total de larvas predadas por *Bu. annigenus*, após a exposição, foi afetado pelo inseticida apenas na densidade três ( $F_{(1,1)} = 5,98$ ;  $P = 0,02$ ) (Figura 2.3A), no qual, os insetos quando expostos a  $0,5 \mu\text{g i.a./L}$  de piriproxifeno consumiram o dobro de larvas, comparado aos indivíduos não expostos. Nas densidades seis e nove não houve

diferença no consumo médio entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ).

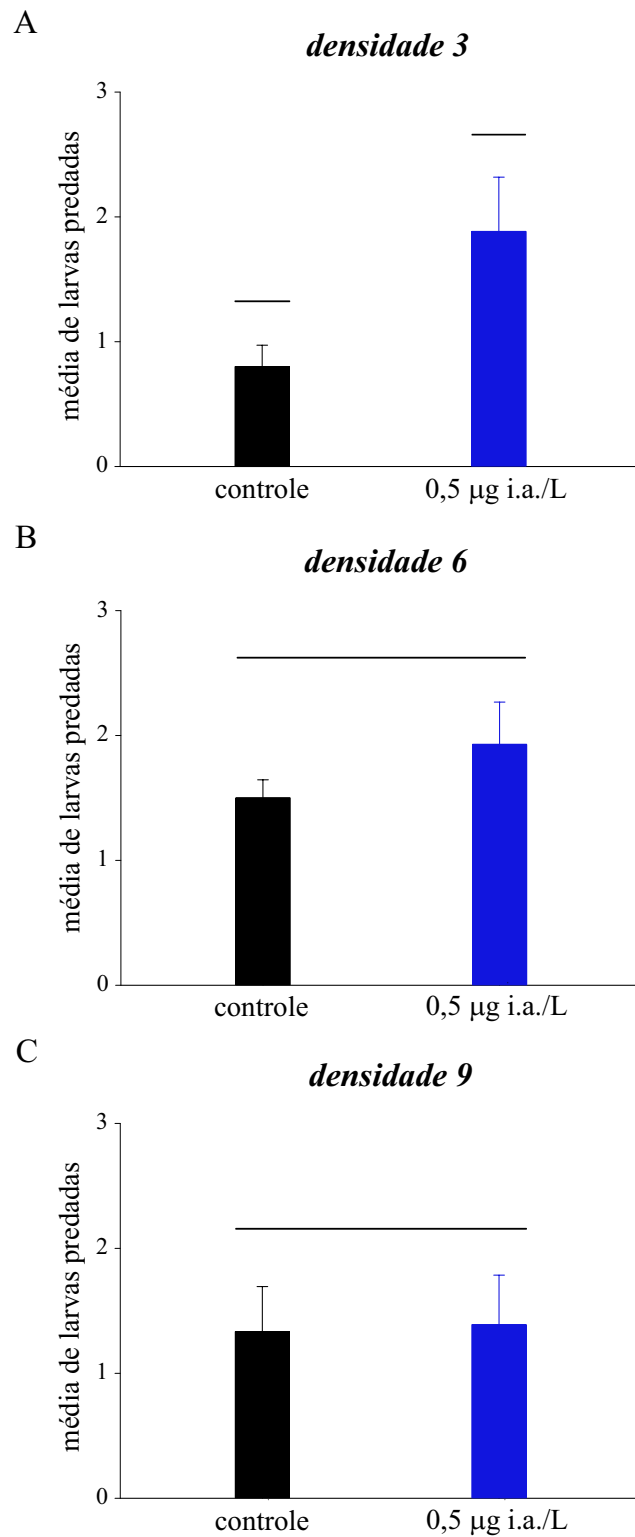


Figura 2.3: Número médio total ( $\pm$  EP) de larvas de *Aedes aegypti* predadas por *Buena amnigenus* em diferentes densidades, após 24 h de exposição. (A) Densidade três, (B) seis e (C) nove. Médias com linhas seguidas na mesma altura não diferem entre si pelo teste de Tukey.

### 2.3.3 Bioensaio de predação com *Be. anurum*

A análise de variância com medidas repetidas no tempo mostrou efeito do tempo ( $F_{(8,117)} = 25,42$ ;  $P < 0,0001$ ), concentração ( $F_{(1,2)} = 34,80$ ;  $P < 0,0001$ ), densidade ( $F_{(1,2)} = 8,76$ ;  $P = 0,0003$ ), interação entre tempo e concentração ( $F_{(16,234)} = 8,63$ ;  $P < 0,0001$ ) e interação entre tempo e densidade ( $F_{(16,234)} = 3,54$ ;  $P < 0,0001$ ) no primeiro dia de avaliação (Tabela 2.2, Figura 2.4).

Tabela 2.2: Análise de variância com medida repetida no tempo para o número médio de larvas predadas de *Aedes aegypti* por *Belostoma anurum*, após 24 h de exposição à piriproxifeno.

| Fontes de variação   | gl                | F                 | P             |       |          |
|----------------------|-------------------|-------------------|---------------|-------|----------|
| Entre fatores        |                   |                   |               |       |          |
| Concentração (C)     | 2                 | 34,80             | <0,0001*      |       |          |
| Densidade (D)        | 2                 | 8,76              | 0,0003*       |       |          |
| C x D                | 4                 | 2,43              | 0,0515*       |       |          |
| Erro                 | 126               | -                 | -             |       |          |
|                      | gl <sub>den</sub> | gl <sub>num</sub> | Wilks' lambda | F     | P        |
| Dentro de cada fator |                   |                   |               |       |          |
| Tempo (T)            | 8                 | 117               | 0,365         | 25,42 | <0,0001* |
| T x C                | 16                | 234               | 0,395         | 8,63  | <0,0001* |
| T x D                | 16                | 234               | 0,648         | 3,54  | <0,0001* |
| T x C x D            | 32                | 433               | 0,746         | 1,12  | 0,3032   |

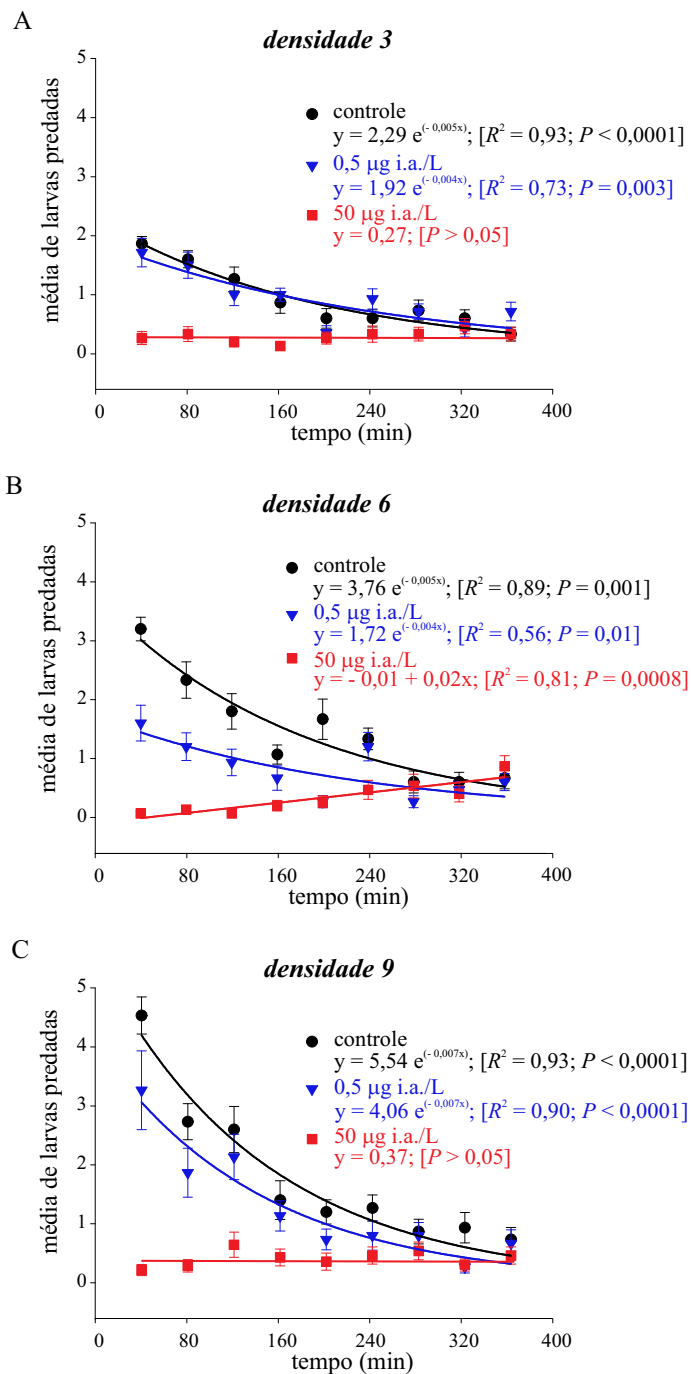


Figura 2.4: Número médio ( $\pm$  EP) de larvas de *Aedes aegypti* predadas por *Belostoma anurum* em diferentes densidades, após 24 h de exposição do predador. (A) Densidade três, (B) seis e (C) nove.

A predação de larvas de *Ae. aegypti* por ninfas de *Be. anurum* foi afetada pela concentração de piriproxifeno. Os insetos quando não expostos ao inseticida apresentaram maior predação nos primeiros minutos de avaliação nas três densidades, condição mais evidente nas densidades seis e nove (Figura 2.4B, Figura 2.4C). Independente das densidades, a curva de predação apresentou regressão exponencial negativa no

controle e 0,5  $\mu\text{g}$  i.a./L, com redução do consumo ao longo do tempo (Figura 2.4). Quando expostos a concentração de campo (50  $\mu\text{g}$  i.a./L), o consumo se manteve ao longo do tempo nas densidades três e seis, com média de 0,27 e 0,37 larvas predadas, respectivamente (Figura 2.4A, Figura 2.4C). No entanto, na densidade seis, a curva de predação apresentou regressão linear, com aumento de larvas predadas ao longo do tempo (Figura 2.4B). Independente das concentrações, há uma tendência do consumo se igualar ao longo do tempo para as três densidades (Figura 2.4).

A análise de variância com medidas repetidas no tempo mostrou efeito do tempo ( $F_{(3,124)} = 141,78; P < 0,0001$ ), concentração ( $F_{(1,2)} = 8,37; P = 0,0004$ ), densidade ( $F_{(1,2)} = 17,36; P < 0,0001$ ), interação entre tempo e concentração ( $F_{(6,248)} = 11,67; P < 0,0001$ ), interação entre tempo e densidade ( $F_{(6,248)} = 11,29; P < 0,0001$ ) e interação entre tempo, concentração e densidade ( $F_{(12,328)} = 1,99; P = 0,0248$ ) ao longo dos dias de avaliação (Tabela 2.3, Figura 2.5).

Tabela 2.3: Análise de variância com medida repetida no tempo para o número médio diário de larvas predadas de *Aedes aegypti* por *Belostoma anurum*

| Fontes de variação | gl  | F     | P        |
|--------------------|-----|-------|----------|
| Entre fatores      |     |       |          |
| Concentração (C)   | 2   | 8,37  | 0,0004*  |
| Densidade (D)      | 2   | 17,36 | <0,0001* |
| C x D              | 4   | 0,89  | 0,4721*  |
| Erro               | 126 | -     | -        |

|                      | gl <sub>den</sub> | gl <sub>num</sub> | Wilks' lambda | F      | P        |
|----------------------|-------------------|-------------------|---------------|--------|----------|
| Dentro de cada fator |                   |                   |               |        |          |
| Tempo (T)            | 3                 | 124               | 0,225         | 141,78 | <0,0001* |
| T x C                | 6                 | 248               | 0,608         | 11,67  | <0,0001* |
| T x D                | 6                 | 248               | 0,616         | 11,29  | <0,0001* |
| T x C x D            | 12                | 328               | 0,830         | 1,99   | 0,0248*  |

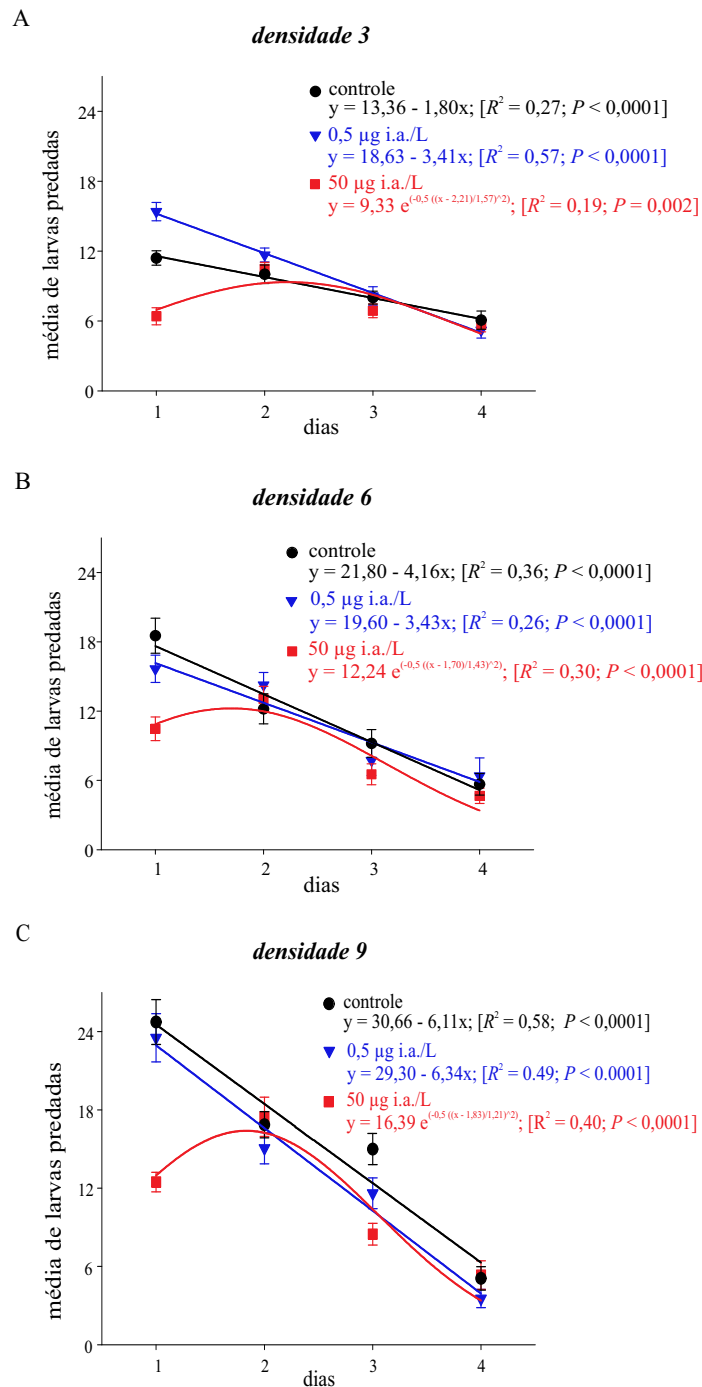


Figura 2.5: Número médio diário ( $\pm$  EP) de larvas de *Aedes aegypti* predadas por *Belostoma anurum* em diferentes densidades. (A) Densidade três, (B) seis e (C) nove.

O consumo médio de larvas ao longo dos dias foi reduzido no controle e 0,5 µg i.a./L para as três densidades. Ambos os tratamentos apresentaram regressão linear, com pico de consumo no primeiro dia (Figura 2.5). O efeito na capacidade predatória de *Be. anurum* foi mais pronunciado quando expostas a concentração de 50 µg i.a./L, onde no primeiro dia o consumo de larvas foi menor, independente da densidade. Nessa concentração, a predação apresentou regressão não linear Gaussian e o

pico de maior consumo de larvas passou do primeiro para o segundo dia (Figura 2.5). Independente das concentrações que os insetos foram expostos, há uma tendência do consumo se igualar no quarto dia de avaliação nas três densidades (Figura 2.5).

Houve um acréscimo no número total de larvas de *Ae. aegypti* predadas por ninfa de *Be. anurum* com o aumento da densidade (Figura 2.6). Na densidade de três larvas, o total de larvas predadas foi afetado pela maior concentração do inseticida ( $F_{(1,2)} = 6,36; P = 0,0039$ ). O mesmo pode ser observado na densidade nove ( $F_{(1,2)} = 4,01; P = 0,025$ ) (Figura 2.6A, Figura 2.6C). Na densidade seis, o consumo de larvas não diferiu entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ) (Figura 2.6B).

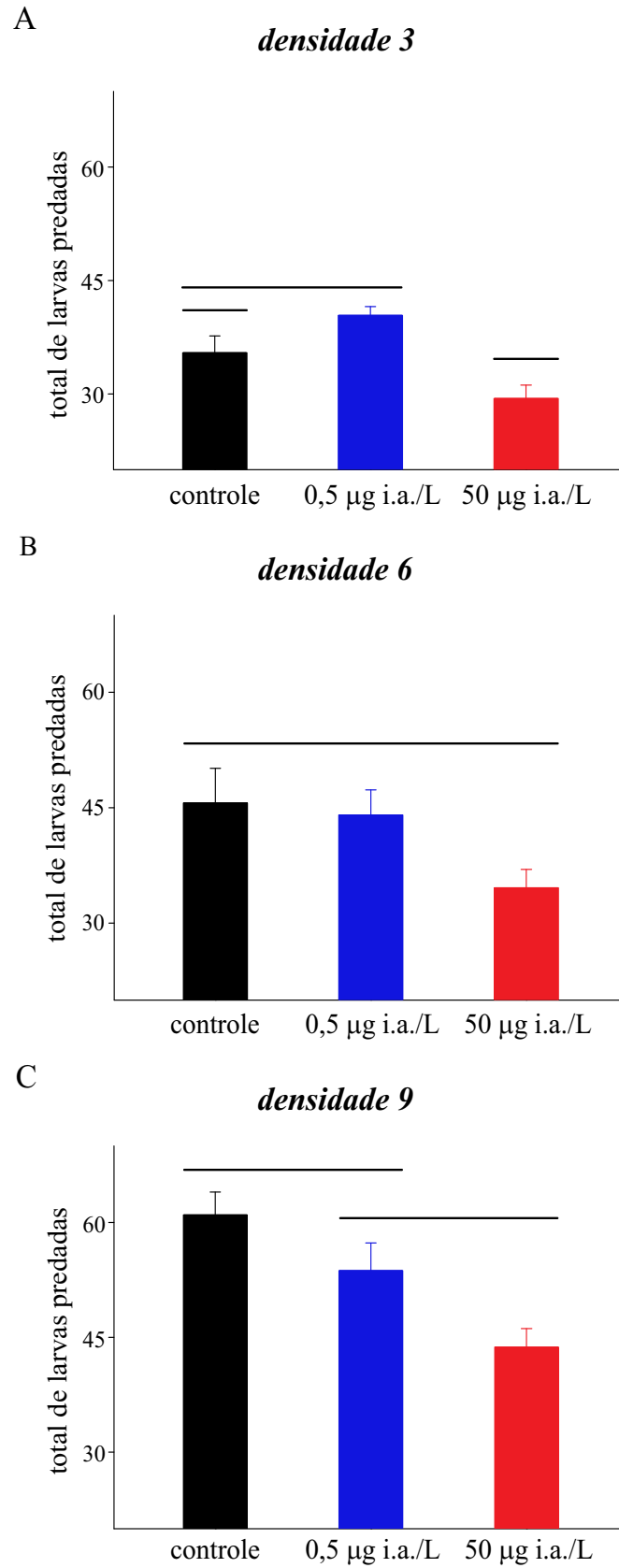


Figura 2.6: Total de larvas ( $\pm$  EP) de *Aedes aegypti* predadas por *Belostoma anurum* na densidade três (A), seis, (B) e (C) nove. Médias com linhas seguidas na mesma altura não diferem entre si pelo teste de Tukey.

## 2.4 Discussão

O presente estudo mostrou que piriproxifeno tem grande potencial no controle de larvas de *Ae. aegypti* e promove uma suscetibilidade diferencial em duas espécies de inimigos naturais de larvas de mosquito que coabitam ambientes aquáticos. *Ae. aegypti* e *Bu. amnigenus* foram altamente suscetíveis quando expostos a concentração de 50 µg i.a./L de piriproxifeno. Assim, em um cenário de exposição ao inseticida, o inimigo natural *Bu. amnigenus* é afetado. Mesmo essa espécie não compartilhando o mesmo habitat que larvas de *Ae. aegypti*, há coexistência entre *Buena* spp. e outras espécies de mosquitos (e.g., *Aedes albopictus*, *Anopheles* spp, *Culex* spp. (Diptera: Culicidae)) que são alvos de piriproxifeno e outros inseticidas (Rodríguez-Castro et al., 2006; Blaustein & Jonathan, 2009; Shaalan & Canyon, 2009; Marina et al., 2014).

A suscetibilidade de *Ae. aegypti* e *Be. anurum* ao piriproxifeno possivelmente ocorreu pelo mecanismo primário de ação do inseticida. Uma vez que a exposição foi feita em indivíduos imaturos, onde a atividade do hormônio juvenil é mais pronunciada e impediu que realizasse a muda e levasse a morte (Invest & Lucas, 2008; Tuten et al., 2016). Em adultos de *Bu. amnigenus* a toxicidade do piriproxifeno pode estar relacionada com o gasto energético no metabolismo destoxificativo desse xenobiótico, que possivelmente comprometeu outras funções vitais da espécie. No entanto, estudos mais detalhados são necessários para confirmar o mecanismo de ação do inseticida nesses indivíduos.

Em nossos bioensaios de predação, foram utilizados adultos de *Bu. amnigenus* e ninfas de segundo ínstar de *Be. anurum*, nessas condições as espécies apresentam tamanho aproximado e compartilham o mesmo recurso. Os resultados sugerem que *Be. anurum* foi o predador mais voraz, por consumir maior número de larvas de *Ae. aegypti*, quando comparado a *Bu. amnigenus*, independente da densidade e concentração de piriproxifeno que foi exposto. O maior consumo de larvas por *Be. anurum* pode ter sido devido a necessidade energética para a muda, uma vez que foram utilizadas ninfas no bioensaio. Demanda energética essa, que não se faz necessário em adultos de *Bu. amnigenus*, o que pode ter contribuído para o menor consumo larvas.

O piriproxifeno pode ter atuado restringindo a capacidade em perceber a presença da presa ou reduzindo a agilidade do predador, ou ainda, levando ao comportamento

anti-alimentar dos insetos (Nasr et al., 2010; Reynaldi et al., 2011). A percepção da presa é um processo fisiológico imprescindível em *Buena* spp. e *Belostoma* spp., uma vez que esses insetos possuem comportamento de esperar pela presa e necessitam distinguir a presença da mesma para captura (Gittelman, 1974; Consoli et al., 1989; Cloarec, 1990). Além disso, a redução da habilidade predatória no primeiro dias após a exposição ao piriproxifeno pode ter ocorrido devido ao estresse promovido pelo inseticida. Esse menor consumo no primeiro dia comprometeu o consumo total de larvas, ou seja, a habilidade predatória de *Be. anurum* foi prejudicada.

Com isso, a exposição ao piriproxifeno promove alterações a curto prazo na agilidade de *Be. anurum* e, conseqüentemente, redução da habilidade predatória da espécie. Essa condição pode representar prejuízos longo prazo para espécie, uma vez que a sobrevivência e reprodução podem ser reduzidas.

A presença de piriproxifeno no ecossistema aquático pode causar efeitos letais e, quando em concentrações subletais ou em exposição a curto prazo, pode induzir alterações na habilidade predatória de insetos predadores. Isso pode levar a efeitos na estrutura da comunidade, se as relações ecológicas inter-específicas sejam alteradas.

## 2.5 Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Agradeço à Dra. Julianna Freires Barbosa pela ajuda na identificação da espécie *Bu. amnigenus* utilizada nos experimentos.

## 2.6 Referências

- Blaustein, L.; Jonathan, M.** 2009. Interactions between mosquito larvae and species that share the same trophic level. *Annual Review of Entomology*, 52: 489-505.
- Cloarec, A.** 1990. Factors influencing the choice of predatory tactics in a water bug, *Diplonychus indicus* Venck & Rao (Heteroptera: Belostomatidae). *Animak Behavior*, 40:

262-271.

**Consoli, R. A. G. B. Pereira, M. H.; Melo, A. L.; Pereira, L. H.** 1989. *Belostoma micantulum* Stal, 1858 (Hemiptera: Belostomatidae) as a predator of larvae and pupae of *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae) in laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84: 577-578. **Gittelman, S. H.** 1974. Locomotion and predatory strategy in backswimmers (Hemiptera: Notonectidae). *American Midland Naturalist*, 92: 496-500.

**Gutiérrez, Y.** 2014. Alterações morfofisiológicas e comportamentais mediadas por deltametrina em insetos aquáticos. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade Federal de Viçosa. pp. 1-53.

**Gutiérrez, Y.; Santos, H. P.; Serrão, J. E.; Oliveira, E. E.** 2016. Deltamethrin-mediated toxicity and cytomorphological changes in the midgut and nervous system of the mayfly *Callibaetis radiatus*. *PLoS One*, 1(3): e0152383.

**Halstead, N. T.; Civitello, D. J.; Rohr, J. R.** 2015. Comparative toxicities of organophosphate and pyrethroid insecticides to aquatic macroarthropods. *Chemosphere*, 135: 265-271.

**Halstead, N. T.; McMahon, T. A.; Johnson, S. A.; Raffel, T. R.; Romansic, J. M.; Crumrine, P. W.; Rohr, J. R.** 2014. Community ecology theory predicts the effects of agrochemical mixtures on aquatic biodiversity and ecosystem properties. *Ecology Letters*, 17: 932-941.

**Hanlon, S. M.; Relyea, R.** 2013. Sublethal effects of pesticides on predator-prey interactions in amphibians. *Copeia*, 4: 691-698.

**Invest. J.; Lucas, J.** 2008. Pyriproxyfen as a mosquito larvicide. In: Robinson WJ, Bajomi D, eds. *Proceedings of the Sixth International Conference on Urban Pests*. 2008 July 13-16; Budapest, Hungary. Veszprem, Budapest, Hungary: OOK-Press. p 239-245.

**Kweka, J. E.; Goufa, Z.; Thomas, M.; Gilbreath, Y.A.; Mramba, N.; Githeko, A.; Guiyan, Y.** 2011. Predation efficiency of *Anopheles gambiae* larvae by aquatic predators of western Kenya highlands. *Parasite & Vectors*, 4: 128.

**Lahr, J.; Badji, A.; Marquenie, S.; Schuiling, E.; Ndour, K. B.; Diallo, A. O.; Everts, J. W.** 2001. Acute toxicity of locust insecticides to two indigenous invertebrates from Sahelian temporary ponds. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48: 66-75.

**Mahner, M.** 1993. *Systema cryptoceratum phylogenicum* (Insecta, Heteroptera). *Zoologica*, 143, 1-303.

**Marina, C. F.; Bond, J. G.; Muñoz, J.; Valle, J.; Novelo-Gutiérrez, R.; Williams, T.** 2014. Efficacy and non-target impact of spinosad, Bti and temephos larvicides for control of *Anopheles* spp. in an endemic malaria region of southern Mexico. *Parasites & Vectors*, 7: 55.

- Marriel, N. B.; Tomé, H. V. V.; Guedes, R. N. C.; Martins, G. F.** 2016. Deltamethrin-mediated survival, behavior, and oenocyte morphology of insecticide-susceptible and resistant yellow fever mosquitos (*Aedes aegypti*). *Acta Tropica*, 158: 88-96.
- Mulla, M.** 1995. The future of insect growth regulators in vector control. *Journal of American Mosquito Association*, 11: 269–273.
- Nasr, H. M.; Badawy, M. E. I.; Rabea, E. I.** 2010. Toxicity and biochemical study of two insect growth regulators, buprofezin and pyriproxyfen, on cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98: 198–205.
- Pereira, M. H.; Silva, R. E.; Azevedo, A. M. S.; Melo, A. L.; Pereira, L. H.** 1993. Predations of *Biomphalaria glabrata* during the development of *Belostoma anurum* (Hemiptera, Belostomatidae). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 35: 405-409.
- Quiroz-Martinez, H.; Rodríguez-Castro, A.** 2007. Aquatic insects as predators of mosquito larvae. *Journal of American Mosquito Association*, 7: 781-865.
- Relyea, R. A.; Edwards, K.** 2010. What Doesn't kill you makes you sluggish: how sublethal pesticides alter predator–prey interactions. *Copeia*, 4: 558-567.
- Reynaldi, S.; Meiser, M.; Liess, M.** 2011. Effects of the pyrethroid fenvalerate on the alarm response and on the vulnerability of the mosquito larva *Culex pipiens molestus* to the predator *Notonecta glauca*. *Aquatic Toxicology*, 104: 56-60, 2011.
- Rodriguez-Castro, V. A.; Quiroz-Martinez, H.; Solis-Rojas, C.; Tejada, L. O.** 2006. Mass rearing and egg release of *Buenoa scimitra* Bare as biocontrol of *Culex quinquefasciatus* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22: 123-125.
- Seccacini, E.; Lucia, A.; Harburguer, L.; Zerba, E.; Licastro, S; Masuh, H.** 2008. Effectiveness of Pyriproxyfen and Diflubenzuron Formulations as Larvicides Against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24: 398-403.
- Tuten, H. C.; Moosmann, P.; Mathis, A.; Schaffner, F.** 2016. Effects of pyriproxifen on *Aedes japonicus* development and its Auto-dissemination by gravid females in laboratory trials. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 32: 55-58.
- Wawrowski A.; Matthews, P. G.; Gleixner, E.; Kiger, L.; Marden, M. C.; Hankeln, T.; Burmester, T.** 2012. Characterization of the hemoglobin of the backswimmer *Anisops deanei* (Hemiptera). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 42: 603-609.

## Conclusões gerais

Foi observada suscetibilidade diferencial nos percevejos aquáticos *B. anurum* e *B. annigenus* em exposição aos inseticidas deltametrina e piriproxifeno.

As ninfas de *B. anurum* foram menos suscetíveis à deltametrina do que larvas de *A. aegypti*, com razão de seletividade de 32,72. Mesmo apresentando segurança ao predador, deltametrina causou reduções na sobrevivência de ninfas de *B. anurum* e após exposição subletal, *B. anurum* teve as habilidades predatórias comprometidas.

Adultos de *B. annigenus* foram altamente sensíveis ao inseticida piriproxifeno quando expostos à concentração recomendada para controle de *A. aegypti* (50  $\mu\text{g}$  i.a./L). Em exposição subletal, *B. annigeuns* não apresentou redução na capacidade predatória, independente das densidades ofertadas ao predador. Ninfas de *B. anurum* apresentaram redução na sobrevivência quando expostas ao piriproxifeno na concentração de campo. As alterações na capacidade predatória de *B. anurum* foram mais evidentes quando expostos à 50  $\mu\text{g}$  i.a./L de piriproxifeno.

Essas espécies de percevejos aquáticos estudadas neste trabalho estão sujeitas a efeitos adversos dos inseticidas.