

FRANCELINA APARECIDA DUARTE ROCHA

**EFEITOS COLATERAIS DOS INSETICIDAS NEUROTÓXICOS FLUBENDIAMIDA
E LAMBDA CIALOTRINA NO INTESTINO MÉDIO DA LAGARTA
DESFOLHADORA *Spodoptera cosmioides* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

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

Orientador: José Eduardo Serrão

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

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

T

R672e
2022

Rocha, Franceline Aparecida Duarte, 1987-
Efeitos colaterais dos inseticidas neurotóxicos
flubendiamida e lambda cialotrina no intestino médio da lagarta
desfolhadora *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) /
Franceline Aparecida Duarte Rocha. – Viçosa, MG, 2022.
1 tese eletrônica (60 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Jose Eduardo Serrão.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Geral, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.406>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Inseticidas - Testes de toxicidade. 2. Insetos como
transmissores de doenças das plantas. 3. Flubendiamida.
4. Lambda cialotrina. 5. *Spodoptera cosmioides*. I. Serrão, Jose
Eduardo, 1965-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Biologia Geral. Programa de Pós-Graduação
em Entomologia. III. Título.

CDD 22. ed. 632.9517

FRANCELINA APARECIDA DUARTE ROCHA

**EFEITOS COLATERAIS DOS INSETICIDAS NEUROTÓXICOS FLUBENDIAMIDA
E LAMBDA CIALOTRINA NO INTESTINO MÉDIO DA LAGARTA
DESFOLHADORA *Spodoptera cosmioides* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

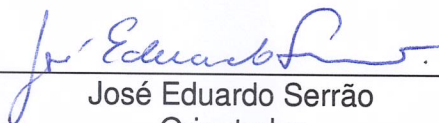
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 10 de março de 2022

Assentimento:



Francelina Aparecida Duarte Rocha
Autora



José Eduardo Serrão
Orientador

Aos meus filhos: Pedro e Daniel

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, ao departamento de Entomologia e ao Laboratório de Ultraestrutura Celular do Departamento de Biologia Geral, pelo apoio à realização desta pesquisa.

A Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro

Ao meu orientador José Eduardo Serrão por ser um exemplo de ser humano íntegro e profissional, pelos inúmeros ensinamentos, pela atenção e orientação.

Ao meu coorientador Luís Carlos Martínez pelo suporte e conhecimento repassado.

Agradeço aos amigos que ajudaram diretamente neste trabalho: Bárbara Amoroso, Cliver Farder e Jamile Cossolin, também aos amigos que fizeram a rotina do laboratório ser bem mais leve: Amanda Martins, Mayara Badaró, André Oliveira, Lenise Carneiro, Lídia Dourado, Ana Paula, Filipe, Matheus Tudor, Raissa Santana e Jô. Obrigada pela amizade, convívio diário, diálogos e experiências compartilhadas.

A minha mãe Marta e aos meus irmãos: Divanir, Givanildo e Altair que souberam entender a minha ausência e me apoiaram em todos os momentos.

A Aldair, por sempre me apoiar e me ajudar nas minhas escolhas, foi meu porto seguro nos momentos turbulentos.

Aos meus filhos por serem minha maior riqueza e estímulo a ser uma pessoa melhor, agradeço por serem minha fortaleza.

A Deus que nunca me desamparou nestes anos de estudo.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Deus não poderia inspirar-me desejos
irrealizáveis...”*
(Santa Teresinha do Menino Jesus)

RESUMO

ROCHA, Francelina Aparecida Duarte, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2022. **Efeitos colaterais dos inseticidas neurotóxicos flubendiamida e lambda cialotrina no intestino médio da lagarta desfolhadora *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae)** Orientador: José Eduardo Serrão.

A lagarta *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida popularmente como lagarta-da-vagem ou lagarta-preta, é uma praga em expansão de diversos cultivos agrícolas. Elas provocam quedas nos rendimentos agrícolas e estão presentes em todos os estágios vegetativos. Atualmente, o controle desta praga é feito principalmente com o uso de inseticidas químicos, mas ainda há deficiências de inseticidas registrados para essa praga, por isso é importante testar outros possíveis químicos para serem utilizados no controle de *S. cosmioides*. O flubendiamida e o lambda-cialotrina são inseticidas são utilizados contra uma gama de lepidópteros pragas e é efetivo contra vários insetos pragas. A interação desses produtos com células do intestino médio de lagartas determina a sua eficácia inseticida. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência, toxicidade e as alterações histopatológicas no intestino médio de *S. cosmioides* expostas ao flubendiamida e ao lambda cialotrina. Flubendiamida foi tóxico para *S. cosmioides* ($CL_{50} = 3,49 \text{ mg L}^{-1}$ e $CL_{90} = 8,095 \text{ mg L}^{-1}$), com a taxa de sobrevivência após 72 h reduzida de 80,92% do controle para 39,76% com a CL_{50} e 21,53% com a CL_{90} . Lambda cialotrina foi tóxico para *S. cosmioides* ($CL_{50} = 23,03 \text{ mg L}^{-1}$ e $CL_{90} = 174,8 \text{ mg L}^{-1}$), com a taxa de sobrevivência após 72 h reduzida de 83,33% no controle, para 37,89%, 16,66%, 0%, e 0% com as CL_{25} , CL_{50} , CL_{75} e CL_{90} de lambda-cialotrina, respectivamente. Intestino médio de *S. cosmioides* foi extraído após ingestão dos inseticidas e avaliado por microscopia de luz. Os inseticidas causaram desorganização celular, degeneração da borda estriada, fragmentação de células e vacuolização celular e alguns núcleos com cromatina condensada. Portanto, Flubendiamida e Lambda cialotrina são nocivos a *S. cosmioides* em concentrações letais médias provocando mudanças histológicas severas com degeneração do epitélio do intestino médio.

Palavras-chave: Flubendiamida. Lagartas. Lambda cialotrina. Toxicidade.

ABSTRACT

ROCHA, Francelina Aparecida Duarte, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March 2022. **Side effects of the neurotoxic insecticides flubendiamide and lambda-cyhalothrin in the gut of the leaf-cutting caterpillar *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae).** Adviser: José Eduardo Serrão.

The caterpillar *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae), popularly known as the black pod caterpillar, is an expanding pest of several agricultural crops. They cause declines in agricultural yields and are present in all vegetative courses. Currently, the control of this pest is mainly done with the use of chemical insecticides, but there are deficiencies of insecticides registered for this pest, so it is important to test other possible chemical products to be used in the control of *S. cosmioides*. Flubendiamide and Lambda cyhalothrin are insecticides that are used against a range of lepidopteran pests and are effective against various insect pests. The interaction of products with midgut cells of caterpillars determines their insecticidal diligence. Therefore, the objective of this work was to evaluate survival, toxicity and histopathological changes in the midgut of *S. cosmioides* exposed to flubendiamide and Lambda cyhalothrin. Flubendiamide was toxic to *S. cosmioides* (LC_{50} mg L⁻¹ and LC_{90} = 895 mg L⁻¹), with a survival rate after 72 h, reaching from 80.92% of the control to 39.76% LC_{50} and 21.53% with LC_{90} . Lambda cyhalothrin was toxic to *S. cosmioides* (LC_{50} = 2.03 mg L⁻¹, LC_{25} = 0.03 mg L⁻¹, LC_{90} = 174.8 mg L⁻¹), with the survival rate after 72 h 3% in the control to 37, 89 %, 16.66%, 0%, and 0% with Lambda cyhalothrin LC_{25} , LC_{50} , LC_{75} , and LC_{90} , respectively. Midgut *S. cosmioides* was extracted after ingestion of insecticides and evaluated by light microscopy. The insecticides caused cellular disorganization, degeneration of the striated border, cell fragmentation and cell vacuolization and some nuclei with condensed chromatin. Therefore, Flubendiamide and Lambda cyhalothrin are harmful to *S. cosmioides* in their medium lethal intent causing changes with various degenerations of the medium epithelium.

Keywords: Flubendiamide. Caterpillars. Lambda cyhalothrin. Toxicity.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	9
CAPÍTULO 1.....	15
EFEITOS TOXICOLÓGICOS E MORFOLÓGICOS DA FLUBENDIAMIDA NO INTESTINO MÉDIO DA LAGARTA <i>Spodoptera cosmioides</i> WALKER (1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	
CAPÍTULO 2	40
EFEITOS TÓXICOS CAUSADOS PELA LAMBDA-CIALOTRINA NO INTESTINO MÉDIO DA LAGARTA <i>Spodoptera cosmioides</i> WALKER (1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	
CONSIDERAÇÕES FINAIS	60

INTRODUÇÃO

Spodoptera cosmioides Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida popularmente como lagarta-da-vagem ou lagarta-preta, é uma praga em expansão, devida a crescente incidência e intensidade de danos nos cultivos agrícolas (Santos, 2007; Souza et al., 2013). Essa lagarta pode atacar as plantas logo após a sua emergência, causando redução da produtividade, devido ao severo desfolhamento e a perfuração das estruturas reprodutivas (botões florais, flores, maçãs e vagens). Por isso é considerada uma espécie de importância econômica nas culturas de algodão (Santos, 2010), soja (Souza et al., 2012) tomate (Pereira et al., 2009) morango e uva (Bortoli et al., 2012).

Spodoptera cosmioides há poucos anos atrás apresentava ocorrência esporádica na cultura do algodão e soja, mas nos últimos anos este cenário tem mudado e esta espécie têm sido considerada praga-chave. Em certas regiões, como o cerrado brasileiro, que vem se destacando principalmente na produção de grãos, os problemas com *S. cosmioides* tem sido frequentes e preocupantes (Santos, 2007; Quintela et al., 2007; Tabashnik et al., 2013; Souza et al., 2014). Esta espécie possui potencial destrutivo e quando o seu ataque é nas folhas, o consumo é aproximadamente o dobro em relação ao consumo foliar de cada uma das demais espécies de lagartas desfolhadoras que também ocorrem na cultura (De Freitas Bueno et al., 2011).

O controle biológico de lagartas deste gênero é realizado por predadores, parasitoides, fungos e vírus entomopatogênicos. Mas o uso de inseticidas no controle é a prática mais utilizada pelos agricultores, pois proporciona uma rápida ação curativa quando a população de insetos está igual ou acima do nível de ação. Atualmente, inseticidas químicos de amplo espectro de ação são usados para controlar essa praga (Agrofit, 2021), mas é importante destacar que existe uma grande deficiência de inseticidas registrados e escassez de informações sobre o controle de *S. cosmioides*. Entre as possíveis opções de inseticidas, embora não sejam registrados para o controle dessa lagarta, incluem-se produtos do grupo das diamidas, reguladores de crescimento de insetos, espinosinas, organofosforados, piretróides e produtos de origem biológica como o *Bacillus thuringiensis* (Gallo et al., 2002).

Na década de 90 a empresa Nihon Nohyaku iniciou um programa de desenvolvimento de novos inseticidas, cujo avanço foi mais significativo em 1998. No decorrer da pesquisa, foi encontrado um derivado inseticida de benzenodicarboxamida, embora o nível de atividade deste composto não tenha sido satisfatório, ele atraiu atenção pela sua estrutura química e também pelos sintomas inseticidas. A partir daí continuaram as pesquisas no intuito de aumentar a atividade através da síntese de uma série de compostos. A otimização do desempenho dos compostos levou à identificação de flubendiamida, uma nova classe de inseticida com atividade extremamente intensa contra um amplo espectro de insetos lepidópteros, e não tem sinal de fitotoxicidade (Nishimatsu et al., 2005).

O inseticida flubendiamida já é utilizado no controle de pragas em várias culturas, inclusive aquelas resistentes aos inseticidas neonicotinóides e piretróides. A estrutura química da flubendiamida apresenta uma cadeia heptafluoro isopropílica, que confere um caráter lipofílico, condição necessária para uma alta atividade do inseticida. Além disso, sua composição apresenta um substituinte de iodo, que é muito incomum para um composto de proteção das culturas agrícolas. As propriedades da flubendiamida são expressas pela ação bioquímica deste composto, que afeta o equilíbrio de íons cálcio dos insetos, e assim provoca contrações dos músculos (Masaki et al., 2006). Em contraste com a maioria dos outros pesticidas comercialmente disponíveis que atuam sobre o sistema nervoso, a flubendiamida funciona a partir de perturbações musculares, agindo sobre os receptores de rianodina (canais intracelulares de Ca^{2+}). Este receptor é especializado na liberação rápida e maciça de Ca^{2+} a partir de reservas intracelulares, que é um passo essencial na contração muscular, levando à rápida paralização da alimentação, letargia, paralisia parcial, falha do músculo cardíaco e regurgitação (Masaki et al., 2006). Dessa forma, as características deste pesticida enquadram-se como uma excelente ferramenta ao programa de manejo integrado de pragas (MIP) em uma variedade de culturas.

Outro inseticida que pode ser uma possível opção no controle desta praga, é o Lambda cialotrina que pertence a uma classe de inseticidas sintéticos que imitam a estrutura e as propriedades inseticidas da piretrina, um inseticida natural obtido das flores dos crisântemos. Os piretróides, como a cialotrina, são preferidos como um ingrediente ativo em inseticidas porque permanecem efetivos por períodos mais longos que a piretrina, tem baixa solubilidade em água e volatilidade. São utilizados

no controle de insetos em várias culturas como o algodão, café, batata, feijão, milho, soja, tomate e trigo (Agrofit., 2021).

Os piretróides, incluindo lambda-cialotrina, interrompem o funcionamento do sistema nervoso causando paralisia ou morte. São venenos axônicos que afetam a fibra nervosa por se ligarem a uma proteína que regula o canal de sódio controlado por voltagem. Os canais iônicos são caminhos através do qual os íons entram no axônio e causam excitação. Quando os canais são deixados abertos, as células nervosas produzem descargas repetitivas e causam paralisia do organismo (Bradbury e Coats 1989; Shafer e Meyer 2004). Devido à natureza lipofílica dos piretróides, membranas biológicas e tecidos os absorvem prontamente. Especificamente, a lambda-cialotrina, assim que é ingerida ou penetra na cutícula do inseto, interrompe a condução nervosa em poucos minutos; isso leva à cessação da alimentação, perda de controle muscular, paralisia e eventual morte.

Embora o principal alvo dos inseticidas flubendiamida e o lambda-cialotrina sejam o sistema nervoso dos insetos, estes compostos podem afetar órgãos não-alvo como o intestino médio, que é o primeiro órgão a entrar em contato com o inseticida após a ingestão (Denecke et al., 2018). É importante os estudos de toxicidade neste órgão por causa da sua exposição aos inseticidas e pelo fato de os inseticidas orais terem que atravessar a barreira intestinal para atingir os órgãos-alvo (Denecke et al., 2018) e desta forma eles podem interagir com células intestinais causando danos neste órgão e afetando vários aspectos da fisiologia dos insetos (Martínez et al., 2018; Fiaz et al., 2019).

Neste estudo relatamos pela primeira vez as alterações no intestino médio de *S. cosmioides* mediadas pelo inseticida flubendiamida e pelo lambda-cialotrina utilizando técnica de microscopia de luz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. (2021) Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 15/06/2021.
- BORTOLI, L. C., BERTIN, A. L. I. N. E., EFROM, C. F. S., & BOTTON, M. (2012) Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em morangueiro e videira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(4), 1068-1073.
- BRADBURY, S. P. & COATS, J. R. (1989) Toxicokinetics and toxicodynamics of pyrethroid insecticides in fish. *Environmental Toxicological and Chemistry* 8, 373–380.
- COSSOLIN, J. F. S., LOPES, D. R. G., MARTÍNEZ, L. C., SANTOS, H. C. P., FIAZ, M., PEREIRA, M. J. B., ... & SERRÃO, J. E. (2020). Morphology and composition of the midgut bacterial community of *Scaptocoris castanea* Perty, 1830 (Hemiptera: Cydnidae). *Cell and tissue research*, 382(2), 337-349.
- DE FREITAS BUENO, R. C. O., DE FREITAS BUENO, A., MOSCARDI, F., POSTALI PARRA, J. R., & HOFFMANN-CAMPO, C. B. (2011) Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. *Pest Management Science*, 67(2), 170-174.
- DENECKE, S., SWEVERS, L., DOURIS, V., & VONTAS, J. (2018) How do oral insecticidal compounds cross the insect midgut epithelium? *Insect biochemistry and molecular biology*.
- FIAZ, M., MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., GONÇALVES, W. G., DE SOUZA, D., COSSOLIN, J., CARVALHO, P., MARTINS, G. F., & SERRÃO, J. E. (2019). Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. *PeerJ*, 7, e7489.
- GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R. P., BAPTISTA, G. C. D., BERTI FILHO, E., & MARCHINI, L. C. (2002) *Entomologia agrícola*. Ed. FEALQ, Piracicaba, São Paulo.
- MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., DA SILVA NEVES, G., GONÇALVES, W. G., ZANUNCIO, J. C., BOZDOĞAN, H., & SERRÃO, J. E. (2018). Permethrin

induces histological and cytological changes in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere*, 212, 629-637.

- MASAKI, T., YASOKAWA, N., TOHNISHI, M., NISHIMATSU, T., TSUBATA, K., INOUE, K., ... & HIROOKA, T. (2006). Flubendiamide, a novel Ca²⁺ channel modulator, reveals evidence for functional cooperation between Ca²⁺ pumps and Ca²⁺ release. *Molecular Pharmacology*, 69(5), 1733-1739.
- NISHIMATSU, T., HIROOKA, T., KODAMA, H., TONISHI, M., & SEO, S. (2005) Flubendiamide a new insecticide for controlling lepidopterous pests. In BCPC International Congress: Crop Science and Technology. Glasgow: British Crop Protection Council (pp. 57-64).
- PEREIRA, J. M.; SEIL, A. H.; OLIVEIRA, M. F.; BRUSTOLIN, C.; FERNANDES, O. M. (2009) Mortalidade de lagartas de *Spodoptera eridania* (Cramer) pela utilização de *Bacillus thuringiensis* (Berliner). *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 39, 140-143.
- POGUE, G. M. (2002) A world revision of the genus *Spodoptera* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). *Memoirs of the American Entomological Society* 43: 1-202.
- QUINTELA, E. D., TEIXEIRA, S. M., FERREIRA, S. B., GUIMARÃES, W. F. F., DE OLIVEIRA, L. F. C., & CZEPAK, C. (2007) Desafios do manejo integrado de pragas da soja no Brasil Central. *Embrapa Arroz e Feijão-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*.
- SANTOS, K. B., MENEGUIM, A. M., DOS SANTOS, W. J., NEVES, P. M., & DOS SANTOS, R. B. (2010) Characterization of the damage of *Spodoptera eridania* (Cramer) and *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) to structures of cotton plants. *Neotropical Entomology*, 39(4), 626-631.
- SANTOS, W. J. Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. In: FREIRE, E. C. (2007) (Ed.). *Algodão no cerrado do Brasil*. Brasília: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão.
- SHAFER, T. J., & MEYER, D. A. (2004) Effects of pyrethroids on voltage-sensitive calcium channels: a critical evaluation of strengths, weaknesses, data needs, and relationship to assessment of cumulative neurotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 196(2), 303-318.

SOUZA, B.H.S.; BOTTEGA, D.B.; SILVA, A.G.; BOIÇA JUNIOR, A.L. (2013) Feeding non-preference by *Spodoptera frugiperda* and *Spodoptera eridania* on tomato genotypes. *Ceres*, 60, 21-29.

TABASHNIK, B. E., BRÉVAULT, T., & CARRIÈRE, Y. (2013) Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. *Nature Biotechnology*, 31(6), 510.

CAPÍTULO 1

Efeitos toxicológicos e morfológicos da flubendiamida no intestino médio da lagarta *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae)

Resumo: *Spodoptera cosmioides* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) é uma importante praga das culturas de soja e algodão e seu controle é realizado, principalmente, pelo uso de inseticidas químicos. Mesmo o Brasil sendo o maior consumidor de pesticidas, ainda há deficiência de inseticidas registrados para o controle dessa praga. Como uma possível opção de inseticida estão as diamidas que têm demonstrado eficiência no controle de várias pragas e efeito mínimo sobre os artrópodes benéficos e inimigos naturais de pragas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade e as alterações histopatológicas causadas pelo flubendiamida, no intestino médio de lagartas de *S. cosmioides*. A eficácia do inseticida foi determinada calculando os valores das concentrações letais (CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀) em laboratório. Flubendiamida foi tóxico para *S. cosmioides* (CL₅₀ = 3,49 mg L⁻¹ e CL₉₀ = 8,095 mg L⁻¹), com a taxa de sobrevivência após 72 h reduzida de 80,92% do controle para 39,76% com a CL₅₀ e 21,53% com a CL₉₀. Flubendiamida causou danos nas células do intestino médio como desorganização no epitélio, com degeneração da borda estriada, vacuolização celular, condensação da cromatina nuclear e fragmentação de células, indicando morte celular por apoptose. Assim, a exposição ao flubendiamida causa danos ao intestino médio de *S. cosmioides* comprometendo a digestibilidade, indicando que esse inseticida tem potencial para o controle deste inseto.

Palavras-chave: Diamidas. Histopatologia. Lagarta das vagens. Órgãos não alvos. Toxicidade.

1. INTRODUÇÃO

Spodoptera cosmioides (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) é praga de importantes culturas como soja, algodão, arroz, feijão, soja e tomate, com ampla distribuição na Argentina, Brasil e Paraguai (Moscardi et al., 2012; Kahl & Kleisinger, 2016) causando redução significativa de rendimento e perdas econômicas de US \$ 600 milhões por ano (Da Silva et al., 2017).

O principal método de controle de *S. cosmioides* é o uso de inseticidas químicos (Diez-Rodriguez & Omoto, 2001) que, embora, seja uma estratégia incorporada no manejo integrado de pragas, o seu uso excessivo pode causar efeitos indesejados, como a seleção de populações resistentes ao princípio ativo, falta de seletividade e aumento de pragas secundárias (Papa, 2002). Apesar do Brasil ser o maior consumidor de pesticidas (dos Santos et al., 2018), consumindo mais de 620000 ton de inseticidas em 2019 (IBAMA, 2019), há deficiência de inseticidas registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle da *S. cosmioides*, contando atualmente somente com três inseticidas, Bazuka 216 SL, Rotashock (metilcarbamato de oxima) e Imunit (alfa-cipermetrina + teflubenzurom) (Agrofit, 2021).

Entre as possíveis opções de inseticidas, estão as diamidas, derivadas do ácido ftálico ou antranílicas. As diamidas do ácido ftálico foram a primeira classe a ser descoberta, o qual levou a elaboração do flubendiamida, uma nova molécula de alta atividade inseticida que embora sejam eficazes contra lepidópteros pragas (Tohnishi.,2005; Kuss, 2016), ainda não são registrados para o controle de *S. cosmioides* (Gallo et al., 2002). Esses químicos tem amplo espectro e perfil toxicológico específico (Selby et al., 2013) que afeta o equilíbrio de íons cálcio dos insetos provocando contrações musculares involuntárias (Masaki et al., 2006) e

agindo sobre o receptor de rianodina (canais intracelulares de Ca^{2+}) com rápida liberação de Ca^{2+} intracelular, levando à rápida paralização da alimentação, letargia, paralisia parcial, falha do músculo cardíaco e regurgitação (Masaki et al., 2006; Kato et al., 2009).

O flubendiamida tem efeito mínimo sobre os artrópodes benéficos e inimigos naturais, podendo ser utilizado no MIP (Tohnishi et al., 2010) em culturas de soja, algodão, milho, cana de açúcar e tomate contra diversas pragas como *Alabama argillacea* (Erebidae), *Helicoverpa armigera* (Noctuidae), *Heliothis virescens* (Noctuidae), *Spodoptera eridania* (Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), *Diatraea saccharalis* (Crambidae), *Neoleucinodes elegantalis* (Crambidae) e, *Tuta absoluta* (Gelechiidae) (Agrofit, 2020).

O trato digestivo dos insetos é dividido em intestino anterior, intestino médio e intestino posterior (Cavalcante & Cruz-Landim, 1999). Este é o primeiro órgão a entrar em contato com as moléculas tóxicas quando estes são expostos aos inseticidas via oral. As moléculas tóxicas precisam atravessar a barreira epitelial para chegarem à hemolinfa e atingir os órgãos alvos (Denecke et al., 2018). O intestino médio tem como principal função a digestão e a absorção dos alimentos, além do processo de desintoxicação, com produção de enzimas digestivas (Terra & Ferreira, 2020) e detoxificantes com glutathione-S-transferases, citocromos P450 e carboxilestases envolvidas no metabolismo dos inseticidas (Feyereisen, 1999; Li et al., 2007; Meech et al., 2012).

Os inseticidas ingeridos interagem com as células epiteliais do intestino médio podendo levar a degeneração celular como descrito para *Alabama argillacea* (Sousa et al., 2010) e *Plutella xylostella* (Ribeiro et al., 2013), *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Fiaz et al. 2019), *Anticarsia gemmatalis* (Plata-Rueda et al., 2020; Castro

et al., 2019), *Spodoptera frugiperda* (Vinha et al. 2021). Danos similares a estes ocorreram no intestino de *A. gemmatalis* exposta ao clorantraniliprole, uma diamida antranílica, que causou mudanças histológicas e ultraestruturais severas com degeneração do epitélio do intestino médio (Castro et al., 2019; 2021). Os inseticidas também causam efeitos subletais em órgãos não-alvos de insetos benéficos como polinizadores (Catae et al., 2014, Arthidoro de Castro et al., 2020; Carneiro et al., 2020; Farder-Gomes et al. 2021a; 2021b; Serra et al. 2021) e predadores (Santos-Júnior et al. 2019; Silva et al., 2020).

A exposição oral de inseticidas continua sendo uma das maneiras mais eficazes de controlar insetos pragas (Denecke et al., 2018), portanto, é importante entender também os efeitos subletais em órgão não-alvos como o intestino médio e como essas alterações nesse órgão afetam a fisiologia dos insetos (Fiaz et al., 2018b; Martínez et al., 2018). Portanto, este estudo avaliou a sobrevivência, toxicidade e os efeitos histopatológicos causados no intestino médio de *S. cosmioides* após a exposição oral ao inseticida flubendiamida, contribuindo com o desenvolvimento de novas alternativas de controle dessa praga.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Insetos

Indivíduos de *S. cosmioides* foram obtidos a partir de criação no Laboratório de Controle Biológico de Insetos da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, Minas Gerais, Brasil). Adultos de *S. cosmioides* foram colocados em gaiolas de policloreto de vinil forradas com folhas de papel A4 e coberta com tecido de organza. Estes insetos foram alimentados com solução líquida (água + 10% de mel + 5% de ácido ascórbico) oferecida em algodão embebido. Após a oviposição, os ovos foram coletados a cada dois dias e transferidos para recipientes plásticos (1000 mL).

Lagartas recém-eclodidas de *S. cosmioides* foram alimentadas com dieta artificial (Greene et al., 1976) e mantidas em $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $75 \pm 5\%$ de umidade relativa em potes de plásticos cobertos com organza. Lagartas de terceiro instar de *S. cosmioides* sem amputações ou malformações foram utilizadas em todos os tratamentos.

2.2. Teste de toxicidade

O inseticida flubendiamida (Belt® Bayer AG - Alte Heerstrasse, D-41538, Dormagen, Alemanha) 480 g L^{-1} foi diluído em água para obter uma solução de estoque, a partir da qual foram preparadas as seis diluições 7.5, 15, 30, 60, 120 e 240 mg L^{-1} para avaliar a toxicidade, construir as curvas de concentração-mortalidade e estimar as concentrações letais (CL_{25} , CL_{50} , CL_{75} e CL_{90}). Para cada diluição, $1 \mu\text{L}$ foi aplicado em 1 g de dieta artificial e fornecido para uma lagarta de *S. cosmioides* individualizada em placa de Petri (9 cm diâmetro). Trinta lagartas de *S. cosmioides* em triplicata foram usadas por diluição de flubendiamida ou controle e a mortalidade em cada tratamento foi avaliada por 72 h.

2.3. Análise de sobrevivência

A sobrevivência de *S. cosmioides* foi avaliada usando 30 lagartas para cada concentração de flubendiamida. O grupo tratado recebeu dieta artificial (1 g) com as concentrações estimadas CL_{25} , CL_{50} , CL_{75} e CL_{90} a partir do teste de toxicidade, enquanto o grupo controle recebeu apenas dieta artificial com água. As lagartas foram individualizadas em placas de Petri (9 cm diâmetro), com reposição diária do alimento sem inseticida e o número de lagartas vivas foi registrado a cada 12 h por três dias.

2.4. Histopatologia

Lagartas de *S. cosmioides* foram expostas a CL_{50} da flubendiamida ou água como controle. Cada lagarta foi individualizada em placa de Petri (9 cm dia.) e

alimentada com 1 g de dieta artificial contendo 1 μ L da CL₅₀ de inseticida ou controle até consumo de toda dieta, sendo, em seguida, coletadas 20 lagartas após 3 h, 6 h, 12 h, e 24 h. As lagartas, foram crioanestesiadas a -4°C por 5 minutos e o intestino médio dissecado em solução salina para insetos (NaCl 0,1M, KH₂PO₄ 0,2M, Na₂HPO₄ 0,2 M). Os intestinos médios foram divididos em porções: anterior, média e posterior e transferidos para solução fixadora de Zamboni (Stefanini et al., 1967) por 12 h a 5 °C. A seguir, as amostras foram desidratadas em série crescente de etanol (70, 80, 90 e 95%), embebidas em historesina Leica (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Heidelberg, Alemanha) e seccionadas a 3 μ m de espessura em Micrótomo RM2255 (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha). As secções foram coradas com hematoxilina e eosina e analisadas em microscópio de luz Leica DMLS (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha).

2.5. Análise estatística

As concentrações letais CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀ e seus limites de confiança foram determinados por regressão Probit gerando a curva dose-resposta com o programa do SAS (v.9.0) para Windows. O bioensaio de sobrevivência foi submetido à análise de sobrevivência utilizando o estimador Kaplan-Meier (método Log-rank) com o programa Origin Pro (v.9.0) (OriginLab Corporation, Northampom, MA, USA). As lagartas sobreviventes até o final do experimento e pupas emergidas foram tratadas como dados censurados.

3. RESULTADOS

3.1. Toxicidade

O modelo de concentração–mortalidade utilizado foi adequado ($\chi^2 = 2,18$ $P > 0,05$), confirmando a toxicidade [CL₅₀ = 3,49 (3,02 – 3,96) mg L⁻¹] da flubendiamida

para lagartas de terceiro instar de *S. cosmioides* e permitindo as estimativas das concentrações letais (Tabela 1). A mortalidade foi < 1% no controle.

3.2. Sobrevivência

A análise de sobrevivência de lagartas de *S. cosmioides* alimentadas com flubendiamida revelou diferenças entre as concentrações letais ($\chi^2 = 2,18$ df = 4, $P < 0,001$) (Figura 1). Após 72 h, a sobrevivência diminuiu de 80,82% no controle, para 41,43%, 39,76%, 31,76%, e 21,53% com as CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀ de flubendiamida, respectivamente.

Tabela 1. Concentrações letais da flubendiamida para lagartas de *Spodoptera cosmioides* após 72 horas de exposição obtida pela análise probit (g.l. = 5, Slope \pm SE = 3,608 \pm 0,30, intercepto = 1,960).

No. Insetos	Concentrações letais	Concentração estimada (mg L ⁻¹)	95% limite de confiança (mg L ⁻¹)	χ^2 (valor <i>P</i>)
90	CL ₂₅	2,292	1,781 – 2,695	2,18 (0,82)
90	CL ₅₀	3,490	3,021 – 3,967	
90	CL ₇₅	5,315	4,628 – 6,463	
90	CL ₉₀	8,095	6,622 – 11,27	

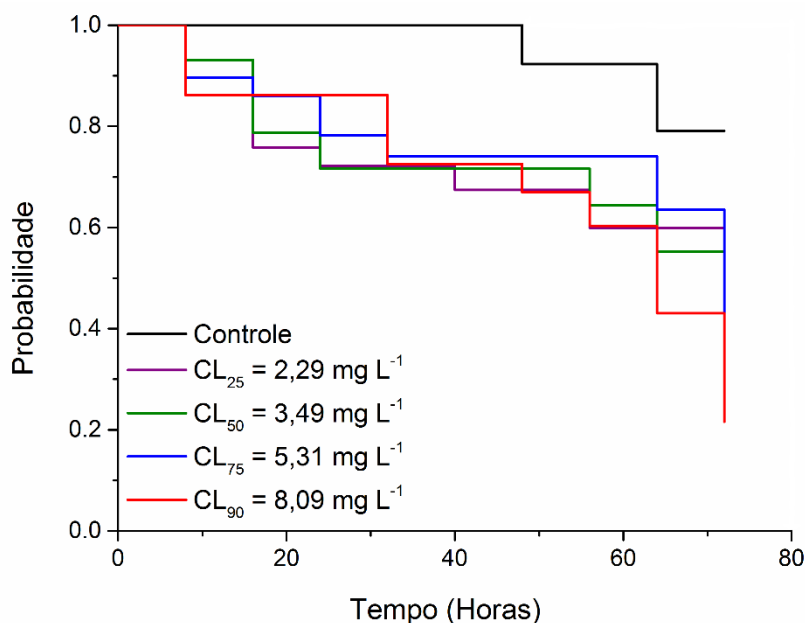


Fig. 1. Curvas de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera cosmioides* expostas a diferentes concentrações letais da flubendiamida estimadas pela análise de sobrevivência usando o estimador Kaplan-Meier (Teste de log-rank $\chi^2 = 2,18$; $P < 0.001$).

3.3. Histopatologia

As três porções, anterior, média e posterior do intestino médio das lagartas controle de *S. cosmioides* mostraram uma camada epitelial única com células digestivas colunares, células caliciformes e alguns ninhos de células regenerativas na base do epitélio, todas sem diferenças morfológicas entre as porções do órgão (Fig. 2). As células digestivas apresentaram núcleo esférico ou alongado com cromatina descondensada e citoplasma contendo alguns vacúolos (Fig. 2A-C). A região apical das células digestivas tinha uma borda estriada bem desenvolvida (Fig. 2B). As células caliciformes foram caracterizadas por uma ampla cavidade com borda estriada e núcleo basal (Fig. 2).

Alterações histopatológicas no intestino médio de *S. cosmioides* foram observadas em larvas tratadas com a CL₅₀ do inseticida flubendiamida em todos os

tempos testados. Com 3 h de exposição, as lagartas mostraram as células digestivas com aumento na vacuolização citoplasmática, nas três porções do intestino médio (Fig. 3A-3C) e alguns núcleos com aumento na condensação da cromatina nas porções anterior (Fig. 3A) e mediana (Fig. 3B), e núcleos picnóticos, caracterizados pela alta condensação da cromatina, na porção posterior (Fig. 3C).

Após 6 h de alimentação com o flubendiamida, as três porções do intestino apresentaram aumento na vacuolização citoplasmática, o epitélio também estava irregular com danos na borda estriada das células digestivas e caliciformes (Fig. 3D-3F). Houve também um aumento na condensação da cromatina na porção média (Fig. 3E) e núcleos picnóticos na porção posterior do intestino médio (Fig. 3F).

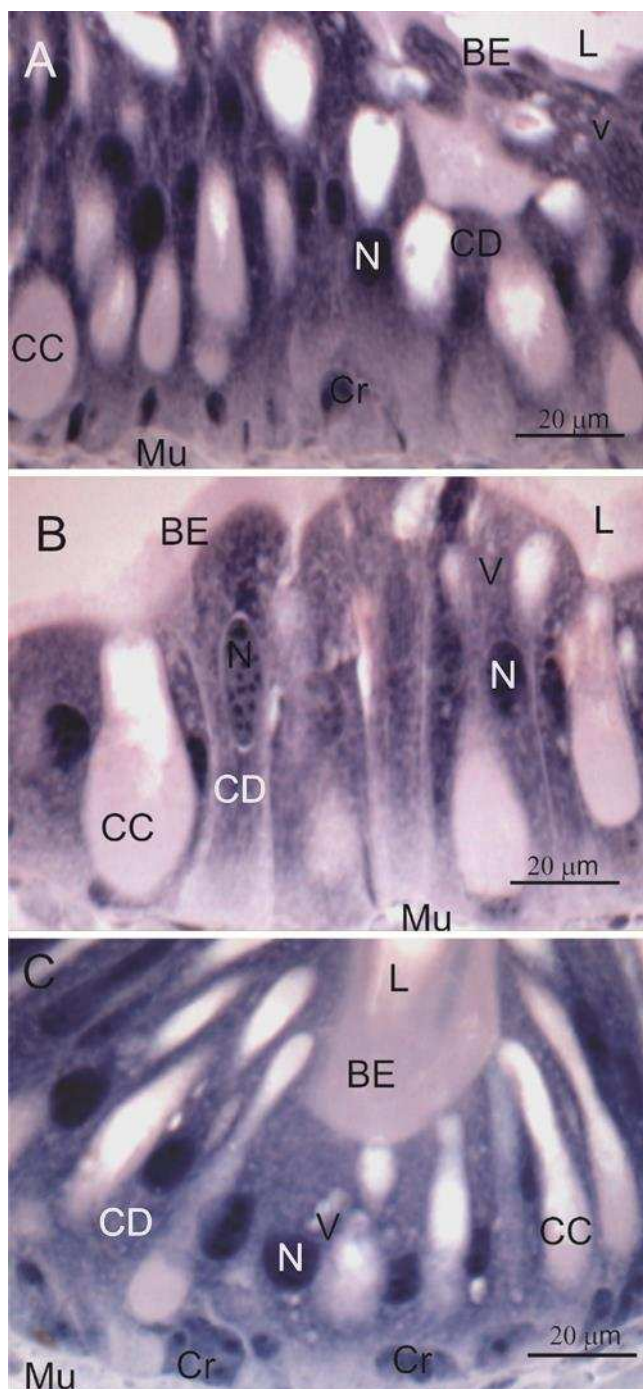


Fig. 2. Micrografias de luz do intestino médio de *Spodoptera cosmioides*. A) porção anterior mostrando o epitélio intestinal com células digestivas colunares (CD) com borda estriada (BE) apical bem desenvolvida, citoplasma com alguns vacúolos (V), núcleo oval (N), células caliciformes (CC) com cavidade contendo borda estriada e células regenerativas (Cr). B) Porção mediana do intestino médio mostrando células digestivas colunares (CD) com borda estriada (BE) evidente, vacúolos (V) e núcleo (N) com cromatina descondensada, células caliciformes (CC) com cavidade com borda estriada e núcleo mediano (N). C) Porção posterior do intestino médio com células digestivas (CD), caliciformes (CC) e regenerativas (Cr) similares às daquelas das demais porções. L= lúmen, Mu = músculo.

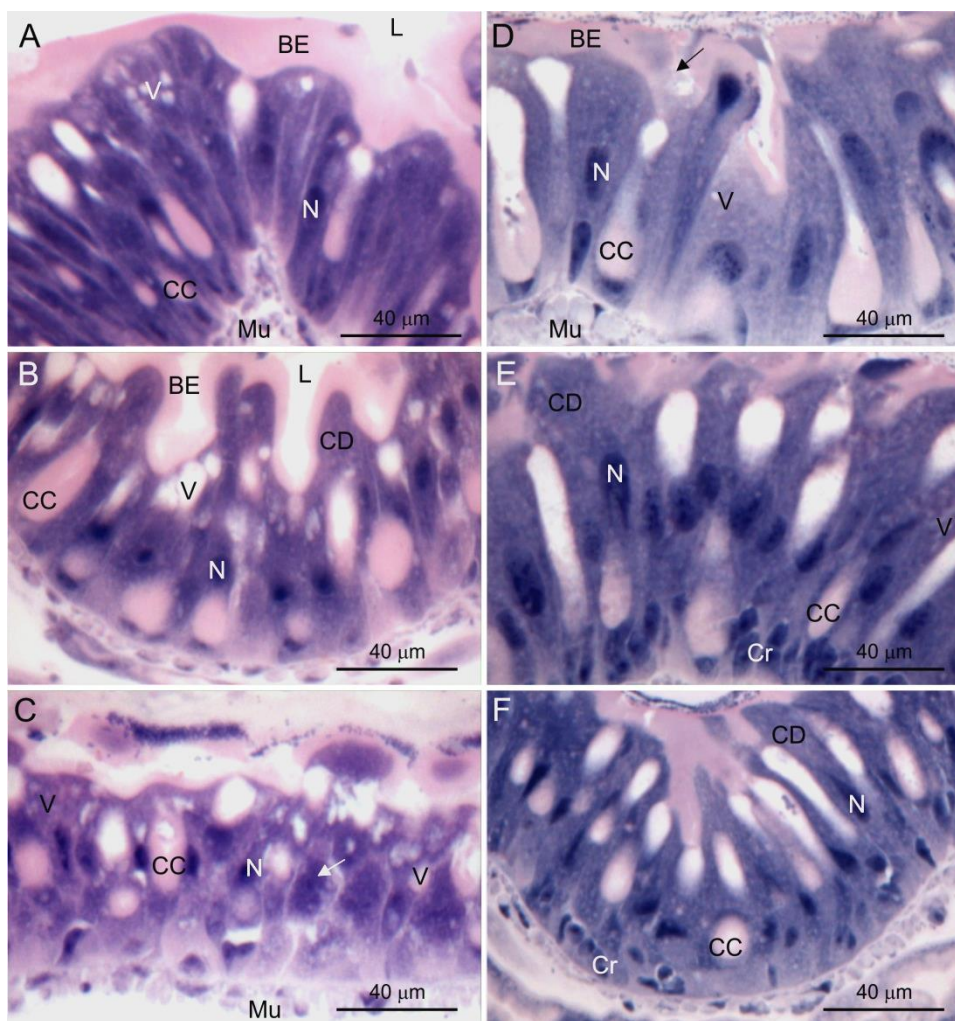


Fig. 3. Micrografias de luz do intestino médio de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com dieta contendo CL₅₀ do inseticida flubendiamida por 3 h (A-C) e 6 h (D-F). A) porção anterior com aumento da vacuolização citoplasmática (V), núcleos (N) das células digestivas (CD) com cromatina condensada. B) porção mediana do intestino médio mostrando células digestivas (CD) com aumento na vacuolização citoplasmática (V), núcleos (N) com cromatina condensada, células caliciformes (CC) apresentando borda estriada (BE) começando a se desestruturar e com núcleos (N) com cromatina condensada. C) porção posterior com aumento da vacuolização citoplasmática (V) e os núcleos (N) das células digestivas (CD) apresentando cromatina condensada, desestruturação da borda estriada (BE) (seta preta), e desorganização das células caliciformes com desestruturação da borda estriada. Tratamento com 6 h de exposição a CL₅₀ de flubendiamida. D) Porção anterior mostrando epitélio irregular com células digestivas (CD) com início de desestruturação (seta preta) da borda estriada (BE). E) Porção mediana do intestino médio mostrando células digestivas (CD) apresentando núcleos (N) com a cromatina condensada, desestruturação da borda estriada (BE), células caliciformes (CC) com cavidade e borda estriada desestruturada e células regenerativas (Cr). F) Porção posterior do intestino médio mostrando células digestivas (CD) com borda estriada (BE) desestruturada, aumento de vacúolos no citoplasma (V), núcleo (N) com a cromatina condensada, células caliciformes (CC) com borda estriada desorganizada e células regenerativas (Cr). Todas as porções apresentaram L= lúmen, Mu= músculo e algumas porções apresentaram Cr = células regenerativas.

Nas lagartas de *S. cosmioides* expostas a CL₅₀ de flubendiamida por 12 h ocorreu intensa vacuolização nas células digestivas nas três regiões do intestino médio (Figs. 4 A-C), com presença de núcleos picnóticos nas células digestivas e calciformes (Figs. 4 A-C). Nas porções mediana e posterior algumas células apresentaram fragmentação dos ápices celulares que foram liberados para ao lúmen (Fig. 4B, 4C).

Nas lagartas expostas a flubendiamida por 24 h, ocorreu vacuolização citoplasmática, desestruturação da borda estriada e muitas células digestivas e calciformes com núcleos picnóticos nas três porções do intestino médio (Fig. 4 D-F). Nessas três porções, fragmentos de células, alguns contendo núcleo, foram eliminados para o lúmen (Figs. 4 E-F).

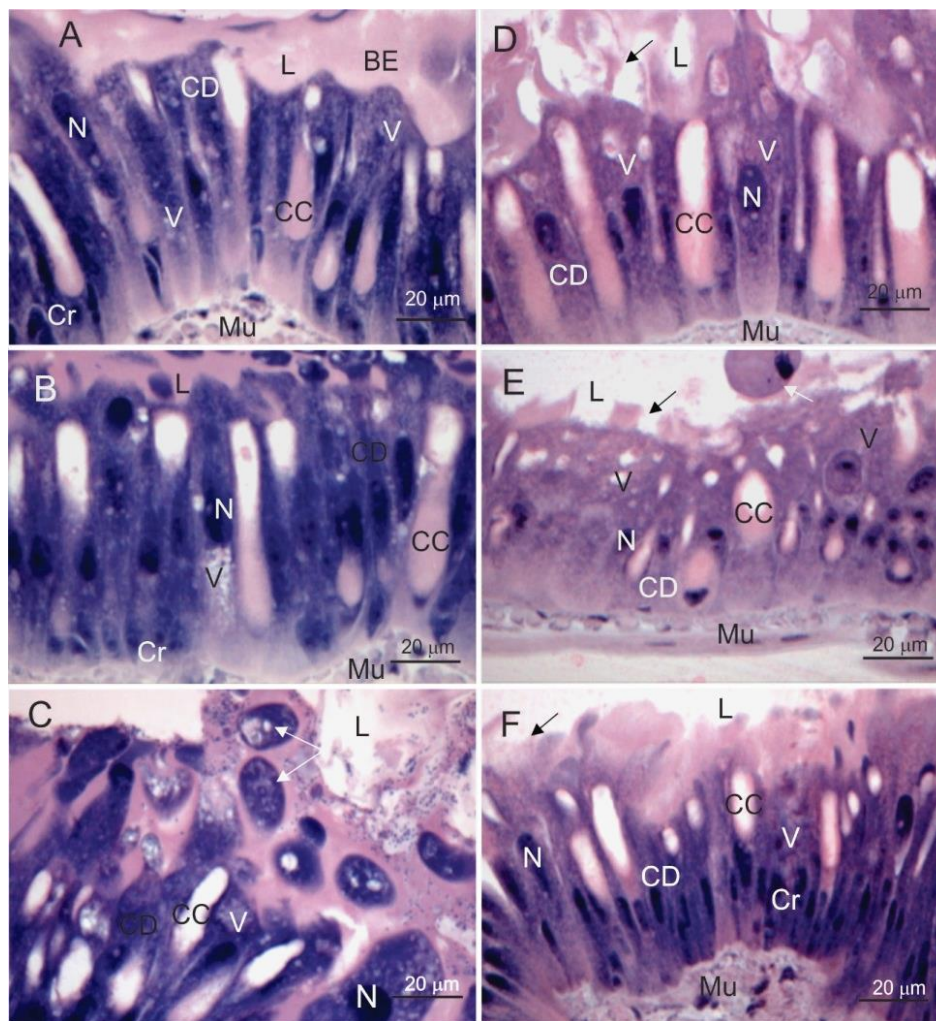


Fig. 4. Micrografias de luz do intestino médio de *Spodoptera cosmioides* alimentadas com a dieta contendo CL₅₀ do inseticida flubendiamida por 12 h (A-C) e 24 h (E-F). A) porção anterior mostrando o epitélio intestinal com células digestivas colunares (CD) com aumento da vacuolização citoplasmática (V) núcleos (N) das células digestivas (CD) com cromatina condensada. B) porção mediana do intestino médio com aumento na vacuolização (V), núcleos (N) com a cromatina condensada, liberação de fragmentos celulares para o lúmen (Fig. 4B-C) C) porção posterior com aumento da vacuolização citoplasmática (V) e núcleos (N) das células digestivas apresentando cromatina condensada, desestruturação da borda estriada (BE) e com fragmentação do ápice das células digestivas (setas brancas) liberadas em direção ao lúmen (L), além de apresentar núcleos com cromatina condensada também. D) Tratamento após 24 h de exposição a CL₅₀ de flubendiamida A) porção anterior do intestino médio com o epitélio das células digestivas (CD) com aumento na vacuolização citoplasmática, desestruturação da borda estriada (BE) (seta preta) e núcleos (N) com cromatina condensada. E) Porção mediana mostrando o epitélio das células digestivas colunares com vacúolos maiores e núcleo com cromatina condensada, células digestivas colunares com borda estriada desestruturada (seta preta) e liberação de fragmentos celulares para o lúmen (seta branca). F) Porção posterior mostrando o epitélio das células digestivas colunares (CD) com aumento na vacuolização e núcleos (N) com cromatina condensada, além da desestruturação da borda estriada (seta preta). Todas as porções apresentaram L= lúmen, Mu= músculo e algumas porções apresentaram Cr = células regenerativas.

4. DISCUSSÃO

O flubendiamida foi descoberto como uma nova classe de inseticida com uma estrutura química única (Tohnishi et al. 2005). Este inseticida tem mostrado excelente atividade contra um amplo espectro de insetos lepidópteros (Kuss et al., 2016; Kamimuro et al., 2019) os sintomas do flubendiamida são diferentes daqueles dos inseticidas comerciais e não tem resistência cruzada (Tohnishi et al. 2005). Aqui, nós estudamos pela primeira vez os efeitos do flubendiamida sobre a sobrevivência, histologia do intestino e toxicidade deste composto mediante administração oral no inseto praga *S. cosmíodes*. Foi demonstrado redução significativa da sobrevivência dos indivíduos quando expostos às diversas concentrações do inseticida. Além disso, causou danos histopatológicos no epitélio do intestino médio de *S. cosmíodes*.

A letalidade determinada da flubendiamida em *S. cosmíodes* ($CL_{50} = 3,490 \text{ mg L}^{-1}$ e $CL_{90} = 8,095,14 \text{ mg L}^{-1}$) foi maior que a registrada por outros estudos de insetos pragas como *Helicoverpa armigera* Hübner (Noctuidae) (Kuss et al., 2016) e *Caloptilia theivora* Walsingham (Lepidoptera: Gracillariidae) (Kamimuro et al., 2019); confirmando a eficácia em baixas concentrações da flubendiamida, com efeito letal dentro de 72 horas após exposição por ingestão.

Neste estudo, os efeitos letais e subletais com diferentes concentrações de flubendiamida observadas em *S. cosmíodes* foram consistentes com os efeitos de outro inseticida do mesmo grupo que o flubendiamida. O clorantraniliprole, uma diamida antranílica, que induziu mudanças no ciclo de vida de *S. cosmíodes* após 48 horas de exposição (Lutz et al., 2018) e efeitos letais em outras pragas (Adams et al., 2016; Deshmukh et al., 2020; Barros et al., 2020).

O flubendiamida é tóxico via ingestão para lagartas de *S. cosmiodes* e a mortalidade aumenta de maneira dependente da concentração; este resultado também foi observado em outros estudos de pragas Lepidoptera como *Chilo suppressalis* (Crambidae) (Wu et al., 2014), *Helicoverpa armigera* (Sattar et al., 2017) e *Leucinodes orbonalis* (Pyralidae) (Latif et al., 2010). Assim, este trabalho corrobora que a flubendiamida é tóxica para *S. cosmiodes* e são necessárias quantidades mínimas do inseticida para induzir alterações no intestino médio deste inseto.

O flubendiamida afeta o equilíbrio de íons cálcio dos insetos agindo sobre o receptor de rianodina (canais intracelulares de Ca^{2+}), mas, além disso, ele causa danos em outros órgãos quando em contato com essa substância, como o intestino médio dos insetos após ser ingerido (Denecke et al., 2018). Este estudo mostra que a exposição de *S. cosmiodes* ao flubendiamida causa a ocorrência de várias alterações histopatológicas no intestino médio. As lagartas sobreviventes expostas a CL_{50} de flubendiamida tiveram alterações no intestino médio a partir de 3 horas de alimentação, caracterizadas pelo aumento da vacuolização citoplasmática e a condensação da cromatina nos núcleos, sugerindo degeneração celular. O aumento na vacuolização citoplasmática é uma possível resposta de desintoxicação (Martínez et al., 2018, Santos Junior et al., 2019), indicando autofagia. A autofagia tem função citoprotetora e em casos de estresse, pode melhorar a sobrevivência celular (Moreau et al., 2010).

Lagartas de *S. cosmiodes* alimentadas com a CL_{50} de flubendiamida por três e seis horas apresentaram danos no epitélio na porção posterior do intestino médio com desorganização da borda estriada nas células digestivas e caliciformes. Alterações histopatológicas similares ocorreram no intestino médio de *A. gemmatalis*

expostas ao clorantraniliprole, incluindo a degeneração da borda estriada nas células caliciformes (Castro et al., 2019). A borda estriada apical do epitélio do intestino médio é uma adaptação para o aumento da superfície secretora e absorptiva (Lehane e Billingsley, 1996; Serrão e Cruz-Landim, 1996). Danos nesta estrutura compromete o processo de digestão e absorção de alimentos nos insetos.

Nas células caliciformes, danos na borda estriada, podem comprometer a homeostase iônica e a absorção de nutrientes, além de prejudicar os mecanismos de desintoxicação fisiológica e reduzir o movimento do bolo alimentar nas larvas de *S. cosmioides*. A desorganização das células caliciformes também foi relatada em *Anticarsia gemmatalis* exposta a tebufenozide (Fiaz et al., 2018a) e clorantraniliprole (Castro et al., 2019), indicando que esse tipo de célula pode ser um alvo secundário de vários inseticidas, como foi para a flubendiamida em *S. cosmioides*.

Aumentando o tempo de exposição de *S. cosmioides* ao flubendiamida para 12 e 24 horas ocorreu aumento na vacuolização citoplasmática, condensação da cromatina nuclear e fragmentação do ápice das células digestivas que foram lançadas no lúmen, evidenciando a degeneração celular. Estas são características de tecidos expostos a compostos tóxicos como descrito para *A. gemmatalis* (Fiaz et al., 2018) *A. argillacea* (Sousa et al., 2010) e *P. xylostella* (Ribeiro et al., 2013). A intensa vacuolização citoplasmática, principalmente no tempo de exposição de 24 h nas porções anterior e média do intestino médio de *S. cosmioides* sugere que, por essas regiões serem as primeiras a absorverem o inseticida, estas podem sofrer lesões celulares mais precoces e este dano pode indicar um estágio inicial de degradação autofágica dos componentes celulares danificados em resposta ao estresse causado pelo inseticida (Clarke, 1990, Lockshin e Zakeri, 2004), que também pode indicar um turnover com a retirada de estruturas danificadas tentando

uma recuperação. A eliminação de fragmentos celulares para o lúmen do intestino médio é uma resposta fisiológica comumente observada em insetos (Chapman, 1998; Lehane e Billingsley, 1996) as quais podem estar envolvidas na renovação do conteúdo citoplasmático (Cruz-Landim et al., 1996) ou de morte celular por apoptose (Rost-Roszkowska, 2008; Tettamanti et al., 2007; Azevedo et al., 2009). Essa eliminação de fragmentos pode diminuir a capacidade digestiva de *S. cosmioides* como observado para *H. armigera* (Barbeta et al., 2008)

A condensação da cromatina dos núcleos celulares do intestino médio em *S. cosmioides* expostas ao flubendiamida com início a partir de três horas de exposição é uma alteração morfológica característica de células em apoptose. Nos insetos, a apoptose está relacionada à reorganização tecidual que ocorre durante a metamorfose (Santos et al. 2015, Gonçalves et al. 2017; 2018), mas também está ligada a estressores ambientais como inseticidas ou herbicidas (Daniel et al., 2014), que pode ser o caso de *S. cosmioides*, devido à exposição a flubendiamida.

Os maiores danos histopatológicos causados pelo inseticida flubendiamida neste inseto, foram no tempo de 12h e 24h. Como o flubendiamida é um inseticida de ingestão e de modo de ação lenta, a morte do inseto pode ser retardada entre 4 a 5 dias, mas os efeitos podem ser imediatos a ingestão deste composto, como a letargia e cessação da alimentação (Hanning et al., 2009) e o início da degeneração celular do intestino médio como encontrado neste estudo. Essa ação lenta do inseticida flubendiamida também foi relatada para *Itame argillacearia* Packard (Lepidoptera: Geometridae) (Ramanaidu et al., 2011).

Os resultados aqui obtidos mostram que o flubendiamida é letal e causa danos histopatológicos no epitélio do intestino médio de *S. cosmioides*. A exposição via oral de lagartas de *S. cosmioides* a esse produto químico induziu alterações

histopatológicas tanto nas células digestivas e caliciformes, com intensa vacuolização, picnose nuclear e degeneração da borda estriada que pode interferir na função intestinal e prejudicar os mecanismos de desintoxicação, digestão e absorção destes insetos. Considerando o seu modo de ação sobre *S. cosmioides*, o flubendiamida pode ser uma fonte potencial como composto inseticida utilizado no controle de populações desta praga.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, A., GORE, J., CATCHOT, A., MUSSER, F., COOK, D., KRISHNAN, N., & IRBY, T. (2016). Susceptibility of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) neonates to diamide insecticides in the midsouthern and southeastern United States. *Journal of Economic Entomology*, 109(5), 2205-2209.
- AGROFIT. (2021) Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 15/06/2021.
- AGROFIT. (2020) Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/BELT_2910_19.pdf Acesso em 10/06/2020.
- ARTHIDORO DE CASTRO, M.B., MARTÍNEZ, L.C., SERRA, R.S., COSSOLIN, J.F.S., SERRAO, J.E., (2020). Cytotoxic effects on the midgut, hypopharyngeal, glands and brain of *Apis mellifera* honey bee workers exposed to chronic concentrations of lambda cyhalothrin. *Chemosphere* 248, 126075
- AZEVEDO, D.O., NEVES, C.A. SANTOS-MALLET, J.R., GONÇALVES, T.C.M., ZANUNCIO, J.C. & SERRÃO, J.E. (2009) Notes on midgut ultrastructure of *Cimex hemipterus* (Hemiptera: Cimicidae). *Journal Medical Entomology*. 46, 435–441.
- BARBETA, B.L., MARSHAL, A.T., GILLON, A., CRAIK, D.J. & MARLYN, A.A. (2008) Plant cyclotides disrupt epithelial cell in the midgut of Lepidoptera larvae. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 105, 1221–1225.
- BARROS, L. S., YAMAMOTO, P. T., MERTEN, P., & NARANJO, S. E. (2020). Sublethal Effects of Diamide Insecticides on Development and Flight

- Performance of *Chloridea virescens* (Lepidoptera: Noctuidae): Implications for Bt Soybean Refuge Area Management. *Insects*, 11(5), 269.
- CAVALCANTE, V. M.; CRUZ-LANDIM, C. (1999) Types of cells present in the midgut of the insects: a review. *Naturalia - São Paulo*, v. 24, p. 19-40.
- CARNEIRO, L. S., MARTÍNEZ, L. C., GONÇALVES, W. G., SANTANA, L. M., & SERRÃO, J. E. (2020). The fungicide iprodione affects midgut cells of non-target honey bee *Apis mellifera* workers. *Ecotoxicology and environmental safety*, 189, 109991.
- CATAE, A.F., ROAT, T.C., OLIVEIRA, R.A., NOCELLI, R.C.F. & MALASPINA, O. (2014) Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Microscopy Research & Technique* 77, 274–281.
- CHAPMAN, R.F. (1998) *The insects: structure and function*, 4th edn. Harvard University Press, Cambridge, 770 p.
- CLARKE, PETER GH. (1990) Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anatomy and Embryology*, v. 181, n. 3, p. 195-213.
- CRUZ-LANDIM, C., SERRÃO, J.E. & SILVA DE MORAES, R.L.M. (1996) Cytoplasmic protrusions from digestive cells of bees. *Cytobios* 88, 95–104.
- DA SILVA, D. M., DE FREITAS BUENO, A., DOS SANTOS STECCA, C., ANDRADE, K., NEVES, P. M. O. J., & DE OLIVEIRA, M. C. N. (2017). Biology of *Spodoptera eridania* and *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) on different host plants. *Florida Entomologist*, 100(4), 752-760.
- DANIEL, A. G.; PETERSON, E. J.; FARRELL, D. R. N. P. (2014) The bioinorganic chemistry of apoptosis: potential inhibitory zinc binding sites in caspase-3. *A Journal of the German Chemical Society.*, v. 126, n. 16, p. 4182.
- DENECKE, S., SWEVERS, L., DOURIS, V., & VONTAS, J. (2018) How do oral insecticidal compounds cross the insect midgut epithelium? *Insect biochemistry and molecular biology*.
- DESHMUKH, SHARANABASAPPA, PAVITHRA, H. B., KALLESHWARASWAMY, C. M., SHIVANNA, B. K., MARUTHI, M. S., ET AL. (2020). Field Efficacy of Insecticides for Management of Invasive Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on Maize in India. *Florida Entomologist*, 103(2): 221-227.

- DIEZ-RODRIGUEZ, G. I., & OMOTO, C. (2001). Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. *Neotropical Entomology*, 30, 331– 316.
- DOS SANTOS, C.F., OTESBELGUE, A. & BLOCHTEIN, B. (2018). The dilemma of agricultural pollination in Brazil: beekeeping growth and insecticide use. *PloS One*, 13, e0200286
- SANTOS-JUNIOR, V. C., MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., BOZDOĞAN, H., ZANUNCIO, J. C., & SERRÃO, J. E. (2019). Exposure to spinosad induces histopathological and cytotoxic effects on the salivary complex of the non-target predator *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere*, 225, 688-695.
- CASTRO, B. M. D. C., MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., SOARES, M. A., DE SOUZA TAVARES, W., SERRÃO, J. E., & ZANUNCIO, J. C. (2019). Chlorantraniliprole degenerates microvilli goblet cells of the *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) midgut. *Chemosphere*, 229, 525-528.
- CASTRO, B. M. D. C., MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., SOARES, M. A., WILCKEN, C. F., ZANUNCIO, A. J. V., ... & SERRÃO, J. E. (2021). Exposure to chlorantraniliprole reduces locomotion, respiration, and causes histological changes in the midgut of velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemosphere*, 263, 128008.
- FARDER-GOMES, C.F., FERNANDES, K.M., BERNARDES, R.C., BASTOS, D.S.S., MARTINS, G.F., SERRÃO, J.E., (2021a). Acute exposure to fipronil induces oxidative stress, apoptosis and impairs epithelial homeostasis in the midgut of the stingless bee *Partamona helleri friese* (Hymenoptera: Apidae). *Science of Total Environmental* 774, 145679.
- FARDER-GOMES, C.; SARAVANAN, M.; MARTÍNEZ, L.C.; PLATA-RUEDA, A.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E., (2021b) Azadirachtin affects the respiration and digestion in *Anticarsia gemmatalis* caterpillars. *Toxin Reviews* 1-10.
- FEYEREISEN, R. (1999) Insect P450 enzymes. *Annual Review of Entomology*, 44, 507-533.
- FAZ, M., MARTÍNEZ, L. C., DA SILVA COSTA, M., COSSOLIN, J. F. S., PLATA-RUEDA, A., GONÇALVES, W. G., ... & SERRÃO, J. E. (2018). Squamocin induce histological and ultrastructural changes in the midgut cells of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecotoxicology and environmental safety*, 156, 1-8.

- FAIAZ, M., MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., GONÇALVES, W. G., SHAREEF, M., ZANUNCIO, J. C., & SERRÃO, J. E. (2018). Toxicological and morphological effects of tebufenozide on *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Chemosphere*, 212, 337-345.
- FAIAZ, M., MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., GONÇALVES, W. G., DE SOUZA, D., COSSOLIN, J., CARVALHO, P., MARTINS, G. F., & SERRÃO, J. E. (2019). Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. *PeerJ*, 7, e7489.
- GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R. P., BAPTISTA, G. C. D., BERTI FILHO, E., & MARCHINI, L. C. (2002) *Entomologia agrícola*. Ed. FEALQ, Piracicaba, São Paulo.
- GONÇALVES, W.G., FERNANDES, K.M., SANTANA, W.C., MARTINS, G.F. AND SERRÃO, J.E. (2018) Post-embryonic development of the Malpighian tubules in *Apis mellifera* (Hymenoptera) workers: morphology, remodeling, apoptosis, and cell proliferation. *Protoplasma* 255, 585-599.
- GONÇALVES, W.G., FERNANDES, K.M., SANTANA, W.C., MARTINS, G.F., ZANUNCIO, J.C. AND SERRÃO, J.E. (2017) Post-embryonic changes in the hindgut of honeybee *Apis mellifera* workers: Morphology, cuticle deposition, apoptosis, and cell proliferation. *Developmental Biology* 431, 194-204.
- GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. (1976) Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, 69, 488–497.
- HANNING, G.T., ZIEGLER, M. & MARÇON, P.G. (2009) Feeding cessation effects of chlorantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, in comparison with several insecticides in distinct chemical classes and mode-of-action groups. *Pest Management Science*, 65, 969–974.
- IBAMA. (2021) Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Relatório de Comercialização de Agrotóxicos. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/relatorios/quimicos-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>>. Acesso em: 20 junho 2021.
- KAHL M & KLEISINGER G, (2016) *Spodoptera cosmioides*, commonly known as the "red-billed caterpillar" or "large military caterpillar", is found more frequently in production fields of our region. *Serie de Extensión. INTA Paraná Nro. 78*, 1-8.

- KAMIMURO, T., HIGASHITARUMIZU, S., FUKUDA, T., SUENAGA, H., & NOMURA, M. (2019). Effects of direct or indirect treatment with insecticides on adult tea leafroller, *Caloptilia theivora* (Lepidoptera: Gracillariidae), and its progeny. *Applied Entomology and Zoology*, 54(4), 377-387.
- KATO, T., MANOHA, S. L., TANAKA, S., & PARK, E. Y. (2009) High-titer preparation of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) displaying recombinant protein in silkworm larvae by size exclusion chromatography and its characterization. *BMC Biotechnology*, 9(1), 55.
- KUSS, C. C., ROGGIA, R. C. R. K., BASSO, C. J., OLIVEIRA, M. C. N. D., PIAS, O. H. D. C., & ROGGIA, S. (2016). Controle de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) em soja com inseticidas químicos e biológicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(5), 527-536.
- LATIF, M. A., RAHMAN, M. M., & ALAM, M. Z. (2010). Efficacy of nine insecticides against shoot and fruit borer, *Leucinodes orbonalis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae) in eggplant. *Journal of Pest Science*, 83(4), 391-397.
- LEHANE, M.J., BILLINGSLEY, P.F. (1996) The biology of the insect midgut. Chapman & Hall, London. xvi 486 pp. Hard cover £50.00. ISBN 412 61670X. *Bulletin of Entomological Research*, 87(4), 441-442.
- LI, X., SCHULER, M.A., BERENBAUM, M.R., (2007). Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology*, 52, 231- 253.
- LOCKSHIN, RICHARD A.; ZAKERI, ZAHRA. (2004) Apoptosis, autophagy, and more. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36 (12), 2405-2419.
- LUTZ, A. L., BERTOLACCINI, I., SCOTTA, R. R., CURIS, M. C., FAVARO, M. A., FERNANDEZ, L. N., & SÁNCHEZ, D. E. (2018). Lethal and sublethal effects of chlorantraniliprole on *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*, 74(12), 2817-2821.
- MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., NEVES, G., GONÇALVES, W. G., ZANUNCIO, J. C., BOZDOĞAN, H., & SERRÃO, J. E. (2018). Permethrin induces histological and cytological changes in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere*, 212, 629–637.
- MASAKI, T., YASOKAWA, N., TOHNISHI, M., NISHIMATSU, T., TSUBATA, K., INOUE, K., ... & HIROOKA, T. (2006). Flubendiamide, a novel Ca²⁺ channel

- modulator, reveals evidence for functional cooperation between Ca²⁺ pumps and Ca²⁺ release. *Molecular Pharmacology*, 69(5), 1733-1739.
- MEECH, R., MINERS, J. O., LEWIS, B. C., & MACKENZIE, P. I. (2012) The glycosidation of xenobiotics and endogenous compounds: versatility and redundancy in the UDP glycosyltransferase superfamily. *Pharmacology & Therapeutics*, 134(2), 200-218.
- MOREAU, K., LUO, S., RUBINSZTEIN, D.C., (2010). Cytoprotective roles for autophagy. *Current Opinion in Cell Biology* 22, 206–211.
- MOSCARDI, F., BUENO, A. D. F., SOSA-GÓMEZ, D. R., ROGGIA, S., HOFFMANN-CAMPO, C. B., POMARI, A. F., ... & YANO, S. A. C. (2012). Artrópodes que atacam as folhas da soja. *Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga*, Embrapa Soja. 213-309.
- ORIGINLAB CORPORATION. (2013). OriginPro v. 9.0.0 SR2 b87. Originlab Corporation. Northampton, MA: Originlab Corporation (<http://www.OriginLab.com>).
- PAPA, G. (2002) Manejo integrado de pragas. In: PAPA, G. O que engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários. Ilha Solteira: UNESP, p. 203-231.
- PLATA-RUEDA, A. et al. (2020) Side-effects caused by chlorpyrifos in the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemosphere*, 259, 127530.
- POGUE, G. M. (2002) A world revision of the genus *Spodoptera* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). *Memoirs of the American Entomological Society*, 43: 1-202.
- RAMANAIDU, K., HARDMAN, J. M., PERCIVAL, D. C., & CUTLER, G. C. (2011). Laboratory and field susceptibility of blueberry spanworm (Lepidoptera: Geometridae) to conventional and reduced-risk insecticides. *Crop Protection*, 30(12), 1643-1648.
- RIBEIRO, L.M.S., WANDERLEY-TEIXEIRA, V., SIQUEIRA, H.A.A., OLIVEIRA, A.C.B., LEMOS, A.J.J.M. & TEIXEIRA, A.A.C. (2013) Midgut histopathology of resistant and susceptible *Plutella xylostella* exposed to commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. *Bulletin of Insectology*, 66, 161–17.
- ROST-ROSZKOWSKA, M. M., POPRAWA, I., KLAG, J., MIGULA, P., MESJASZ-PRZYBYŁOWICZ, J., & PRZYBYŁOWICZ, W. (2008). Degeneration of the

- midgut epithelium in *Epilachna cf. nylanderi* (Insecta, Coccinellidae): apoptosis, autophagy, and necrosis. *Canadian Journal of Zoology*, 86(10), 1179-1188.
- SANTOS, D.E., AZEVEDO, D.O., CAMPOS, L.A.O., ZANUNCIO, J.C. AND SERRÃO, J.E. (2015) *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) fat body persists through metamorphosis with a few apoptotic cells and an increased autophagy. *Protoplasma*, 252, 619-627.
- SAS INSTITUTE. (2002) SAS user's manual, version 9.1. Cary, NC: SAS Institute.
- SATTAR, S., NASEER, A., FARID, A., KHAN, S. A., & AHMAD, B. (2017). Dose-Response relationship of some insecticides with *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera; Noctuidae) under laboratory conditions. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(2), 513-518.
- SELBY, T. P., LAHM, G. P., STEVENSON, T. M., HUGHES, K. A., CORDOVA, D., ANNAN, I. B., BARRY, J. D., BENNER, E. A., CURRIE, M. J., & PAHUTSKI, T. F. (2013). Discovery of cyantraniliprole, a potent and selective anthranilic diamide ryanodine receptor activator with cross-spectrum insecticidal activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23(23), 6341–6345.
- SILVA, W.M.; MARTÍNEZ, L.C.; PLATA-RUEDA, A.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. (2020). Respiration, predatory and prey consumption by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs exposed some to insecticides. *Chemosphere*, 261, 127720
- SERRA, R. S., COSSOLIN, J., RESENDE, M., CASTRO, M. A., OLIVEIRA, A. H., MARTÍNEZ, L. C., & SERRÃO, J. E. (2021). Spiromesifen induces histopathological and cytotoxic changes in the midgut of the honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Chemosphere*, 270, 129439.
- SERRAO, JOSE EDUARDO; DA CRUZ-LANDIM, CARMINDA. (1996) A comparative study of digestive cells in different midgut regions of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). *Journal of Advanced Zoology*, v. 17, n. 1, p. 1-6.
- SOUSA, M.E.C., SANTOS, F.A.B., WANDERLEY-TEIXEIRA, V., TEIXEIRA, A.A.C., SIQUEIRA, H.A.A., ALVES, L.C. & TORRES, J.B. (2010) Histopathology and ultrastructure of midgut of *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) fed Bt-cotton. *Journal of Insect Physiology*. 56, 1913–1919.
- STEFANINI, M., MARTINO, C.D. & ZAMBONI, L. (1967) Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. *Nature* 216, 173–174.

- TERRA, W.R. AND FERREIRA, C. (2020) Evolutionary trends of digestion and absorption in the major insect orders. *Arthropod Structure & Development* 56: 100931.
- TETTAMANTI, G., GRIMALDI, A., CASARTELLI, M., AMBROSETTI, E., PONTI, B., CONGIU, T., FERRARESE, R., RIVAS-PENA, M.L., PENNACCHIO, F. & EGUILEOR, M. (2007) Programmed cell death and stem cell differentiation responsible for midgut replacement in *Heliothis virescens* during prepupal instar. *Cell and Tissue Research*, 330, 345–359.
- TOHNISHI, M., NAKAO, H., FURUYA, T., SEO, A., KODAMA, H., TSUBATA, K., & NISHIMATSU, T. (2005). Flubendiamide, a novel insecticide highly active against lepidopterous insect pests. *Journal of Pesticide Science*, 30(4), 354-360.
- TOHNISHI, M., NISHIMATSU, T., MOTOKA, K., HIROOKA, T., & SEO, A. (2010). Development of a novel insecticide, flubendiamide. *Journal of Pesticide Science*, 35, 490-491.
- VINHA, G.L., PLATA-RUEDA, A., SOARES, M.A., ZANUNCIO, J.C., SERRÃO, J.E., MARTÍNEZ, L.C., 2021. Deltamethrin-mediated effects on locomotion, respiration, feeding and histological changes in the midgut of *Spodoptera frugiperda* caterpillars. *Insects* 12:483.
- WU, M., ZHANG, S., YAO, R., WU, S., SU, J., & GAO, C. (2014). Susceptibility of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae), to flubendiamide in China. *Journal of economic entomology*, 107(3), 1250-1255

CAPÍTULO 2

Efeitos tóxicos causados pelo inseticida Lambda cialotrina no intestino médio da lagarta *Spodoptera cosmioides*

Resumo: Lagartas do gênero *Spodoptera*, são as principais pragas nas culturas da soja e do algodão. Entretanto, *S. cosmioides* apresenta injúrias mais severas que as demais lagartas, principalmente nestas culturas. O controle desta lagarta é comumente feito por inseticidas químicos. E apesar do Brasil ser um dos maiores consumidores de inseticidas, ainda há poucas opções de inseticidas registrados para o controle dessa praga. O lambda cialotrina é um inseticida piretróide utilizado no controle de amplo espectro de artópodes. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade e as alterações histopatológicas causadas pelo lambda cialotrina, no intestino médio de lagartas de *S. cosmioides*. A eficácia do inseticida foi determinada calculando os valores das concentrações letais (CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀) em laboratório. Lambda cialotrina foi tóxico para *S. cosmioides* (CL₅₀ = 23,03 mg L⁻¹ e CL₉₀ = 174,8 mg L⁻¹), com a taxa de sobrevivência após 72 h reduzida de 83,33% no controle, para 37,89%, 16,66%, 0%, e 0% com as CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀ de lambda cialotrina, respectivamente. Lambda cialotrina causou danos nas células do intestino médio como desorganização no epitélio, aumento na vacuolização citoplasmática, degeneração da borda estriada, condensação da cromatina nuclear e fragmentação de células, indicando morte celular por apoptose. Lambda cialotrina, inseticida neurotóxico causou danos ao intestino médio de *S. cosmioides* comprometendo a sua fisiologia e indicando que esse inseticida é eficaz contra esta praga, podendo ser usada no seu controle.

Palavras-chave: Histopatologia. Lagarta preta. Piretróides. Órgãos não alvos. Toxicidade.

1. INTRODUÇÃO

Lagartas do gênero *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) são pragas de crescente importância em regiões produtoras de soja e algodão (Santos *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2010; Bueno *et al.*, 2011; Bortolotto, 2015). Isso é mais preocupante em virtude de evidências de sua baixa susceptibilidade às proteínas Cry produzidas por *Bacillus thuringiensis* que são amplamente usadas para o controle dessas pragas (Adamczyk & Gore, 2004; Carvalho *et al.*, 2013; Favetti *et al.*, 2015).

Spodoptera cosmioides Walker tem ocorrido nas lavouras de soja transgênica expressando toxinas Cry, atingindo altas densidades, especificamente, porque suas populações são menos suscetíveis às toxinas que outras pragas lepidópteras (Bernardi *et al.*, 2014). Alguns métodos alternativos de controle, incluindo o manejo integrado de pragas tem sido usado no controle de *S. cosmiodes*, mas os inseticidas sintéticos ainda permanecem como os mais eficazes (Kahl & Kleisinger, 2016).

O lambda cialotrina é um inseticida sintético orgânico pertencente à classe dos piretróides, efetivo contra vários insetos pragas de diferentes culturas, como o algodão, café, batata, feijão, milho, soja, tomate e trigo (Agrofit, 2021). Este inseticida modula os canais de sódio envolvidos na propagação do potencial de ação através da fibra nervosa (Santos *et al.*, 2007), interrompendo o impulso elétrico e causando paralisia e morte (Davies *et al.*, 2007). Devido à natureza lipofílica dos piretróides, membranas biológicas e tecidos os absorvem prontamente (He *et al.*, 2008).

O trato digestivo dos insetos é dividido em intestino anterior, intestino médio e intestino posterior (Cavalcante & Cruz-Landim, 1999). O intestino médio tem como principal função a digestão e a absorção de nutrientes (Cossolin *et al.*, 2020; Terra & Ferreira, 2020), regeneração celular (Lehane & Billingsley, 2012), atuando como

barreira contra patógenos (Castro et al., 2019), além do processo de desintoxicação, com produção de enzimas glutathione-S-transferases, citocromos P450 e carboxilestases envolvidas no metabolismo dos inseticidas (Feyereisen, 1999; Li et al., 2007; Meech *et al.*, 2012). O intestino médio é o primeiro órgão a ser exposto ao inseticida quando este é ingerido e as moléculas tóxicas, precisam transpor essa barreira para alcançar a hemolinfa e chegar ao órgão-alvo (Denecke et al., 2018). Dessa forma, os inseticidas podem causar efeitos colaterais no intestino médio do inseto e afetar a sua fisiologia (Fiaz *et al.*, 2018, Santos-Júnior et al., 2020). Os danos causados pelos inseticidas a órgãos não-alvo ainda não estão bem esclarecidos e podem variar de acordo com a molécula química e a espécie do inseto e não há dados para o lambda cialotrina que tem amplo espectro e alta toxicidade em pragas de lepidópteros (Agrofit., 2020).

Neste estudo foi avaliado a toxicidade e efeitos colaterais no intestino médio de lagartas de *S. cosmioides* após a exposição oral ao lambda-cialotrina, contribuindo com novas alternativas para o controle dessa praga.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Insetos

Indivíduos de *S. cosmioides* foram obtidos a partir de criação no Laboratório de Controle Biológico de Insetos da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, Minas Gerais, Brasil). Adultos (machos e fêmeas) de *S. cosmioides* foram colocados em gaiolas de policloreto de vinil forradas com folhas de papel e cobertas com tecido de organza. Esses insetos foram alimentados com uma dieta líquida (água + 10% de mel + 5% de ácido ascórbico) oferecida em algodão embebido. Os ovos produzidos foram coletados a cada dois dias e transferidos para recipientes plásticos (1000 mL). Lagartas recém-eclodidas foram colocadas em potes de plásticos cobertos com

organza, alimentadas com dieta sólida artificial (Greene et al., 1976), e mantidas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $75 \pm 5\%$ de umidade relativa e fotoperíodo de 12:12 h (luz/escuridão). Lagartas de terceiro instar de *S. cosmioides* com até 24 h de idade, sem amputações ou malformações foram utilizadas em todos os experimentos.

2.2. Teste de toxicidade

O inseticida comercial lambda cialotrina 50 g L^{-1} [Karate Zeon® 50 CS; 5% lambda cialotrina (m/v), solvente nafta de petróleo 3,35% (m/v), outros ingredientes 97,5% (m/v)] foi diluído em água destilada deionizada para obter uma solução estoque, a partir da qual foram preparadas as seis diluições (7,5, 15, 30, 60, 120 e 240 mg L^{-1}) para avaliar a toxicidade, construir a curva de concentração-mortalidade e estimar as concentrações letais CL_{25} , CL_{50} , CL_{75} e CL_{90} . Para cada diluição, $1 \mu\text{L}$ foi aplicado em 1 g de dieta sólida artificial (Greene et al., 1976) e fornecido para uma lagarta de *S. cosmioides* individualizada em placa de Petri (9 cm diâmetro). Trinta lagartas de *S. cosmioides* em triplicata foram usadas para cada diluição de lambda cialotrina ou controle e a mortalidade foi avaliada por 72 h.

2.3. Análise de sobrevivência

A sobrevivência de *S. cosmioides* foi avaliada com 30 lagartas para cada concentração de lambda cialotrina estimada no teste de toxicidade. Para cada lagarta de *S. cosmioides*, $1 \mu\text{L}$ de cada concentração estimada (CL_{25} , CL_{50} , CL_{75} ou CL_{90}) foi adicionado em 1 g de dieta sólida artificial. O grupo controle recebeu apenas dieta artificial com água. Lagartas tratadas e controle foram individualizadas em placas de Petri (9 cm diâmetro) e o número de lagartas vivas foi registrado a cada 12 h por 72 h.

2.4. Histopatologia

Lagartas de *S. cosmioides* foram expostas a CL_{50} do inseticida lambda cialotrina ou água como controle. Cada lagarta foi individualizada em placa de Petri

(9 cm dia.) e alimentada com 1 g de dieta artificial contendo 1 μ L da CL₅₀ de inseticida ou controle até consumo de toda dieta, sendo, em seguida, coletadas 20 lagartas após 3h, 6h, 12h e 24h. As lagartas coletadas foram crioanestesiadas a -4°C por 5 minutos e o intestino médio dissecado em solução salina para insetos (NaCl 0,1M, KH₂PO₄ 0,2M, Na₂HPO₄ 0,2 M). Os intestinos médios foram divididos em porções anterior, média e posterior e transferidos para solução fixadora de Zamboni (Stefanini et al., 1967) por 12 h a 5 °C. A seguir, as amostras foram desidratadas em série crescente de etanol (70, 80, 90 e 95%), embebidas em historesina Leica (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Heidelberg, Alemanha) e seccionadas a 3 μ m de espessura em Micrótomo RM2255 (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha). As secções foram coradas com hematoxilina e eosina e analisadas em microscópio de luz Leica DMLS (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha).

2.5. Análise estatística

As concentrações letais CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀ e seus limites de confiança foram determinados por análise Probit gerando a curva dose-resposta usando o programa de computador SAS (v.9.0) para Windows. Dados da sobrevivência foram submetidos à análise de sobrevivência utilizando o estimador Kaplan-Meier (método Log-rank) com o programa de computador Origin Pro (v.9.0) (OriginLab Corporation, Northampom, MA, USA). Lagartas sobreviventes até o final do experimento e muda para pupas foram tratadas como dados censurados.

3. RESULTADOS

3.1. Toxicidade

O modelo de concentração–mortalidade utilizado foi adequado ($P > 0,05$), confirmando a toxicidade da lambda cialotrina para lagartas de terceiro instar de *S.*

cosmioides e permitindo as estimativas das concentrações letais (Tabela 1). A mortalidade foi < 1% no controle.

3.2. Sobrevivência

A análise de sobrevivência de lagartas de *S. cosmioides* alimentadas com lambda cialotrina revelou diferenças entre as concentrações letais ($\chi^2 = 16,41$ df = 4, $P < 0,001$) (Figura 1). Após 72 h, a sobrevivência diminuiu de 83,33% no controle, para 37,89%, 16,66%, 0%, e 0% com as CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀ de lambda cialotrina, respectivamente.

Tabela 1. Concentrações letais da lambda cialotrina para lagartas de *Spodoptera cosmioides* após 72 horas de exposição obtida pela análise probit (g.l. = 5, Slope \pm SE = 1,455 \pm 0,22, intercepto = 1,983).

No. Insetos	Concentrações letais	Concentração estimada (mg L ⁻¹)	95% limite de confiança (mg L ⁻¹)	χ^2 (valor P)
90	CL ₂₅	7,923	4,049 – 12,02	1,94 (0,75)
90	CL ₅₀	23,03	15,90 – 31,78	
90	CL ₇₅	66,94	47,16 – 111,3	
90	CL ₉₀	174,8	106,2 – 405,7	

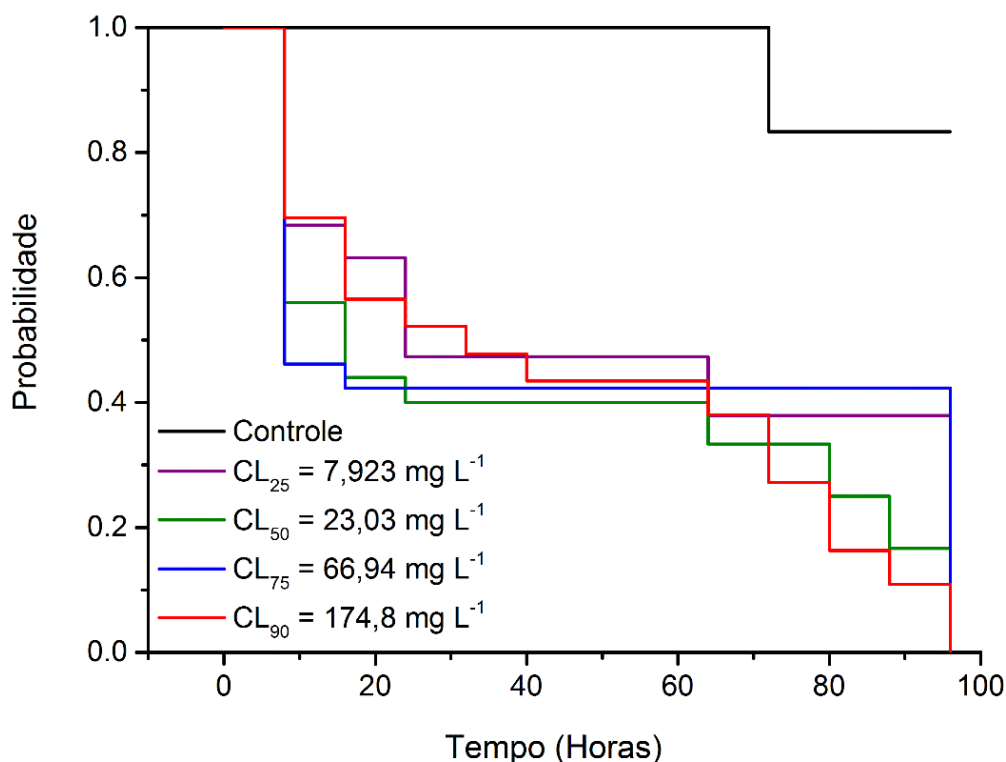


Fig. 1. Curvas de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera cosmioides* expostas a diferentes concentrações letais da lambda-cialotrina estimadas pela análise de sobrevivência usando o estimador Kaplan-Meier (Teste de log-rank $\chi^2 = 16,41$; $P < 0,001$).

3.3. Histopatologia

No controle, o intestino médio das lagartas *S. cosmioides* apresentou uma camada epitelial única com células digestivas colunares, células calciformes e ninhos de células regenerativas na base do epitélio, todas sem alterações morfológicas entre as porções anterior, média e posterior do intestino (Fig. 2). As células digestivas apresentaram núcleo esférico ou alongado com cromatina descondensada e citoplasma contendo poucos vacúolos (Fig. 2A-C). A região apical das células digestivas teve uma borda estriada bem desenvolvida (Fig. 2C). As

células caliciformes foram caracterizadas por uma ampla cavidade com borda estriada e núcleo basal (Fig. 2).

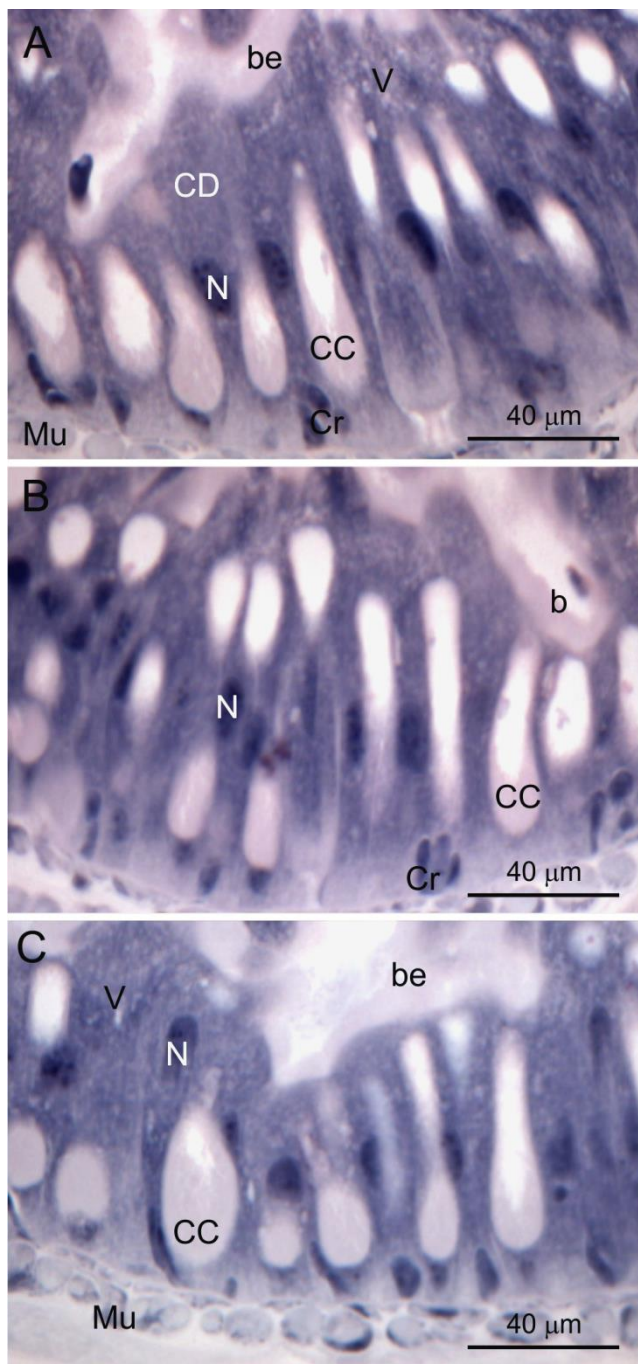


Fig. 2. Micrografias de luz do intestino médio de *Spodoptera cosmioides* mostrando o epitélio das porções anterior (A) mediana (B) e posterior (C) com células digestivas colunares (CD) com borda estriada (be) apical bem desenvolvida, citoplasma com alguns vacúolos (V), núcleo (N), células caliciformes (CC) com cavidade contendo borda estriada (be) e células regenerativas (Cr) em ninho na base do epitélio. Mu = músculo.

Alterações histológicas no intestino médio de *S. cosmioides* em larvas tratadas com a CL₅₀ do inseticida lambda cialotrina foram observadas em todos os tempos testados. Após 3 h de exposição, as células digestivas da lagarta apresentaram alta vacuolização citoplasmática na porção anterior do intestino médio (Fig. 3A) e alguns núcleos com aumento na condensação da cromatina nas porções mediana (Fig. 3B) e posterior (Fig. 3C), além de fragmentos celulares sendo liberados para o lúmen (Fig. 3C).

Nas lagartas alimentadas por 6 h com dieta contendo lambda cialotrina, ocorreu aumento na vacuolização citoplasmática (Fig. 3D) na porção anterior do intestino médio e liberação de fragmentos celular para o lúmen na porção mediana (Fig. 3E). O epitélio apresentou forma irregular com borda estriada das células digestivas desestruturada na porção posterior (Fig. 3F). Vários núcleos apresentaram cromatina condensada nas três porções do intestino médio (Fig. 3D-3F).

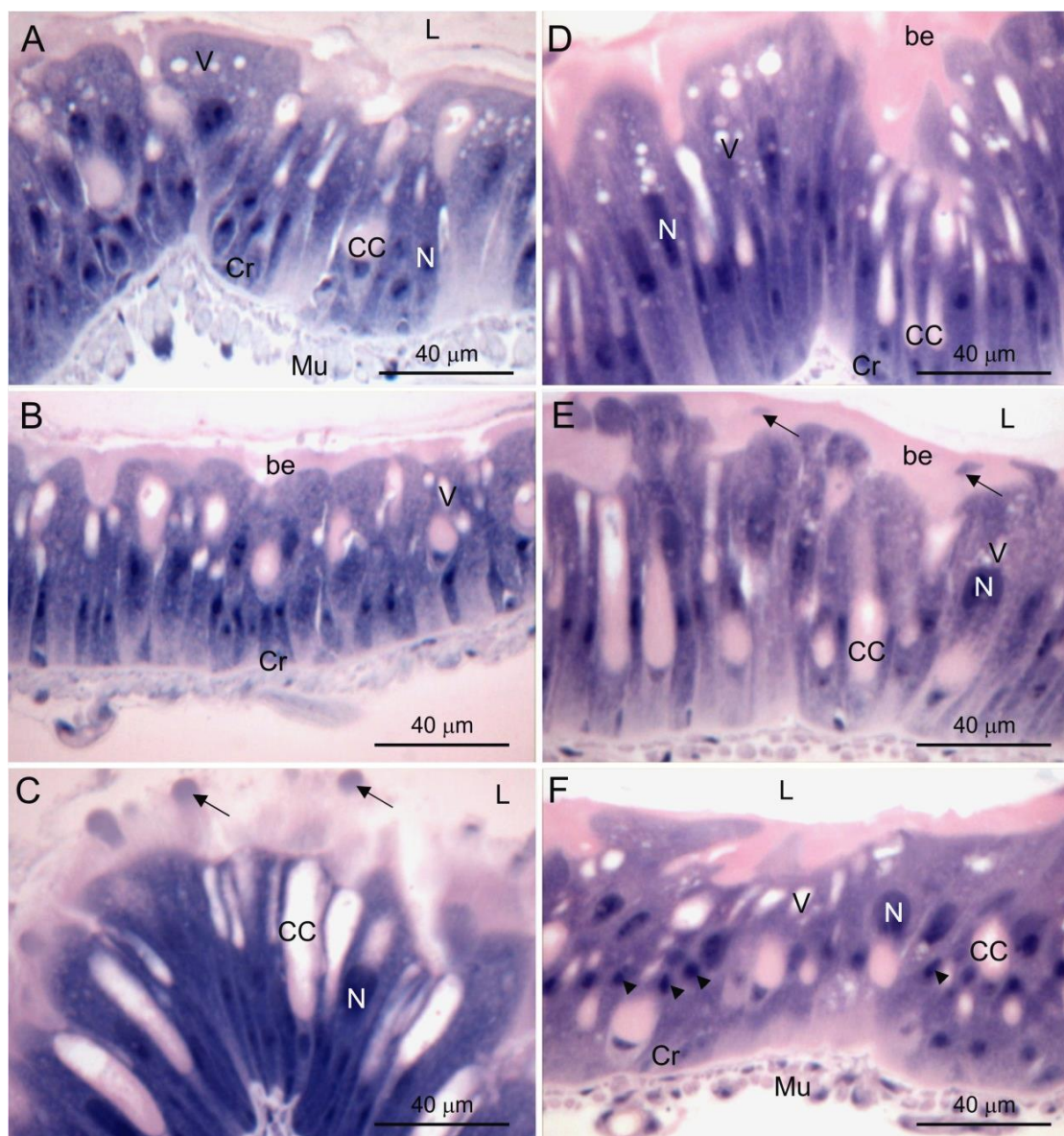


Fig. 3. Micrografias de luz do intestino médio de *Spodoptera cosmioides* expostas à CL₅₀ do inseticida lambda cialotrina por 3 h (A-C) e 6 h (D-F). A) porção anterior com aumento da vacuolização citoplasmática (V), núcleos (N) das células digestivas com cromatina condensada. B) porção mediana do intestino médio mostrando células digestivas com núcleos (N) com cromatina condensada e borda estriada (be) do epitélio começando a se desestruturar. C) porção posterior com núcleos das células digestivas com a cromatina condensada, desestruturação da borda estriada das células caliciformes (CC) e liberação de fragmentos celulares para o lúmen (seta preta). D) Porção anterior com aumento na vacuolização do citoplasma (V). E) Porção mediana mostrando células digestivas com núcleos (N) com a cromatina condensada e liberação de fragmentos celulares (seta preta) para o lúmen. F) Aumento de vacúolos (V), núcleo (N) com a cromatina condensada e alguns em picnose (ponta de seta) Cr = células regenerativas, L= lúmen, Mu= músculo.

Nas lagartas de *S. cosmioides* expostas a CL₅₀ de lambda cialotrina por 12 h ocorreu aumento na vacuolização citoplasmática das células digestivas nas três regiões do intestino médio (Figs. 4A-C), com presença de núcleos com cromatina condensada nas células digestivas e caliciformes (Figs. 4B). Na porção mediana as células apresentaram fragmentação dos ápices celulares que foram liberados para o lúmen (Fig. 4B), e desestruturação da borda estriada.

Nas lagartas expostas ao lambda-cialotrina por 24h, ocorreu uma recuperação dos danos causados pela exposição ao lambda-cialotrina. Nas três porções do intestino médio, o epitélio estava mais regular, borda estriada recuperada, somente apresentou fragmentos celulares liberados para o lúmen nas três porções do intestino (Figs. 4 D-F).

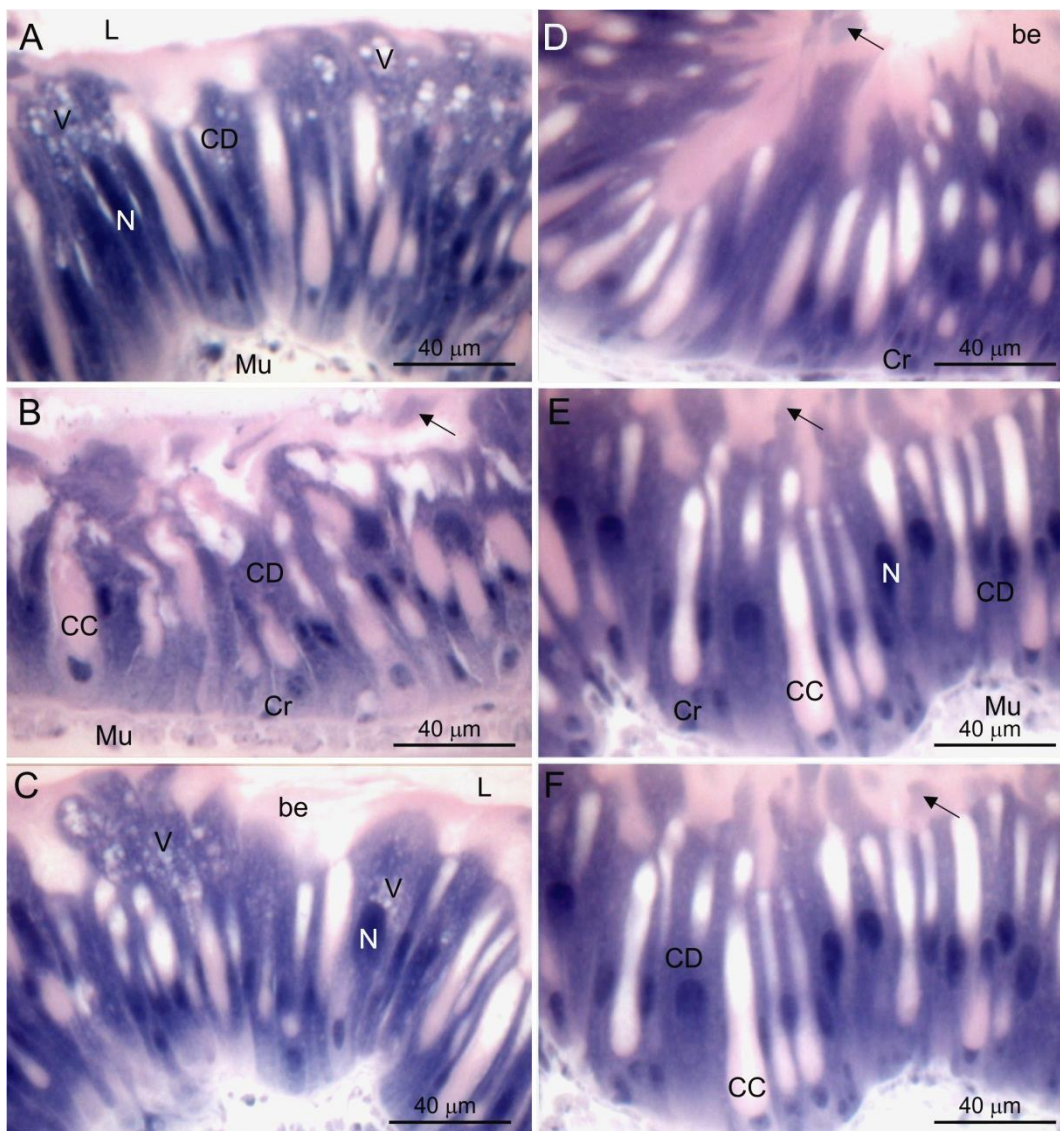


Fig. 4. Micrografias de luz do intestino médio de *Spodoptera cosmioides* expostas à CL_{50} do inseticida lambda cialotrina por 12 h (A-C) e 24 h (D-F). A) porção anterior com aumento da vacuolização citoplasmática (V), núcleos (N) das células digestivas com cromatina condensada. B) porção mediana do intestino médio mostrando células digestivas com núcleos (N) com cromatina condensada e borda estriada (be) do epitélio desestruturada C) porção posterior com núcleos (N) das células digestivas com a cromatina condensada, desestruturação da borda estriada das células caliciformes (CC) e liberação de fragmentos celulares para o lúmen. D) Tratamento com 24 h após exposição a CL_{50} da lambda-cialotrina, porção anterior do intestino médio com o epitélio das células digestivas (CD) apresentando uma possível regeneração. Borda estriada (BE) também recuperada, liberação de fragmentos celulares para o lúmen (seta preta) E) Porção mediana mostrando o epitélio das células digestivas colunares (CD) com pequenos vacúolos (V) e núcleo (N) com cromatina descondensada, liberação de fragmentos celulares para o lúmen (seta preta), células regenerativas (Cr). F) Porção posterior mostrando o epitélio das células digestivas colunares (CD) com vacúolos (V) e núcleos (N) e liberação de fragmentos celulares para o lúmen. Todas as porções apresentaram L= lúmen, Mu= músculo e algumas porções com Cr = células regenerativas.

4. DISCUSSÃO

O inseticida lambda cialotrina causou mortalidade, reduziu a taxa de sobrevivência e alterou a histologia do intestino médio de *S. cosmioides* evidenciando que o inseticida é tóxico para lagartas de *S. cosmioides* pela exposição oral. Lambda cialotrina causa mortalidade em uma forma dependente da concentração como observado em outros insetos expostos a inseticidas piretroides (Martínez *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2020). A concentração crítica de lambda-cialotrina ($CL_{50} = 23,03 \text{ mg L}^{-1}$) é necessária para causar letalidade efetiva, atingir o sistema nervoso desse inseto após superar a barreira física e os processos bioquímicos de desintoxicação que ocorrem no intestino médio durante a ingestão. Este resultado indica que o efeito tóxico produzido pela lambda-cialotrina pode gerar uma supressão das populações de *S. cosmioides* e reduzir os danos em culturas como observado em outras pragas Lepidoptera como *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Noctuidae), *Euprosterina elaeasa* Dyar (Limacodidae) e *Spodoptera fugiperda* (J.E. Smith) após exposição oral ao clorpirifós, tebufenozida e deltametrina (Plata-Rueda *et al.*, 2020; Martínez *et al.*, 2021; Vinha *et al.*, 2021).

O epitélio do intestino médio de *S. cosmioides* após 3 h de exposição da lagarta ao inseticida Lambda cialotrina, apresentou células digestivas com aumento da vacuolização citoplasmática, que podem indicar características da degeneração celular após a exposição de insetos a doses subletais de pesticidas. Achados semelhantes foram relatados para outros insetos expostos a outros inseticidas incluindo o tebufenozida (Fiaz *et al.*, 2018b), permetrina (Martínez *et al.*, 2018), clorpirifós (Plata-Rueda *et al.*, 2020) e chlorantraniliprole (Castro *et al.*, 2021). Esse aumento na vacuolização observado nas células digestivas do intestino médio das lagartas pode estar associado a autofagia. Vacúolos nestas células digestivas são

comumente encontrados em insetos (Carneiro et al., 2020; Santos-Junior et al., 2020), mas o aumento de seu número e tamanho no citoplasma podem indicar autofagia durante renovação de organela e reorganização do citoplasma (Madeo et al., 2015). A autofagia é um processo importante para a homeostase celular, como a digestão de organelas danificadas, reciclagem de proteínas e eliminação de patógenos. Pode ser ativado por doença (Levine e Kroemer, 2008) e estressores xenobióticos (Chen et al., 2009), incluindo os pesticidas iprodiona (Carneiro et al., 2020), tebufenozida (Fiaz et al., 2018b) e espiromesifeno (Serra et al., 2021).

O epitélio do intestino médio de *S. cosmioides* apresentou danos na borda estriada das células digestivas, que também já foi relatado em insetos expostos a concentrações subletais de outros pesticidas (Fiaz et al., 2018a, 2018b; Martínez et., 2019). A borda estriada aumenta a superfície da célula para o transporte de substâncias (Terra et al., 2006; Santos-Junior et al., 2020). Danos nessa estrutura do intestino médio mediados por inseticidas comprometem a absorção de nutrientes, conseqüentemente, comprometendo a digestão e levando o inseto a morte.

Lambda cialotrina também induz aumento na condensação de cromatina dos núcleos das células digestivas, indicando possível início de degeneração celular, como relatado para o predador *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) exposto ao inseticida permetrina (Martínez et al; 2016). A análise histopatológica do intestino médio das lagartas tratadas com lambda cialotrina sugere morte celular por apoptose. Durante o processo inicial de apoptose, o encolhimento celular e a picnose são visíveis por microscopia de luz (Kerr et al., 1972) como visto na figura (3A). Com a diminuição do tamanho celular o citoplasma fica mais denso e as organelas ficam mais compactadas (Elmore, 2007). Os núcleos picnóticos são uma característica típica de morte celular por apoptose e a liberação de fragmentos

celulares no lúmen pode estar relacionada com a eliminação das células mortas (Häcker, 2000).

Lagartas exposta por 24h ao lambda cialotrina apresentou características de uma possível regeneração celular, os danos celulares vistos em outros tempos de exposição ao inseticida, não foram percebidos neste tempo. As células do intestino médio dos insetos produzem enzimas que participam da desintoxicação celular, como glutathione-S-transferase e citocromo P450 e carboxilestases envolvidas no metabolismo dos inseticidas (Li et al., 2007; Meech *et al.*, 2012; Feyereisen, 1999). Nossos achados sugerem que essas enzimas foram capazes de fazer a desintoxicação celular. Foram observados também um aumento no número de células regenerativas, essa proliferação pode também estar relacionado a regeneração celular uma vez que células regenerativas são responsáveis pela renovação celular (Serrão e Cruz Landim, 1996). A regeneração do epitélio depende da proliferação e diferenciação das células regenerativas e permite que insetos resistentes se recuperarem e sobrevivam à exposição ao agente biótico (Castagnola e JuratFuentes, 2016).

Neste estudo nós mostramos a letalidade e os danos causados pelo inseticida lambda-cialotrina, indicando este composto como possível de ser utilizado no controle deste inseto praga. Lambda-cialotrina é tóxica para o inseto *S. cosmioides* com alta mortalidade e efeitos colaterais na digestão. E estes efeitos causados por lambda-cialotrina em *S. cosmioides* são suficientes para prevenir o desenvolvimento e sobrevivência deste inseto e podem ser usados de forma eficaz para o seu controle.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMCZYK, J.J. & GORE, J. (2004) Laboratory and field performance of cotton containing Cry1Ac, Cry1F and both Cry1Ac and Cry1F (Widestrike®) against beet armyworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *The Florida Entomologist*, v.87, n.4, p.427-432.
- AGROFIT. (2020) Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/BELT_291019.pdf Acesso em 10/06/2020.
- AGROFIT. (2021) Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 15/06/2021.
- BERNARDI, O., SORGATTO, R. J., BARBOSA, A. D., DOMINGUES, F. A., DOURADO, P. M., CARVALHO, R. A., ... & OMOTO, C. (2014). Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. *Crop protection*, 58, 33-40.
- BORTOLOTTO, O. C., BUENO, A. D. F., QUEIROZ, A. P. D., SILVA, G. V., & BARBOSA, G. C. (2015). Larval development of *Spodoptera eridania* (Cramer) fed on leaves of Bt maize expressing Cry1F and Cry1F+ Cry1A. 105+ Cry2Ab2 proteins and its non-Bt isolate. *Revista Brasileira de Entomologia*, 59, 07-11.
- CARNEIRO, L. S., MARTÍNEZ, L. C., GONÇALVES, W. G., SANTANA, L. M., & SERRÃO, J. E. (2020). The fungicide iprodione affects midgut cells of non-target honey bee *Apis mellifera* workers. *Ecotoxicology and environmental safety*, 189, 109991.
- CARVALHO, R. A., OMOTO, C., FIELD, L. M., WILLIAMSON, M. S., & BASS, C. (2013) Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. *PLoS One*, 8(4), e62268.
- CASTAGNOLA, A., & JURAT-FUENTES, J. L. (2016). Intestinal regeneration as an insect resistance mechanism to entomopathogenic bacteria. *Current opinion in insect science*, 15, 104-110.

- CASTRO, B.M.C.E.; MARTINEZ, L.C.; BARBOSA, S.G.; SERRÃO, J.E.; WILCKEN, C.F.; SOARES, M.A.; SILVA, A.A.D.; CARVALHO, A.G.D.; ZANUNCIO, J.C. (2019) Toxicity and cytopathology mediated by *Bacillus thuringiensis* in the midgut of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Sci. Rep.* 3 9, 6667.
- CAVALCANTE, V. M.; CRUZ-LANDIM, C. (1999) Types of cells present in the midgut of the insects: a review. *Naturalia - São Paulo*, v. 24, p. 19-40.
- CHEN, Y. P., EVANS, J. D., MURPHY, C., GUTELL, R., ZUKER, M., GUNDENSEN-RINDAL, D. A. W. N., & PETTIS, J. S. (2009). Morphological, Molecular, and Phylogenetic Characterization of *Nosema ceranae*, a Microsporidian Parasite Isolated from the European Honey Bee, *Apis mellifera* L. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 56(2), 142-147., p. 142–147, 2009.
- DAVIES, T. G. E., FIELD, L. M., USHERWOOD, P. N. R. AND WILLIAMSON, M. S. (2007) DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB Life*. 59 (3), pp. 151-162.
- DENECKE, S., SWEVERS, L., DOURIS, V., & VONTAS, J. (2018) How do oral insecticidal compounds cross the insect midgut epithelium?. *Insect biochemistry and molecular biology* 103, 22–35.
- DE FREITAS BUENO, R. C. O., DE FREITAS BUENO, A., MOSCARDI, F., POSTALI PARRA, J. R., & HOFFMANN-CAMPO, C. B. (2011) Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. *Pest Management Science*, 67(2), 170-174.
- ELMORE S. (2007) Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology* .Jun;35(4):495-516.
- FAVETTI, B. M., BUTNARIU, A. R., & FOERSTER, L. A. (2015) Biology and reproductive capacity of *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera, Noctuidae) in different soybean cultivars. *Revista Brasileira de Entomologia*, 59(2), 89-95.
- FEYEREISEN, R. (1999) Insect P450 enzymes. *Annual Review of Entomology*. 44, 507-533.
- FIAZ, M., MARTÍNEZ, L. C., DA SILVA COSTA, M., COSSOLIN, J. F. S., PLATA-RUEDA, A., GONÇALVES, W. G., ... & SERRÃO, J. E. (2018). Squamocin induce histological and ultrastructural changes in the midgut cells of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecotoxicology and environmental safety*, 156, 1-8.

- FAIAZ, M., MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., GONÇALVES, W. G., SHAREEF, M., ZANUNCIO, J. C., & SERRÃO, J. E. (2018). Toxicological and morphological effects of tebufenozide on *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Chemosphere*, 212, 337-345.
- GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. (1976) Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, v.69, p.488–497.
- HÄCKER, G., (2000) The morphology of apoptosis. *Cell Tissue Res.* 301, 5–17. [https://doi.org/ 10.1007/s004410000193](https://doi.org/10.1007/s004410000193)
- HE, L. M., TROIANO, J., WANG, A., & GOH, K. (2008). Environmental chemistry, ecotoxicity, and fate of lambda-cyhalothrin. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 71-91.
- KAHL M & KLEISINGER G, (2016) *Spodoptera cosmioides*, commonly known as the "red-billed caterpillar" or "large military caterpillar", is found more frequently in production fields of our region. *Serie de Extensión. INTA Paraná Nro. 78*, 1-8.
- KERR, J. F., WYLLIE, A. H., & CURRIE, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer*, 26(4), 239-257.
- LEHANE, M., & BILLINGSLEY, P. (Eds.). (2012). *Biology of the insect midgut*. Springer Science & Business Media.
- LEVINE, B., & KROEMER, G. (2008). Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*, 132(1), 27-42.
- LI, XIANCHUN; SCHULER, MARY A.; BERENBAUM, MAY R. (2007) Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology.*, v. 52, p. 231-253.
- MADEO, F., ZIMMERMANN, A., MAIURI, M.C., KROEMER, G., 2015) Essential role for autophagy in life span extension. *J. Clin. Invest.* 125, 85e93. <https://doi.org/10.1172/JCI73946>.
- MARTÍNEZ, L. C., PLATA-RUEDA, A., DA SILVA NEVES, G., GONÇALVES, W. G., ZANUNCIO, J. C., BOZDOĞAN, H., & SERRÃO, J. E. (2018). Permethrin induces histological and cytological changes in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere*, 212, 629-637.
- MARTÍNEZ, L.C., PLATA-RUEDA, A., NEVES G.S., GONÇALVES, W.G., ZANUNCIO, J.C., BOZDOĞAN, H., SERRÃO, J.E., (2018). Permethrin induces

- histological and cytological changes in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. Chemosphere 212:629–637.
- MARTÍNEZ, L.C., PLATA-RUEDA, A., RODRÍGUEZ-DIMATÉ, F.A., CAMPOS, J.M., SANTOS JÚNIOR V.C., ROLIM, G.D.S., FERNANDES, F.L., SILVA, W.M., WILCKEN, C.F., ZANUNCIO, J.C., SERRÃO, J.E., (2019). Exposure to insecticides reduces populations of *Rhynchophorus palmarum* in oil palm plantations with Bud Rot disease. Insects 10(4):111.
- MARTÍNEZ, L.C., PLATA-RUEDA, A., SERRÃO, J.E., (2021). Effects of insect growth regulators on mortality, survival, and feeding of *Euprosterina elaeasa* (Lepidoptera: Limacodidae) larvae. Agronomy 11:2002.
- MEECH, R., MINERS, J. O., LEWIS, B. C., & MACKENZIE, P. I. (2012) The glycosidation of xenobiotics and endogenous compounds: versatility and redundancy in the UDP glycosyltransferase superfamily. Pharmacology & therapeutics, 134(2), 200-218.
- PLATA-RUEDA, A., MENEZES, C.H.M., CUNHA, W.S., ALVARENGA, T.M., BARBOSA, B.F., ZANUNCIO, J.C., MARTÍNEZ, L.C., SERRÃO, J.E., (2020). Side-effects caused by chlorpyrifos in the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). Chemosphere 259:127530.
- POGUE, G. M. (2002) A world revision of the genus *Spodoptera* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). Memoirs of the American Entomological Society 43: 1-202, 2002.
- SANTOS JUNIOR, V.C.; MARTÍNEZ, L.C.; PLATA-RUEDA, A.; FERNANDES, F.L.; TAVARES, W.S.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. (2020) Histopathological and cytotoxic changes induced by spinosad on midgut cells of the non-target predator *Podisus nigrispinus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae). Chemosphere, 238, 124585.
- SANTOS, W. J. (2007) Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. In: FREIRE, E. C. (Ed.). Algodão no cerrado do Brasil. Brasília: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão. Cap.2, p.403-478.
- SANTOS, W.J. (2005) Complexo de pragas do algodoeiro no sistema de plantio direto, p.128-133. In: Anais do 8º Encontro Plantio Direto no Cerrado, Tangará da Serra, MT, 217p.
- SANTOS, K. B., MENEGUIM, A. M., DOS SANTOS, W. J., NEVES, P. M., & DOS SANTOS, R. B. (2010) Characterization of the damage of *Spodoptera eridania*

- (Cramer) and *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) to structures of cotton plants. *Neotropical Entomology*, 39(4), 626-631.
- SAS INSTITUTE. (2002) SAS user's manual, version 9.1. Cary, NC: SAS Institute.
- SERRA, R. S., COSSOLIN, J., RESENDE, M., CASTRO, M. A., OLIVEIRA, A. H., MARTÍNEZ, L. C., & SERRÃO, J. E. (2021). Spiromesifen induces histopathological and cytotoxic changes in the midgut of the honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Chemosphere*, 270, 129439.
- SERRAO, JOSE EDUARDO; DA CRUZ-LANDIM, CARMINDA. (1996) A comparative study of digestive cells in different midgut regions of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). *Journal of Advanced Zoology*, v. 17, n. 1, p. 1-6.
- SILVA, W.M., MARTÍNEZ, L.C., PLATA-RUEDA, A., SERRÃO, J.E., ZANUNCIO, J.C., (2020). Respiration, predatory and prey consumption by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs exposed some to insecticides. *Chemosphere* 261:127720.
- TERRA, W.R., COSTA, R.H. & FERREIRA, C. (2006) Plasma membranes from insect midgut cells. *An. Acad. Bras. Cienc.* 78, 255–269.
- TERRA, W.R. AND FERREIRA, C. (2020) Evolutionary trends of digestion and absorption in the major insect orders. *Arthropod Structure & Development* 56: 100931.
- VINHA, G.L., PLATA-RUEDA, A., SOARES, M.A., ZANUNCIO, J.C., SERRÃO, J.E., MARTÍNEZ, L.C., (2021). Deltamethrin-mediated effects on locomotion, respiration, feeding and histological changes in the midgut of *Spodoptera frugiperda* caterpillars. *Insects* 12:483.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos mostram que os inseticidas Flubendiamida e Lambda cialotrina são tóxicos para lagartas de *S. cosmioides* e em concentrações letais causam mudanças histopatológicas severas no intestino médio com desorganização da borda estriada, condensação da cromatina nuclear das células, fragmentação e vacuolização celular. Assim, ambos os inseticidas neurotóxicos tem efeitos colaterais no intestino médio, comprometendo a digestibilidade nas lagartas de *S. cosmioides* indicando potencial para serem usados no controle desta praga.