

CARLOS HENRIQUE BATISTA

**TOXICIDADE DO INDOXACARBE À *Anticarsia gemmatalis*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E AO PREDADOR *Podisus distinctus*
(HETEROPTERA: PENTATOMIDAE)**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

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

T

Batista, Carlos Henrique, 1989-
B333t Toxicidade do indoxacarbe à *Anticarsia gemmatalis*
2019 (Lepidoptera: Noctuidae) e ao predador *Podisus distinctus*
(Heteroptera: Pentatomidae) / Carlos Henrique Batista. – Viçosa,
MG, 2019.
viii, 55 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Cola Zanúncio.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Soja - Doenças e pragas - Controle biológico. 2. Lagarta da soja. 3. Inseticidas. 4. Oxadiazinas - Testes de toxicidade.

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.

II. Título.

CDD 22. ed. 633.349517

CARLOS HENRIQUE BATISTA

**TOXICIDADE DO INDOXACARBE À *Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) E AO PREDADOR *Podisus distinctus* (HETEROPTERA:
PENTATOMIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como requisito do programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: 28 de fevereiro de 2019.



Rosenilson Pinto



Bárbara Monteiro de Castro e Castro



Luis Carlos Martínez Castrillón
(Coorientador)



José Cola Zanuncio
(Orientador)

À minha mãe Hélia Rosa Batista da Silva.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, que é causa primária de todas as coisas, obrigado pela oportunidade que me foi dada e pela força nos momentos difíceis ao longo de minha vida.

Ao Programa de Bolsas de Qualificação de Servidores (PBQS) do Instituto Federal Norte de Minas Gerais (IFNMG) pela concessão da bolsa.

À Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitotecnia e Instituto de Biotecnologia Aplicada (BIOAGRO), pela excelente condição propiciada para a realização da minha pesquisa.

Ao meu orientador PhD. José Cola Zanuncio pela atenção, paciência, estímulo, ensinamentos e orientação decisiva para a concretização desse trabalho.

À minha esposa Cássia Pereira Quaresma Batista pela força, carinho, apoio, amor e compreensão demonstrada durante minha ausência. Também por fazer parte da minha vida, confortando-me nos momentos de angústia e, nos bons momentos, divertindo-me.

Aos amigos da república Acácio, Deyson, Gabriel, Lázaro e Vinícius pelos momentos vivenciados, amizade e pelo apoio.

Aos colegas do Laboratório de Controle Biológico de Insetos, Bárbara Castro, Bruno Brügger, Bruno Franklin, Carlos Augusto, Carlos Menezes, Gabriela Rolim, Germano, Juliana Mendonça, Ricardo Alcântara, Thaiany Moreira, Valdeir Celestino, Wesley e Wiany Meloni, que de alguma forma, estiveram presentes nessa longa caminhada.

Aos amigos e coorientadores, Dra. Rosa Angelica Plata Rueda e Dr. Luis Carlos Martínez Castrillón, pelos inúmeros ensinamentos, paciência, incentivo e orientação.

A todos que torceram e colaboraram para a realização desse sonho.

BIOGRAFIA

CARLOS HENRIQUE BATISTA, filho de Hélia Rosa Batista da Silva, nasceu no dia 19 de maio de 1989, na cidade de Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Iniciou o curso Técnico em Agropecuária em fevereiro de 2004, no Centro Federal de Educação Ciência e Tecnologia (CEFET) em Januária, Minas Gerais, finalizando-o em dezembro de 2006. Em fevereiro de 2007 iniciou a graduação em Tecnologia em Irrigação e Drenagem, neste CEFET, finalizando-o em janeiro de 2009.

Em fevereiro de 2010, iniciou a graduação em Bacharelado em Agronomia, no Instituto Federal Norte de Minas Gerais (IFNMG) em Januária, Minas Gerais, finalizando-a em setembro de 2013.

Servidor público do Instituto Federal Norte de Minas Gerais desde 11 de setembro de 2013 e lotado no Campus Januária.

Em março de 2017, iniciou o Mestrado no Programa de Pós-graduação em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais, submetendo-se à defesa da dissertação em 28 de fevereiro de 2019.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. Introdução Geral	1
2. Objetivo	4
3. Referências	5
CAPÍTULO 1: Sobrevivência, respiração e comportamento locomotor de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae) mediados pelo indoxacarbe	11
Resumo	11
1. Introdução	12
2. Material e métodos	13
2.1. Insetos	13
2.2. Bioensaio de concentração-mortalidade	14
2.3. Bioensaio de tempo-mortalidade	14
2.4. Taxa de respiração	14
2.5. Comportamento locomotor	15
2.6. Análise estatística	16
3. Resultados	16
3.1. Bioensaio de concentração-mortalidade	16
3.2. Bioensaio de tempo-mortalidade	17
3.3. Taxa de respiração	17
3.4. Comportamento locomotor	17
4. Discussão	17
5. Referências	20
6. Tabela	27
7. Figuras	28

CAPÍTULO 2: Sobrevivência, respiração e comportamento locomotor do percevejo predador <i>Podisus distinctus</i> (Heteroptera: Pentatomidae) mediados pelo inseticida indoxacarbe		33
Resumo		33
1.	Introdução.....	34
2.	Material e métodos	35
2.1.	Insetos.....	35
2.2.	Bioensaio de concentração-mortalidade.....	36
2.3.	Bioensaio de tempo-mortalidade.....	36
2.4.	Taxa de respiração.....	36
2.5.	Comportamento locomotor.....	37
2.6.	Análise estatística	38
3.	Resultados	38
3.1.	Bioensaio de concentração-mortalidade.....	38
3.2.	Bioensaio de tempo-mortalidade.....	39
3.3.	Taxa de respiração.....	39
3.4.	Comportamento locomotor.....	39
4.	Discussão.....	39
5.	Referências	42
4.	Tabela	50
5.	Figuras	51

RESUMO

BATISTA, Carlos Henrique, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Toxicidade do indoxacarbe à *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) e ao predador *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae).** Orientador: José Cola Zanuncio. Coorientadores: Luis Carlos Martínez Castrillón e Rosa Angelica Plata Rueda.

Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) é controlada, principalmente, com inseticidas sintéticos. No entanto, esses compostos podem ser prejudiciais a inimigos naturais como *Podisus distinctus* Stål (Heteroptera: Pentatomidae). O indoxacarbe é um inseticida do grupo químico das oxadiazinas, que atua no sistema nervoso dos insetos, com eficácia no controle de lepidópteros e reduzido efeito sobre organismos não-alvo. O objetivo foi avaliar os efeitos do indoxacarbe em lagartas de *A. gemmatalis* e em adultos do predador *P. distinctus*. A eficácia desse inseticida foi determinada calculando-se suas concentrações letais (CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀) em laboratório. A sobrevivência de lagartas de *A. gemmatalis* e de adultos do predador *P. distinctus* foi analisada pelo estimador Kaplan-Meier. A taxa de respiração, após a exposição ao indoxacarbe, foi determinada com respirômetro e o comportamento locomotor analisado por sistema de rastreamento em vídeo. O indoxacarbe foi tóxico e reduziu a sobrevivência de *A. gemmatalis* e *P. distinctus* até 72 horas após a exposição. Esse inseticida reduziu a taxa de respiração de *A. gemmatalis* após a exposição ao mesmo. Mudanças no comportamento locomotor de ambas as espécies expostas ao indoxacarbe foram detectadas. A compatibilidade do indoxacarbe, com *P. distinctus*, é baixa e portanto, não deve ser recomendado, com esse predador, no manejo integrado de *A. gemmatalis* na cultura da soja.

ABSTRACT

BATISTA, Carlos Henrique, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Indoxacarb toxicity to *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) and to the predator *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae).** Adviser: José Cola Zanuncio. Co-advisers: Luis Carlos Martínez Castrillón and Rosa Angelica Plata Rueda.

Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) is mainly controlled with synthetic insecticides. However, these compounds can be harmful to natural enemies like *Podisus distinctus* Stål (Heteroptera: Pentatomidae). Indoxacarb is an insecticide from the chemical group of oxadiazines, which acts on the nervous system of insects, with effectiveness in the control of lepidopterans and reduced effect on non-target organisms. The aim was to evaluate the effects of indoxacarb in *A. gemmatalis* caterpillars and in adults of the predator *P. distinctus*. The effectiveness of this insecticide was determined by calculating its lethal concentrations (LC₂₅, LC₅₀, LC₇₅ and LC₉₀) in the laboratory. The survival of *A. gemmatalis* caterpillars and adults of the predator *P. distinctus* was analyzed by the Kaplan-Meier estimator. The respiration rate, after exposure to indoxacarb, was determined with a respirometer and the locomotor behavior was analyzed using a video tracking system. Indoxacarb was toxic and reduced the survival of *A. gemmatalis* and *P. distinctus* up to 72 hours after exposure. This insecticide reduced *A. gemmatalis* respiratory rate after exposure to it. Changes in the locomotor behavior of both species exposed to indoxacarb were detected. The compatibility of indoxacarb with *P. distinctus* is low and therefore, should not be recommended, with this predator, in the integrated management of *A. gemmatalis* in soybean crops.

1. Introdução Geral

A participação da soja (*Glycine max* (L.) Merrill), uma das principais culturas agrícolas do Brasil, é expressiva no agronegócio e na balança comercial do país (Ferreira et al., 2020). A área plantada com soja no Brasil aumentou de 13,9 para 36,9 milhões de hectares de 2000 a 2020 (Conab, 2020). A diversidade de usos da proteína e óleo das sementes de soja é um fator determinante para este crescimento (Assefa et al., 2018). Insetos podem danificar plantas de soja, desde a germinação das sementes e emergência das plântulas até a fase de maturação fisiológica dos grãos, comprometendo o rendimento e a qualidade da produção da cultura (Blanco et al., 2016).

A lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) pode causar desfolha severa em extensas áreas dessa cultura (Carneiro et al., 2017; Silva Júnior et al., 2020). No Brasil, programas de manejo integrado de pragas, incluindo o controle biológico, tem sido implementados (Castro et al., 2013), mas com limitações para o manejo de *A. gemmatalis* (Bueno et al., 2020). A especificidade de plantas transgênicas, expressando proteínas de *Bacillus thuringiensis*, para pragas-alvo é alta, mas seu uso extensivo tem causado casos de resistência (Mushtaq et al., 2017; Bengyella et al., 2018). Por outro lado, a baixa compatibilidade de vespas parasitoides com inseticidas químicos pode limitar o uso de desses inimigos naturais no manejo integrado de *A. gemmatalis* (Desneux et al., 2007; Schneider et al., 2008; Morales et al., 2020).

No Brasil, o controle químico é o método mais utilizado contra *A. gemmatalis* com 228 moléculas inseticidas registradas para o seu controle, sendo os carbamatos, organofosforados e piretróides os mais comuns (Agrofit, 2020; Plata-Rueda et al., 2020). O indoxacarbe é um inseticida neurotóxico que atua na

membrana das células nervosas, bloqueando os canais de sódio e interrompendo a transmissão de impulsos nervosos (Caballero et al., 2019). O efeito do indoxacarbe em insetos ocorre por contato e ingestão (Wing et al., 2000), sendo usado no controle de lepidópteros pragas como *Helicoverpa armigera* Hübner, *Chrysodeixis includens* Walker e *Spodoptera frugiperda* Smith (Noctuidae) (Agrofit, 2018; Cui et al., 2018; Ramos et al., 2018).

Inseticidas do grupo das oxadiazinas, ao qual pertence o ingrediente ativo indoxacarbe, têm como principais características a alta atividade inseticida e a baixa toxicidade a mamíferos (Wing et al., 2000; Zhang et al., 2017). Esses inseticidas bloqueiam o fluxo de sódio para o interior das células nervosas (Gondhalekar et al., 2016; Wang et al., 2016), provocando convulsões, paralisação locomotora e a morte do inseto (Wing et al., 2000; Li et al., 2018).

Artrópodes predadores são produzidos comercialmente e liberados para o controle de insetos-praga (Rasmussen et al., 2018). A integração de agentes de controle biológico com produtos químicos é a forma mais efetiva de supressão de insetos-praga (Torres et al., 2018). *Podisus distinctus*, predador de pragas em sistemas agrícolas e florestais, foi relatado na América do Sul, da Argentina à Venezuela (Henry & Wilson, 2004). Esse inimigo natural, com ocorrência generalizada, agressividade e voracidade, pode ser criado em laboratório e liberado no manejo de lagartas desfolhadoras (Sá et al., 2013; Tavares et al., 2017; Pires et al., 2020).

Os inseticidas podem causar danos ao meio ambiente e, muitas vezes, são prejudiciais aos insetos predadores (He et al., 2012; Barros et al., 2018; Martínez et al., 2018). Esses produtos, quando usados em programas de MIP, devem ser

eficientes contra pragas e terem baixa toxicidade a organismos de controle biológico (Ribeiro et al., 2015; Ricupero et al., 2020).

Anticarsia gemmatalis é praga da cultura da soja e controlada, principalmente com inseticidas (Plata-Rueda et al., 2020) e o impacto destes compostos sobre os inimigos naturais deve ser estudado para programas de MIP. O objetivo foi avaliar a sobrevivência, taxa de respiração e comportamento locomotor de *Anticarsia gemmatalis* e de seu predador *P. distinctus* mediados pelo inseticida indoxacarbe.

2. Objetivo

Avaliar os efeitos do indoxacarbe em lagartas de *A. gemmatalis* e em adultos do predador *P. distinctus*.

3. Referências

- AGROFIT. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários (2020). Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 07 set. 2020.
- Assefa Y, Bajjalieh N, Archontoulis S, Casteel S, Davidson D, Kovács P, Naeve S, Ciampitti IA. (2018). Spatial characterization of soybean yield and quality (amino acids, oil, and protein) for United States. *Scientific Reports* 8: 14653.
- Barros EM, da Silva-Torres CSA, Torres JB, Rolim GG. (2018). Short-term toxicity of insecticides residues to key predators and parasitoids for pest management in cotton. *Phytoparasitica* 46: 391–404.
- Bengyella L, Yekwa EL, Iftikhar S, Nawaz K, Robinson CJ, Dobgima JF, Ernest T, Pranab R. (2018). Global challenges faced by engineered *Bacillus thuringiensis* Cry genes in soybean (*Glycine max* L.) in the twenty-first century. *3 Biotechnology* 8: 464.
- Blanco CA, Chiaravalle W, Dalla-Rizza M, Farias JR, García-Degano MF, Gastaminza G, Rodríguez J. (2016). Current situation of pests targeted by *Bt* crops in Latin America. *Current Opinion in Insect Science* 15: 131–138.
- Bueno AF, Panizzi AR, Hunt TE, Dourado PM, Pitta RM, Gonçalves J. (2020). Challenges for adoption of integrated pest management (IPM): the soybean example. *Neotropical Entomology*. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00792-9>.
- Caballero JP, Murillo L, Lista O, Bastiatc G, Flochlay-Sigognaultd A, Guerinod F, Lefrançoisa C, Lautramc N, Lapieda B, Ataire-Marchaisa V. (2019). Nanoencapsulated deltamethrin as synergistic agent potentiates insecticide

- effect of indoxacarb through an unusual neuronal calcium-dependent mechanism. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 157: 1–12.
- Carneiro E, Silva LB, Silva AF, Lopes GN, Pavan BE, Rodrigues RHF, Carvalhinho DT, Mielezrski DF. (2017). Lepidopteran pests associated with the soybean cultivars phenology. *Bioscience Journal* 34: 112–121.
- Castro AA, Corrêa AS, Legaspi JC, Guedes RNC, Serrão JE, Zanuncio JC. (2013). Survival and behavior of the insecticide-exposed predators *Podisus nigrispinus* and *Supputius cincticeps* (Heteroptera: Pentatomidae). *Chemosphere* 93: 1043–1050.
- Conab. Soja – Brasil: série histórica de área plantada, produção e produtividade: safras 1976/77 a 2016/17, Brasília. (2020). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras/item/7666-soja/>. Acesso em 07 dez. 2020.
- Cui L, Wang Q, Qi H, Wang Q, Yuan H, Rui C. (2018). Resistance selection of indoxacarb in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): Cross-resistance, biochemical mechanisms and associated fitness costs. *Pest Management Science* 74: 2636–2644.
- Desneux N, Decourtye A, Delpuech J. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52: 81–106.
- Ferreira SB, Hamawaki OT, Nogueira APO, Thesing L, Machado BQV, Rezende LFR, Hamawaki CDL. (2020). Harvesting delay in physiological quality of soy seeds. *Bioscience Journal* 36: 1583–1589.
- Gondhalekar AD, Nakayasu ES, Silva I, Cooper B, Scharf ME. (2016). Indoxacarb biotransformation in the German cockroach. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 134: 14–23.

- Henry TJ, Wilson MR. (2004). First records of eleven true bugs (Hemiptera: Heteroptera) from the Galapagos – Islands, with miscellaneous notes and corrections to published reports. *Journal of the New York Entomological Society* 112: 75–86.
- He Y, Zhao J, Zheng Y, Desneux N, Wu K. (2012). Lethal effect of imidacloprid on the coccinellid predator *Serangium japonicum* and sublethal effects on predator voracity and on functional response to the whitefly *Bemisia tabaci*. *Ecotoxicology* 21: 1291–1300.
- Li B, Li H, Pang X, Cui K, Lin J, Liu F, Mu W. (2018). Quaternary ammonium cationic surfactants increase bioactivity of indoxacarb on pests and toxicological risk to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 149: 190–196.
- Martínez LC, Plata-Rueda A, Neves GS, Gonçalves WG, Zanuncio JC, Bozdoğan H, Serrão JE. (2018). Permethrin induces histological and cytological changes in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere* 212: 629–637.
- Morales SI, Martínez AM, Viñuela E, Figueroa JI, Tamayo F, Rodríguez-Leyva E, Pineda S. (2020). Parasitism, host feeding, and transgenerational effects of three insecticides on the eulophid parasitoid *Tamarixia triozae* when exposed in the immature stages. *Environmental Science and Pollution Research* 27: 19473–19483.
- Mushtaq R, Behle R, Liu R, Niu L, Song P, Shakoori AR, Jurat-Fuentes JL. (2017). Activity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ie2, Cry2Ac7, Vip3Aa11 and

- Cry7Ab3 proteins against *Anticarsia gemmatalis*, *Chrysodeixis includens* and *Ceratoma trifurcata*. *Journal of Invertebrate Pathology* 150: 70–72.
- Pires EM, Zanuncio JC, Nogueira RM, Soares MA, de Oliveira MA. (2020). Dispersal of the zoophytophagous predator *Brontocoris tabidus* and *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) in an eucalyptus plantation. *Florida Entomologist* 103: 168–171.
- Plata-Rueda A, de Menezes CHM, dos Santos Cunha W, Alvarenga TM, Barbosa BF, Zanuncio JC, Serrão JE. (2020). Side-effects caused by chlorpyrifos in the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemosphere* 259: 127530.
- Ramos RS, Araújo VC, Pereira RR, Martins JC, Queiroz OS, Silva RS, Picanço MC. (2018). Investigation of the lethal and behavioral effects of commercial insecticides on the parasitoid wasp *Copidosoma truncatellum*. *Chemosphere* 191: 770–778.
- Rasmussen LB, Jensen K, Sørensen JG, Sverrisdóttir E, Nielsen KL, Overgaard J, Kristensen TN. (2018). Are commercial stocks of biological control agents genetically depauperate? – A case study on the pirate bug *Orius majusculus* Reuter. *Biological Control* 127: 31–38.
- Ribeiro RC, Zanuncio TV, Ramalho FS, da Silva CAD, Serrão JE, Zanuncio JC. (2015). Feeding and oviposition of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) with sublethal concentrations of ten condiments essential oils. *Industrial Crops and Products* 74: 139–143.

- Ricupero M, Desneux N, Zappalà L, Biondi A. (2020). Target and non-target impact of systemic insecticides on a polyphagous aphid pest and its parasitoid. *Chemosphere* 247: 125728.
- Sá VD, Zanuncio JC, Soares MA, Rosa CS, Serrao JE. (2013). Morphology and postdepositional dynamics of eggs of the predator *Podisus distinctus* (Stål) (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae). *Zootaxa* 3641: 282–288.
- Schneider M, Smagghe G, Pineda S, Viñuela E. (2008). The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hym., Ichneumonidae): pharmacokinetics approach.. *Ecotoxicology* 17: 181–188.
- Silva Júnior NR, Vital CE, Barros RA, Faustino VA, Monteiro LP, Barros E, de Almeida MGO. (2020). Intestinal proteolytic profile changes during larval development of *Anticarsia gemmatalis* caterpillars. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 103: e21631.
- Tavares WS, Silva IM, Legaspi JC, Serrão JE, Zanuncio JC. (2017). *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) females are lighter feeding on *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae subjected to ventral nerve cord transection. *Entomologica Americana* 123: 35–41.
- Torres JB, Bueno ADF. (2018). Conservation biological control using selective insecticides—a valuable tool for IPM. *Biological Control* 128: 53–64.
- Wang XL, Su W, Zhang JH, Yang YH, Dong K, Wu YD. (2016). Two novel sodium channel mutations associated with resistance to indoxacarb and metaflumizone in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Insect Science* 23: 50–58.

Wing KD, Sacher M, Kagaya Y, Tsurubuchi Y, Mulderig L, Connair M, Schnee M. (2000). Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection* 19: 537–545.

Zhang S, Zhang X, Shen J, Li D, Wan H, You H, Li J. (2017). Cross-resistance and biochemical mechanisms of resistance to indoxacarb in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 140: 85–89.

CAPÍTULO 1

Sobrevivência, respiração e comportamento locomotor de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) mediados pelo indoxacarbe

Resumo: *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), praga da cultura da soja, é controlada, principalmente, com inseticidas. O objetivo foi avaliar a toxicidade de indoxacarbe e alterações na sobrevivência, taxa de respiração e respostas comportamentais de lagartas de *A. gemmatalis* mediados por esse inseticida. O indoxacarbe foi tóxico para lagartas de *A. gemmatalis* ($CL_{50}= 1,93 \text{ mg mL}^{-1}$ e $CL_{90}= 3,17 \text{ mg mL}^{-1}$) com sobrevivência das mesmas de 83% sem exposição ao indoxacarbe e de 40% para aquelas expostas ao indoxacarbe CL_{50} e de 8% na CL_{90} . A mobilidade de *A. gemmatalis* foi menor em arenas tratadas com esse inseticida. A taxa de respiração de lagartas de *A. gemmatalis* diminuiu até 3 horas após a exposição ao indoxacarbe com alterações nas respostas comportamentais e a atividade locomotora da mesmas. O indoxacarbe causou efeitos letais e subletais em *A. gemmatalis* e, portanto, pode ser recomendado no controle dessa praga em lavouras de soja.

Palavras chave: Atividade locomotora, controle de pragas, inseticida, lagarta-da-soja, oxadiazinás.

1. Introdução

Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), praga da soja, causa desfolhamento severo em extensas áreas dessa cultura (Carneiro et al., 2018; Silva Júnior et al., 2020). No Brasil, programas de manejo integrado de pragas, incluindo o controle biológico, foram implementados (Castro et al., 2013), mas com limitações para o manejo de *A. gemmatalis* (Bueno et al., 2020). A especificidade de plantas transgênicas, expressando proteínas de *Bacillus thuringiensis*, à pragas-alvo é alta, porém seu uso extensivo tem aumentado os casos de resistência de insetos (Mushtaq et al., 2017; Bengyella et al., 2018). Por outro lado, a compatibilidade de vespas parasitóides com inseticidas químicos pode limitar o uso combinado desses métodos em programas de manejo integrado de pragas (Desneux et al., 2007; Schneider et al., 2008; Morales et al., 2020).

No Brasil, o controle químico é o método mais utilizado contra *A. gemmatalis*, sendo inseticidas carbamatos, organofosforados e piretróides os mais comuns (Agrofit, 2020; Plata-Rueda et al., 2020b). Esses inseticidas, usados em áreas extensas com monocultura de soja, reduzem o nível de infestação de insetos desfolhadores (Hurley et al., 2020).

O indoxacarbe, do grupo químico das oxadiazinas, é usado no controle de pragas em culturas agrícolas e florestais (Bird, 2017; Zhang et al., 2017; Shi et al., 2018). Esse inseticida, do tipo pirazolina, é bioativado no intestino dos insetos para o metabólito *N*-decarbometoxilado, que bloqueia os canais de sódio e evita o influxo de sódio para o neurônio (Caballero et al., 2019). O indoxacarbe atua em insetos por contato e ingestão (Wing et al., 2000), mas a extensão e os mecanismos desses efeitos não são, totalmente, conhecidos.

Inseticidas são eficazes e reduzem, rapidamente, as populações de insetos-praga na cultura da soja (Bilal et al., 2020). O indoxacarbe não está registrado, no Brasil, para o manejo de *A. gemmatalis*, mas sua eficácia contra pragas de soja, como *Helicoverpa armigera* Hübner, *Chrysodeixis includens* Walker e *Spodoptera frugiperda* Smith (Noctuidae) foi relatada (Agrofit, 2020; Cui et al., 2018; Ramos et al., 2018).

Inseticidas podem induzir efeitos letais e subletais e de longo prazo, ainda, pouco estudados (Plata-Rueda et al., 2019a). O indoxacarbe, com amplo espectro de ação e toxicidade para artrópodes (Bird, 2017), é um dos inseticidas mais usados no manejo de insetos praga (Brier et al., 2008), mas seus efeitos letais e subletais em *A. gemmatalis* devem ser melhor estudados. O objetivo foi avaliar a toxicidade de indoxacarbe e alterações na sobrevivência, taxa de respiração e respostas comportamentais de lagartas de *A. gemmatalis* mediadas por esse inseticida.

2. Material e métodos

2.1. Insetos

Lagartas de *A. gemmatalis* foram obtidas da criação massal do Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LCBI) do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa, Minas Gerais, Brasil e mantidas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $75 \pm 5\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Essas lagartas foram alimentadas com dieta artificial constituída por 10 g de ágar, 15,6 g de levedura de cerveja, 25 g de gérmen de trigo, 25 g de proteína de soja, 31,2 g de feijão, 12,5 g de caseína, e 2,5 mL de solução de vitaminas (1,2% de ácido ascórbico, 0,03% pantotenato de cálcio, 0,015% de niacina,

0,008%, riboflavina, 0,004% de tiamina e 0,004% de HCl) (Greene et al., 1976). Grupos de vinte lagartas de *A. gemmatalis* foram colocados por pote de poliestireno (15 × 9 cm), com dieta, até a pupação. O alimento foi repostado a cada 48 horas, quando a assepsia dos potes era realizada. Lagartas de terceiro instar, sem amputações ou malformações aparentes, foram utilizadas nos bioensaios.

2.2. Bioensaio de concentração-mortalidade

O inseticida indoxacarbe (Avatar®; 150 g i.a. L⁻¹; DuPont Brasil SA; Alphaville, Barueri, São Paulo) foi diluído em série, obtendo-se seis concentrações: 0,15, 0,29, 0,59, 1,17, 2,34, 4,69 mg mL⁻¹, além do controle com água destilada. Cada concentração (1µL) foi aplicada sobre 1 g de dieta artificial. Trinta lagartas de terceiro instar foram individualizadas em placas de Petri (9 × 2,5 cm) e utilizadas por concentração. O número de lagartas mortas foi registrado em intervalos de oito horas por três dias após a exposição a indoxacarbe.

2.3. Bioensaio de tempo-mortalidade

Lagartas de terceiro instar de *A. gemmatalis* foram individualizadas em placas de Petri e expostas às concentrações letais do indoxacarbe (CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀), as quais foram determinadas no bioensaio de concentração-mortalidade, além do controle com água destilada. Os procedimentos de exposição, condições e número de insetos foram os mesmos descritos no bioensaio de concentração-mortalidade. O número de insetos vivos foi registrado em intervalos de oito horas por três dias.

2.4. Taxa de respiração

Bioensaios de taxa de respiração foram conduzidos por 3 h em lagartas de terceiro instar de *A. gemmatalis* após exposição ao indoxacarbe (CL₅₀ e CL₉₀) e aqueles tratados com água destilada utilizados como controle. A produção de

dióxido de carbono (CO₂) (μL de CO₂ h⁻¹/inseto) foi medida com respirômetro do tipo Analisador de CO₂ TR3C (Sable System International, Las Vegas, EUA) (Plata-Rueda et al., 2017). Uma lagarta de *A. gemmatalis* foi colocada por câmara respirométrica (25 mL) conectada a um sistema fechado. A produção de CO₂ foi medida após a aclimação dos insetos por 12 h a 27 ± 2 °C. O gás oxigênio comprimido (99,99% puro) foi passado através da câmara a um fluxo de 100 mL min⁻¹ por dois minutos para quantificar o CO₂ produzido na câmara. Este fluxo de ar força as moléculas de CO₂ produzidas a passarem por um leitor de infravermelho acoplado ao sistema, permitindo uma medição contínua do CO₂ produzido pelos insetos em cada câmara. Lagartas de *A. gemmatalis*, antes e após o experimento, foram pesadas em balança analítica (Sartorius BP 210D, Göttingen, Alemanha). Quinze repetições foram usadas por tratamento (CL₅₀ e CL₉₀) e no controle em delineamento inteiramente casualizado.

2.5. Comportamento locomotor

Lagartas de *A. gemmatalis* foram colocadas por placa de Petri (90 × 20 mm) com disco de papel de filtro recobrindo o fundo. Os bioensaios de resposta comportamental foram realizados em arenas metade tratadas com 1 mL da CL₅₀ ou CL₉₀ do inseticida dissolvido de acordo com o tratamento, enquanto a outra metade foi tratada apenas com água destilada como controle. Uma lagarta de *A. gemmatalis* foi liberada no centro da arena com a metade tratada com inseticida (no papel filtro) e mantida por 10 min. Vinte insetos foram usados por concentração letal em delineamento inteiramente casualizado. A atividade locomotora de cada inseto na arena foi gravada com filmadora digital (XL1 3CCD NTSC, Canon, Lake Success, NY, EUA) equipada com lente de vídeo 16× (ZoomXL 5.5-88 mm, Canon). A distância de caminamento e o tempo parado

dos insetos foram registrados com sistema de rastreamento de vídeo (ViewPoint LifeSciences, Montreal, Quebec, Canadá). Insetos que gastaram <1 s ou 50% do tempo na metade da superfície tratada da arena com inseticida foram considerados repelidos ou irritados, respectivamente (Plata-Rueda et al., 2019b).

2.6. Análise estatística

Os dados de concentração-mortalidade foram submetidos à análise probit, gerando uma curva de concentração-mortalidade (Finney, 1964). Os dados de tempo-mortalidade foram submetidos à análise de sobrevivência usando o estimador Kaplan-Meier (teste log-rank) através do software Origin Pro v. 9.1. (OriginLab Corporation, 2013). Dados das lagartas que sobreviveram até o final do experimento foram tratados como censurados e aqueles do comportamento locomotor e a taxa de respiração à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey (HSD) em nível de significância de 5%. Dados do comportamento locomotor e taxa de respiração foram transformados em arco seno para satisfazer pressuposições de normalidade e homocedasticidade. Dados dos bioensaios de concentração-mortalidade, taxa de respiração e comportamento locomotor foram analisados usando o SAS para Windows v. 9.0. (SAS Institute, 2002).

3. Resultados

3.1. Bioensaio de concentração-mortalidade

As concentrações letais do indoxacarbe ($\chi^2= 64,24$, GL= 5, $P < 0,0001$) (Tab. 1) foram tóxicas para *A. gemmatalis* com $CL_{25}= 1,31$ (0,92–1,57) mg mL⁻¹, $CL_{50}= 1,93$ (1,69–2,13) mg mL⁻¹, $CL_{75}= 2,55$ (2,34–2,82) mg mL⁻¹ e $CL_{90}= 3,17$

(2,89–3,60) mg mL⁻¹ para lagartas de terceiro instar (Fig. 1). A mortalidade foi menor que 1% no controle.

3.2. Bioensaio de tempo-mortalidade

A sobrevivência de lagartas de *A. gemmatalis*, expostas ao indoxacarbe, diferiu entre as concentrações estimadas desse inseticida, pelo estimador Kaplan-Meier (teste log-rank: $\chi^2= 54,86$, GL= 4, $P < 0,0001$) (Fig. 2). A sobrevivência foi de 83%, 64%, 40%, 16% e de 8%, após 72 horas, para lagartas do controle e para aquelas expostas às CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀ do inseticida indoxacarbe, respectivamente. Redução da sobrevivência foi observada oito horas após a exposição às concentrações letais CL₇₅ e CL₉₀ do indoxacarbe.

3.3. Taxa de respiração

A taxa de respiração das lagartas, que ingeriram dieta com indoxacarbe, diferiu do controle ($F_{2,48}= 5,47$; $P < 0,001$). O indoxacarbe reduziu a taxa de respiração de *A. gemmatalis* após uma e três horas de exposição as CL₅₀ e CL₉₀ (Fig. 3).

3.4. Comportamento locomotor

A distância de caminhamento pelas lagartas foi maior no controle que em arenas com concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) de indoxacarbe ($F_{2,15}= 1,79$; $P < 0,0001$) (Fig. 5A). Lagartas permaneceram por maior tempo paradas na CL₉₀ que no controle ($F_{2,15}= 1,61$; $P < 0,001$) (Fig. 5B).

4. Discussão

O indoxacarbe é tóxico para lagartas de *A. gemmatalis*, com forte efeito por ingestão [CL₅₀= 1,93 (1,69–2,13) mg mL⁻¹], como relatado para *Trichoplusia ni* Hübner (Hemiptera: Noctuidae), *Plutella xylostella* Linnaeus (Plutellidae),

Helicoverpa armigera Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e *Crysoideixis includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) (Hannig et al., 2009; Cui et al., 2018; Ramos et al., 2018). Após a ingestão, o indoxacarbe é bioativado, por enzimas (esterases/amidases), no metabólito *N*-descarbometoxilado (DCJW), que impede a entrada de sódio nos neurônios (Gondhalekar et al., 2016; Zhang et al., 2016), induzindo sintomas de neurointoxicação como convulsões, paralisção locomotora, fago-inibição e morte do inseto (Wing et al., 2000; Tillman et al., 2002; Li et al., 2018).

A mortalidade em lagartas de *A. gemmatalis*, após oito horas da exposição ao indoxacarbe é semelhante à relatada para *Trichoplusia ni* (Noctuidae), *Helicoverpa zea* (Noctuidae), *Plutella xylostella* (Plutellidae), *Spodoptera exigua* (Noctuidae) e *Helicoverpa armigera* (Noctuidae) (Hannig et al., 2009; Bird et al., 2020). Os diferentes efeitos das concentrações letais no tempo-mortalidade podem estar associados à quantidade de indoxacarbe necessária para induzir neurotoxicidade aguda ou crônica (Martínez et al., 2019), de acordo com a exposição (oral ou contato) (Wing et al., 2000; Martínez et al., 2014). O rápido efeito de indoxacarbe contra lagartas de *A. gemmatalis*, com redução da população de inseto, durante os primeiros dias de infestação é essencial para a proteção das culturas (Plata-Rueda et al., 2020a).

A redução da taxa de respiração de *A. gemmatalis* até 3 h após a exposição ao indoxacarbe indica estresse fisiológico (Castro et al., 2020) e pode reduzir a energia das funções fisiológicas necessárias para produzir os mecanismos de defesa contra compostos tóxicos (Fiaz et al., 2018a; Brügger et al., 2019). Baixas taxas de respiração aumentam o custo de aptidão, pois recursos e energia devem ser realocados em detrimento de outros processos metabólicos (Fiaz et al., 2018b;

Plata-Rueda et al., 2019a), prejudicando a atividade muscular e causando paralisia permanente (Brügger et al., 2019; Plata-Rueda et al., 2019b). As baixas taxas de respiração de *A. gemmatalis*, expostas ao indoxacarbe, aumentam os custos de performance e a realocação de energia afetando outros processos fisiológicos. Esses efeitos negativos favorecem o uso de indoxacarbe para controlar *A. gemmatalis*.

A menor distância percorrida e o maior tempo parado por lagartas de *A. gemmatalis* com a CL₅₀ e CL₉₀ de indoxacarbe podem ser devido a ação desse inseticida no sistema nervoso, podendo estimular ou reduzir a mobilidade de insetos (Plata-Rueda et al., 2020a; Hannig et al., 2009; Zhu et al., 2013). A repelência de *A. gemmatalis* pelo indoxacarbe pode estar associada aos mecanismos respiratórios do inseto (Plata-Rueda et al., 2019a). Os inseticidas inalados por insetos são transportados para diferentes tecidos através da rede de traquéias e traquéolas, atingindo seu local de ação (Martínez et al., 2015; Plata-Rueda et al., 2020b). Respostas comportamentais de insetos expostos a inseticidas são alteradas (Plata-Rueda et al., 2019a) e o mesmos tendem a deixar ambientes com compostos tóxicos (Desneux et al., 2007; Fiaz et al., 2018b). A repelência de lagartas de *A. gemmatalis*, pelo indoxacarbe, sugere que o uso desse inseticida pode ser uma abordagem inovadora para controlar esta praga com manipulação de seu comportamento de forrageamento.

O indoxacarbe é tóxico quando ingerido por lagartas de *A. gemmatalis* causando alta mortalidade e efeitos deletérios na taxa de respiração e comportamento locomotor das mesmas. Portanto, os efeitos causados pelo indoxacarbe em *A. gemmatalis* são suficientes para reduzir a sobrevivência desse inseto.

5. Referências

- AGROFIT. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 09 nov. 2020.
- Bengyella L, Yekwa EL, Iftikhar S, Nawaz K, Robinson CJ, Dobgima JF, Ernest T, Pranab R. (2018). Global challenges faced by engineered *Bacillus thuringiensis* Cry genes in soybean (*Glycine max* L.) in the twenty-first century. 3 Biotechnology 8: 464.
- Bilal, M, Xu C, Cao L, Zhao P, Cao C, Li F, Huang Q (2020). Indoxacarb-loaded fluorescent mesoporous silica nanoparticles for effective control of *Plutella xylostella* L. with decreased detoxification enzymes activities. Pest Management Science 76: 3749–3758.
- Bird LJ. (2017). Genetics, cross-resistance and synergism of indoxacarb resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Pest Management Science 73: 575–581.
- Bird LJ, Drynan LJ, Walker PW. (2020). Relative fitness and stability of resistance in a near-isogenic strain of indoxacarb resistant *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Pest Management Science 76: 4077–4085.
- Brier HB, Murray DAH, Wilson LJ, Nicholas AH, Miles MM, Grundy PR, McLennan AJ. (2008). An overview of integrated pest management (IPM) in north-eastern Australian grain farming systems: past, present and future prospects. Australian Journal of Experimental Agriculture 48: 1574–1593.
- Brügger BP, Martínez LC, Plata-Rueda A, Castro BMDC, Soares MA, Wilcken CF, Zaniccio JC. (2019). Bioactivity of the *Cymbopogon citratus* (Poaceae)

- essential oil and its terpenoid constituents on the predatory bug, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific Reports* 9: 835–838.
- Bueno AF, Panizzi AR, Hunt TE, Dourado PM, Pitta RM, Gonçalves J. (2020). Challenges for adoption of integrated pest management (IPM): the soybean example. *Neotropical Entomology*. <https://doi.org/10.1007/s13744-020-00792-9>.
- Caballero JP, Murillo L, Lista O, Bastiatc G, Flochlay-Sigognaultd A, Guerinod F, Lefrançoisa C, Lautramc N, Lapieda B, Ataire-Marchaisa V. (2019). Nanoencapsulated deltamethrin as synergistic agent potentiates insecticide effect of indoxacarb through an unusual neuronal calcium-dependent mechanism. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 157: 1–12.
- Carneiro E, Silva LB, da Silva AF, Lopes GN, Pavan BE, Rodrigues RHF, Mielezrski DF. (2018). Lepidopteran pests associated with the soybean cultivars phenology. *Bioscience Journal* 34: 112–121.
- Castro AA, Corrêa AS, Legaspi JC, Guedes RNC, Serrão JE, Zanuncio JC. (2013). Survival and behavior of the insecticide-exposed predators *Podisus nigrispinus* and *Supputius cincticeps* (Heteroptera: Pentatomidae). *Chemosphere* 93: 1043–1050.
- Castro BMDC, Martínez LC, Plata-Rueda A, Soares MA, Wilcken CF, Zanuncio AJV, Serrão JE. (2020). Exposure to chlorantraniliprole reduces locomotion, respiration, and causes histological changes in the midgut of velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemosphere* 263: 128008.
- Cui L, Wang Q, Qi H, Wang Q, Yuan H, Rui C. (2018). Resistance selection of indoxacarb in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae):

- Cross-resistance, biochemical mechanisms and associated fitness costs. *Pest Management Science* 74: 2636–2644.
- Desneux N, Decourtye A, Delpuech J. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52: 81–106.
- Fiaz M, Martínez LC, da Silva MC, Cossolin JFS, Plata-Rueda A, Gonçalves WG, Serrão JE. (2018a). Squamocin induce histological and ultrastructural changes in the midgut cells of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 156: 1–8.
- Fiaz M, Martínez LC, Plata-Rueda A, Gonçalves WG, Shareef M, Zanuncio JC, Serrão JE. (2018b). Toxicological and morphological effects of tebufenozide on *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Chemosphere* 212: 337–345.
- Finney D.J (1964). *Probit Analysis*. Cambridge University Press.
- Gondhalekar AD, Nakayasu ES, Silva I, Cooper B, Scharf ME. (2016). Indoxacarb biotransformation in the German cockroach. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 134: 14–23.
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA. (1976). Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology* 69: 487–488.
- Hannig GT, Ziegler M, Marçon PG. (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.
- Hurley TM, Mitchell PD. (2020). The value of insect management to US maize, soybean and cotton farmers. *Pest Management Science* 76: 4159–4172.

- Li B, Li H, Pang X, Cui K, Lin J, Liu F, Mu W. (2018). Quaternary ammonium cationic surfactants increase bioactivity of indoxacarb on pests and toxicological risk to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 149: 190–196.
- Martínez LC, Plata-Rueda A, Zanuncio JC, Serrao JE. (2014). Comparative toxicity of six insecticides on the rhinoceros beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). *Florida Entomologist* 97: 1056–1062.
- Martínez L C, Plata-Rueda A, Zanuncio JC, Serrao JE. (2015). Bioactivity of six plant extracts on adults of *Demotispia neivai* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Insect Science* 15: 34.
- Martínez LC, Plata-Rueda A, Rodríguez-Dimate FA, Campos JM, Santos Júnior VCD, Rolim GDS, Fernandes FL, Silva WM, Wilcken CF, Zanuncio JC, Serrão JE, (2019). Exposure to insecticides reduces populations of *Rhynchophorus palmarum* in oil palm plantations with Bud Rot disease. *Insects* 10: 111.
- Morales SI, Martínez AM, Viñuela E, Figueroa JI, Tamayo F, Rodríguez-Leyva E, Pineda S. (2020). Parasitism, host feeding, and transgenerational effects of three insecticides on the eulophid parasitoid *Tamarixia triozae* when exposed in the immature stages. *Environmental Science and Pollution Research* 27: 19473–19483.
- Mushtaq R, Behle R, Liu R, Niu L, Song P, Shakoori AR, Jurat-Fuentes JL. (2017). Activity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ie2, Cry2Ac7, Vip3Aa11 and Cry7Ab3 proteins against *Anticarsia gemmatalis*, *Chrysodeixis includens* and *Ceratoma trifurcata*. *Journal of Invertebrate Pathology* 150: 70–72.

Originlab Corporation. (2013). OriginPro v. 9.0.0 SR2 b87. Originlab Corporation. Northampton, MA: Originlab Corporation (<http://www.OriginLab.com>).

Plata-Rueda A, Martínez LC, dos Santos MH, Fernandes FL, Wilcken CF, Soares MA, Serrão JE, Zanuncio JC. (2017). Insecticidal activity of garlic essential oil and their constituents against the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). *Scientific Reports* 7: 46406.

Plata-Rueda A, Martínez LC, Costa NCR, Zanuncio JC, de Sena Fernandes ME, Serrão JE, Fernandes FL. (2019a). Chlorantraniliprole-mediated effects on survival, walking abilities, and respiration in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172: 53–58.

Plata-Rueda A, Martínez LC, Da Silva BKR, Zanuncio JC, Fernandes MEDS, Guedes RNC, Fernandes FL. (2019b). Exposure to cyantraniliprole causes mortality and disturbs behavioral and respiratory responses in the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). *Pest Management Science* 75: 2236–2241.

Plata-Rueda A, Martínez LC, da Silva Rolim G, Coelho RP, Santos MH, de Souza Tavares W, Serrão JE. (2020a). Insecticidal and repellent activities of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoids (citral and geranyl acetate) against *Ulomoides dermestoides*. *Crop Protection* 137: 105299.

Plata-Rueda A, de Menezes CHM, dos Santos Cunha W, Alvarenga TM, Barbosa BF, Zanuncio JC, Serrão JE. (2020b). Side-effects caused by chlorpyrifos in

- the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemosphere* 259: 127530.
- Ramos RS, Araújo VC, Pereira RR, Martins JC, Queiroz OS, Silva RS, Picanço MC. (2018). Investigation of the lethal and behavioral effects of commercial insecticides on the parasitoid wasp *Copidosoma truncatellum*. *Chemosphere* 191: 770–778.
- SAS Institute. (2002). The SAS System for Windows, release 9.0. SAS Institute, Cary, N.C.
- Schneider M, Smaghe G, Pineda S, Viñuela E. (2008). The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hym., Ichneumonidae): pharmacokinetics approach. *Ecotoxicology* 17: 181–188.
- Shi L, Gui T, Zhao S, Xu J, Wang F, Sui C, Hu D. (2018). Degradation and residues of indoxacarb enantiomers in rice plant, rice hull and brown rice using enriched S-indoxacarb formulation and enantiopure formulation. *Biomedical Chromatography* 32: e4301.
- Silva Júnior NR, Vital CE, Almeida Barros R, Faustino VA, Monteiro LP, Barros E, de Oliveira MGA. (2020). Intestinal proteolytic profile changes during larval development of *Anticarsia gemmatalis* caterpillars. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 103: e21631.
- Tillman PG, Hammes GG, Sacher M, Connair M, Brady EA, Wing KD. (2002). Toxicity of a formulation of the insecticide indoxacarb to the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae), and the big-eyed bug, *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae). *Pest Management Science* 58: 92–100.

- Wing KD, Sacher M, Kagaya Y, Tsurubuchi Y, Mulderig L, Connair M, Schnee M. (2000). Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection* 19: 537–545.
- Zhang Y, Du Y, Jiang D, Behnke C, Nomura Y, Zhorov BS, Dong K. (2016). The receptor site and mechanism of action of sodium channel blocker insecticides. *Journal of Biological Chemistry* 38: jbc-M116.
- Zhang S, Zhang X, Shen J, Li D, Wan H, You H, Li J. (2017). Cross-resistance and biochemical mechanisms of resistance to indoxacarb in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 140: 85–89.
- Zhu G, Petersen MJ, Liu G, Peck DC. (2013). Imidacloprid as a contact arrestant for larvae of the European chafer, *Amphimallon majale*. *Pest Management Science* 69: 483–492.

6. Tabela

Tabela 1. Concentrações letais do indoxacarbe para lagartas de terceiro instar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)

¹ CL	² VE (mg mL ⁻¹)	³ IC (mg mL ⁻¹)	⁴ χ^2
25	1,31	0,92–1,57	
50	1,93	1,69–2,13	
75	2,55	2,34–2,82	64,24
90	3,17	2,89–3,60	

Concentrações letais ¹CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀ causando 25, 50, 75 e 90% de mortalidade; ²VE, valor estimado, ³IC, intervalo de confiança, ⁴ χ^2 , valor do qui-quadrado para concentrações letais e limites fiduciais baseados em uma escala logarítmica em nível de significância de $P < 0,001$.

7. Figuras

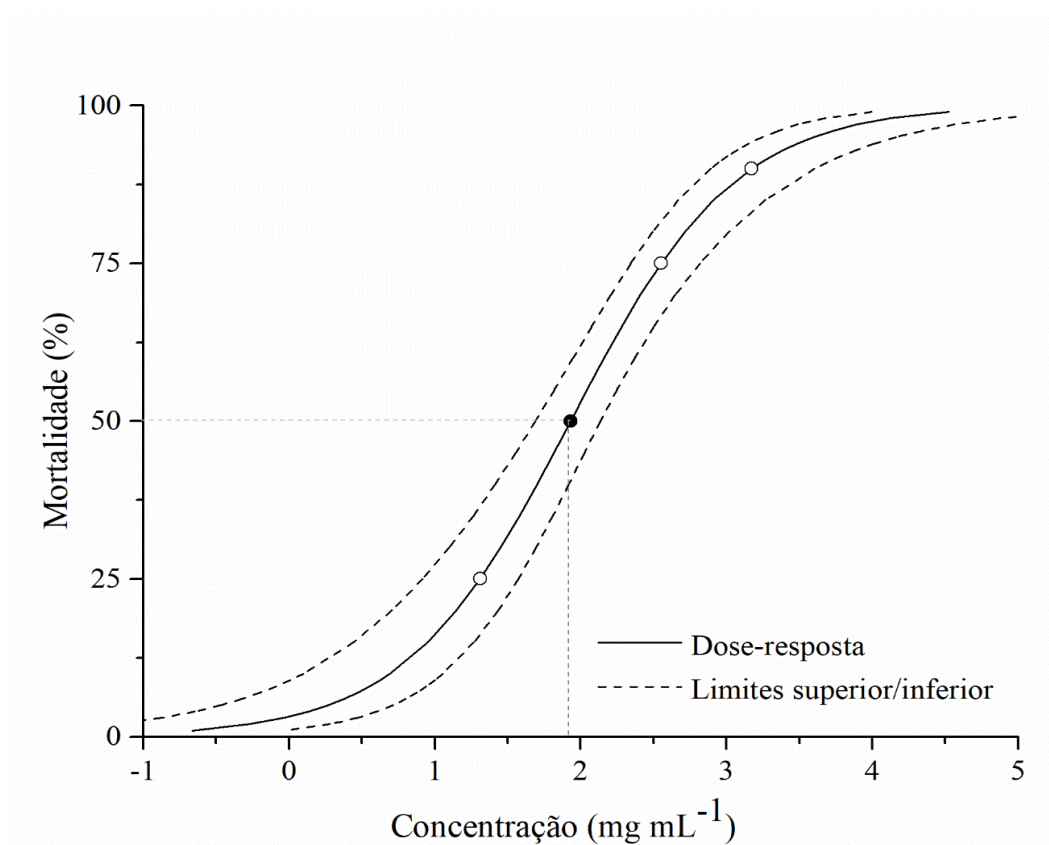


Figura 1. Curva de mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) expostas a diferentes concentrações letais do indoxacarbe. Ponto preto representa a concentração letal (CL₅₀) estimada pela análise probit. Linhas pontilhadas delimitam os intervalos de confiança de 95%.

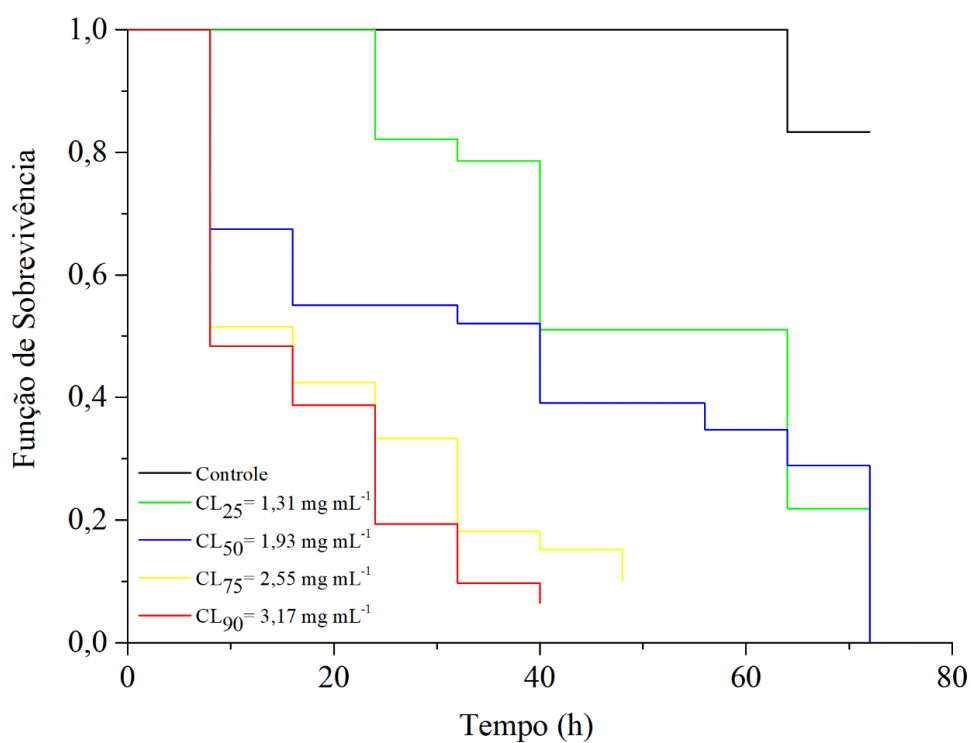


Figura 2. Curvas de sobrevivência para lagartas de terceiro instar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) expostas a diferentes concentrações de indoxacarbe por 72 h usando o método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste log-rank (log-rank $\chi^2 = 54,86$; $P < 0,0001$).

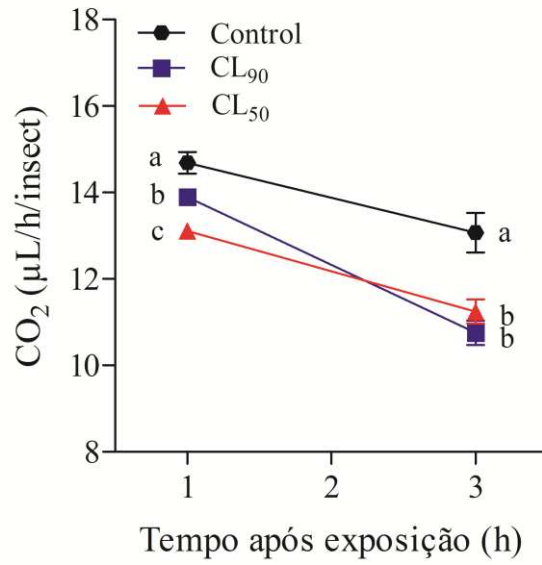


Figura 3. Taxa de respiração (média \pm erro padrão) de lagartas de terceiro instar de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) expostas via ingestão ao indoxacarbe (valores estimados de CL₅₀ e CL₉₀). Médias com letras diferentes no mesmo tempo diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

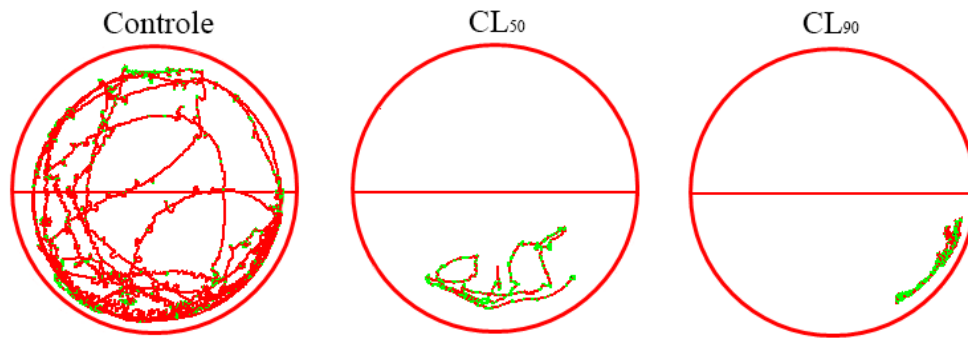


Figura 4. Faixas representativas mostrando a atividade de caminhada de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) por 10 min em arenas de papel de filtro metade impregnadas com indoxacarbe (metade superior de cada arena). Faixas vermelhas representa caminhada em alta velocidade; faixas verdes indicam baixa velocidade.

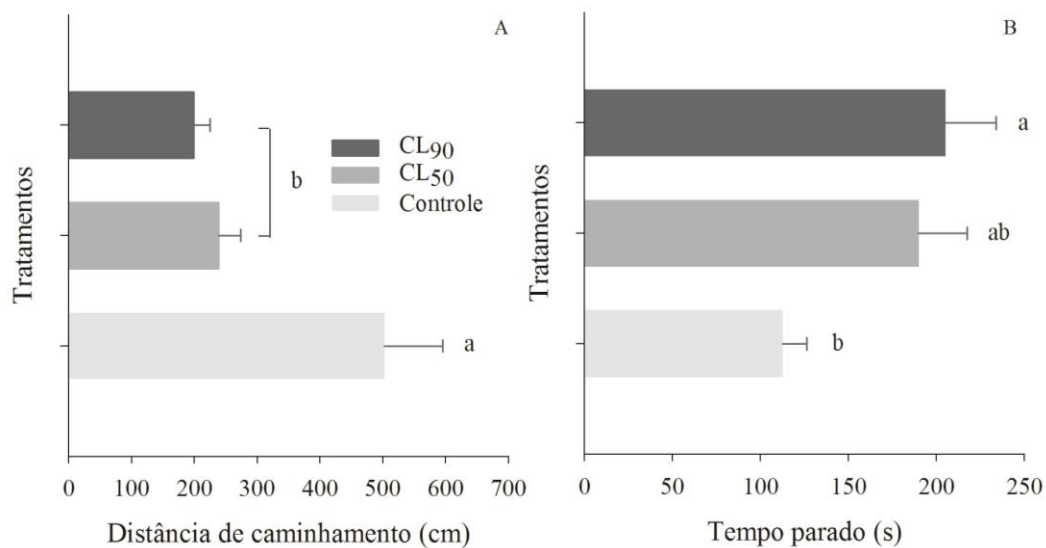


Figura 5. Distância de caminhada (A) e tempo de parado (B) (média \pm erro padrão) durante 10 minutos por lagartas de terceiro instar *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) expostas ao indoxacarbe (valores estimados Controle, CL₅₀ e CL₉₀). Os tratamentos (média \pm erro padrão) diferem em $P < 0,05$ pelo teste de Tukey.

CAPÍTULO 2

Sobrevivência, respiração e comportamento locomotor do percevejo predador *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) mediados pelo inseticida indoxacarbe

Resumo: A seletividade de inseticidas a inimigos naturais é importante para o Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois esses compostos podem causar efeitos colaterais em organismos não-alvo. O objetivo foi avaliar a toxicidade do indoxacarbe e alterações na sobrevivência, taxa de respiração e respostas comportamentais de adultos de *P. distinctus* mediados por esse inseticida. O indoxacarbe foi tóxico para adultos de *P. distinctus* ($CL_{50} = 4,98 \text{ mg mL}^{-1}$ e $CL_{90} = 11,09 \text{ mg mL}^{-1}$) com sobrevivência de 100% sem exposição a esse inseticida e de 56% e 19% naqueles expostos ao indoxacarbe nas CL_{50} e CL_{90} , respectivamente. A mobilidade de *P. distinctus* foi maior nas arenas tratadas com o inseticida. Esse inseticida não reduziu a taxa de respiração de *P. distinctus* por até 3 horas após a exposição ao mesmo, mas causou hiperatividade nesse predador. O indoxacarbe causou efeitos letais e subletais em *P. distinctus* e, portanto, não deve ser recomendado, com esse predador, no manejo integrado de insetos-praga agrícolas e florestais.

Palavras-chave: Controle biológico, inimigo natural, organismo não-alvo, oxadiazinas, resposta comportamental.

1. Introdução

Podisus distinctus Stål (Heteroptera: Pentatomidae), inseto predador generalista, agressivo, com alta voracidade e zoofitófago, tem potencial para o manejo de lagartas desfolhadoras em plantações agrícolas e florestais (Martínez et al., 2015; Tavares et al., 2017; Pires et al., 2020). A biologia e a ecologia de *P. distinctus*, incluindo seu desenvolvimento (Lacerda et al., 2004), morfologia (Sá et al., 2013), reprodução (Zanuncio et al., 2013), alimentação (Tavares et al., 2017) e ultraestrutura das glândulas salivares (Martínez et al., 2015) foram estudados.

A compatibilidade dos inseticidas com inimigos naturais é fundamental em programas de Manejo Integrado de Pragas (Zanuncio et al., 2016; Torres et al., 2018; Suárez-López et al., 2020). O controle químico é o método mais usado no manejo de insetos-praga (Pazzini, 2013; Li et al., 2020), mas problemas relacionados ao uso de inseticidas, como a toxicidade aguda contra inimigos naturais (Martínez et al., 2018; Machado et al., 2019), pode limitar o uso desses compostos. Além disso, inseticidas podem não causar a morte, mas provocar efeitos adversos na fisiologia e comportamento dos insetos (Desneux et al., 2007; Torres et al., 2018). A busca por inseticidas mais seguros a saúde humana e ao meio ambiente tem resultado no desenvolvimento de compostos específicos para pragas e seletivos a organismos não-alvo (Ribeiro et al., 2015; Fernandes et al., 2016; Ricupero et al., 2020).

Insetos predadores, com tolerância a inseticidas, tem maior potencial em programas de MIP (Zanuncio et al., 2011; Rodrigues et al., 2013; Mansoor et al., 2020). O indoxacarbe é tóxico a lepidópteros pragas como *Helicoverpa armigera* Hübner, *Chrysodeixis includens* Walker, *Spodoptera frugiperda* Smith e

Spodoptera littoralis Boisduval (Noctuidae) (Agrofit, 2020; Cui et al., 2018; Othman et al., 2020), os quais são presas naturais de *P. distinctus* em culturas agrícolas e florestais. Por outro lado, o indoxacarbe pode causar efeitos letais e subletais em insetos predadores (Silva et al., 2017; Shan et al., 2020).

Indoxacarbe e outras oxadiazinias causam paralisia em insetos por interromperem a transmissão de impulsos nervosos devido à ação sobre os canais de sódio dependentes de voltagem (Wing et al., 1998, 2000; Gondhalekar et al., 2016). Efeitos tóxicos causados pelo indoxacarbe não foram estudados em *P. distinctus* e a sobrevivência, taxa de respiração e comportamento locomotor de insetos predadores, expostos ao inseticida indoxacarbe, precisam ser melhor estudados.

O objetivo foi avaliar a toxicidade do indoxacarbe e alterações na sobrevivência, taxa de respiração e respostas comportamentais de adultos de *P. distinctus* mediados por esse inseticida.

2. Material e métodos

2.1. Insetos

Podisus distinctus e *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) foram obtidas da criação massal do Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LCBI) do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa em Viçosa, Minas Gerais, Brasil e mantidos a 25 ± 2 °C em $70 \pm 10\%$ de umidade relativa com fotofase de 12 horas. Adultos de *P. distinctus* foram alimentados com pupas de *T. molitor* e folhas de *Eucalyptus grandis* (W. Hill ex. Maiden) *ad libitum*. Larvas de *T. molitor* foram alimentadas com farelo de trigo e frutos de *Sechium edule* (Jacq.)

Swartz até a fase pupal. Pupas de *T. molitor* foram mantidas em bandejas plásticas (60 × 40 × 12 cm). Adultos saudáveis, sem amputações aparentes, de *P. distinctus* e pupas de *T. molitor* foram usados nos bioensaios.

2.2. Bioensaio de concentração-mortalidade

O inseticida, indoxacarbe (Avatar[®]; 150 g i.a. L⁻¹; DuPont Brasil SA; Alphaville - Barueri - SP) foi diluído em série, obtendo-se seis concentrações 2,34, 4,69, 9,38, 18,75, 37,50 e 75 mg mL⁻¹, para avaliar sua toxicidade e determinar as concentrações letais (CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀). Água destilada foi usada como controle negativo. Aliquota de 1 µL foi aplicada no tórax de adultos de *P. distinctus*, com uma micropipeta. Uma pupa de *T. molitor* foi colocada por tubo de vidro (2 × 10 cm) como fonte de alimento para um adulto de *P. distinctus*. Trinta adultos de *P. distinctus* foram utilizados por concentração e o número de insetos mortos contabilizado 72 h após a exposição ao indoxacarbe.

2.3. Bioensaio de tempo-mortalidade

Os adultos de *P. distinctus* foram individualizados em tubos de vidro (2 × 10 cm), de acordo com o bioensaio concentração-mortalidade, e expostos às concentrações letais do indoxacarbe (CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀) além da testemunha com água destilada. Os procedimentos de exposição, condições e número de insetos foram os mesmos descritos no bioensaio de concentração-mortalidade. Trinta adultos foram utilizados por concentração do inseticida em delineamento inteiramente casualizado. O número de insetos vivos foi registrado em intervalos de oito horas durante três dias.

2.4. Taxa de respiração

Os bioensaios de taxa de respiração foram conduzidos por 3 h com adultos de *P. distinctus* após exposição às concentrações CL₅₀ e CL₉₀ do indoxacarbe de

acordo com os procedimentos na seção 2.2. Insetos tratados com água destilada foram utilizados no controle. A produção de dióxido de carbono (CO₂) (μL CO₂ h⁻¹/inseto) foi medida em respirômetro do tipo analisador de CO₂ TR3C (Sable System International, Las Vegas, NE, EUA) (Plata-Rueda et al., 2019). Um adulto de *P. distinctus* foi colocado por câmara respirométrica (25 mL) conectada a um sistema fechado. A produção de CO₂ foi medida após aclimação dos insetos por 12 h a 27 ± 2 °C. O gás oxigênio comprimido (99,99% puro) foi passado pela câmara a uma taxa de fluxo de 100 mL min⁻¹ por dois minutos para quantificar o CO₂ produzido. O fluxo de ar força as moléculas de CO₂ produzidas a passarem por um leitor de infravermelho acoplado ao sistema, medindo continuamente a produção desse gás pelos insetos na câmara. Adultos de *P. distinctus* foram pesados, antes e após o experimento, em balança analítica (Sartorius BP 210D, Göttingen, Alemanha). Quinze repetições foram utilizadas por concentração (CL₅₀ e CL₉₀) e no controle em delineamento inteiramente casualizado.

2.5. Comportamento locomotor

Adultos de *Podisus distinctus* foram colocados em placas de Petri (90 × 20 mm) com um disco de papel de filtro. Os bioensaios de resposta comportamental foram realizados em arenas metade tratadas com 1 mL da CL₅₀ ou da CL₉₀ do inseticida dissolvido de acordo com o tratamento, enquanto a outra metade foi tratada, apenas, com água destilada como controle. Um adulto de *P. distinctus* foi liberado no centro da placa de Petri (sobre o papel de filtro) e avaliado por 10 min. Vinte insetos foram usados por concentração letal em delineamento inteiramente casualizado. O movimento de cada inseto dentro da placa de Petri foi registrado com uma filmadora digital (XL1 3CCD NTSC, Canon, Lake Success, NY, EUA) equipada com lente de vídeo 16 × (ZoomXL 5,5–88 mm, Canon). A

distância de caminhada e o tempo parado de cada inseto foram obtidos com sistema de rastreamento de vídeo (View Point Life Sciences, Montreal, Quebec, Canadá). Os insetos que passaram <1 s ou <50% do período na metade da arena tratada com inseticida foram considerados repelidos e irritados, respectivamente (Plata-Rueda et al., 2019).

2.6. Análise estatística

Os dados de concentração-mortalidade foram submetidos à análise probit, gerando uma curva concentração-mortalidade (Finney, 1964). Os dados de tempo-mortalidade foram submetidos à análise de sobrevivência usando o estimador Kaplan-Meier (teste log-rank) através do software Origin Pro v. 9.1. (OriginLab Corporation, 2013). Dados dos insetos que sobreviveram até o final do experimento foram tratados como censurados e aqueles do comportamento locomotor e da taxa de respiração à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey (HSD) em nível de significância de 5%. Dados do comportamento locomotor e taxa de respiração foram transformados em arco seno para satisfazer as pressuposições de normalidade e homocedasticidade. Dados dos bioensaios de concentração-mortalidade, taxa de respiração e comportamento locomotor foram analisados usando o SAS para Windows v. 9.0. (SAS Institute, 2002).

3. Resultados

3.1. Bioensaio de concentração-mortalidade

As concentrações letais do indoxacarbe ($\chi^2= 81,69$, GL= 5, $P < 0,001$) (Tabela 1) foram tóxicas à *P. distinctus* com $CL_{25}= 3,33 \text{ mg mL}^{-1}$, $CL_{50}= 4,98 \text{ mg}$

mL⁻¹, CL₇₅= 7,43 mg mL⁻¹ e CL₉₀= 11,09 mg mL⁻¹ para adultos desse predador (Figura 1). A mortalidade foi menor que 1% no controle.

3.2. Bioensaio de tempo-mortalidade

A sobrevivência de adultos de *P. distinctus*, expostos ao indoxacarbe, diferiu entre tratamentos ($\chi^2 = 16,67$, GL= 4, $P < 0,01$) (Fig. 1 B) com 100% no controle e 67%, 56%, 58% e 19% com as CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀, respectivamente, após 72 horas.

3.3. Taxa de respiração

A taxa de respiração de *P. distinctus*, exposto as concentrações CL₅₀ e CL₉₀ do indoxacarbe, não diferiu do controle entre uma e três horas após a exposição à esse inseticida ($F_{2,48} = 0,14$; $P = 0,87$) (Figura 3).

3.4. Comportamento locomotor

A distância de caminhada pelos adultos de *P. distinctus* foi menor no controle que nas arenas tratadas com as concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) do indoxacarbe ($F_{2,15} = 13,55$; $P < 0,001$). Os insetos permaneceram menor tempo parado nas concentrações CL₅₀ e CL₉₀ deste inseticida, que no controle ($F_{2,15} = 5,95$; $P < 0,01$) (Figuras 4 e 5).

4. Discussão

O inseticida indoxacarbe é tóxico ao percevejo predador *P. distinctus*, com CL₅₀= 4,98 mg mL⁻¹ (4,22–5,69 mg mL⁻¹), diminuindo a sobrevivência e alterando a taxa de respiração e o comportamento locomotor desse predador. A susceptibilidade a inseticidas depende da via de exposição e do estágio de desenvolvimento (Wing et al., 2000; Desneux et al., 2007; Fogel et al., 2013). A toxicidade de indoxacarbe a *P. distinctus*, em diferentes concentrações, é

semelhante a relatada para os predadores *Macrolophus pygmaeus* Rambur, *Nesidiocoris tenuis* Reuter e *Chrysoperla genanigra* Freitas (Arnó & Gabarra, 2011; Silva et al., 2017; Asma et al., 2018). O indoxacarbe bloqueia os canais de sódio, reduzindo a transmissão de impulsos nervosos (Wing et al., 2000), induzindo convulsões, paralisação locomotora, fago-inibição e morte (Wing et al., 2000; Wang et al., 2016; Li et al., 2018). O indoxacarbe é eficaz no controle de lepidópteros praga (Zhang et al., 2017), mas não é seletivo para o predador *P. distinctus*.

A sobrevivência de *P. distinctus* indicou a necessidade de longos períodos de exposição, 32 a 72 horas, ao indoxacarbe para causar a mortalidade desse predador. Isso é atribuído a lenta conversão de indoxacarbe em seu metabólito ativo N-descarbometoxilado (DCJW) em percevejos, fator crítico na toxicidade desse inseticida em insetos (Wing et al., 1998; Wing et al., 2000; Silver et al., 2005). A penetração na cutícula e subsequente conversão de indoxacarbe em insetos não-lepidópteros é, relativamente, baixa quando aplicado topicamente; conversão que está correlacionada com o aparecimento de sintomas neurotóxicos (Wing et al., 2000). Os diferentes efeitos das concentrações letais na sobrevivência de *P. distinctus* por período podem estar associados à quantidade de indoxacarbe necessário para induzir neurotoxicidade aguda ou crônica em insetos (Rimoldi et al., 2017; Martínez et al., 2019). A mortalidade de *P. distinctus* foi alta quando exposto a CL₉₀ do indoxacarbe.

A taxa de respiração de adultos de *P. distinctus* não foi reduzida, entre 1 e 3 h, após exposição às concentrações letais de indoxacarbe, indicando baixo custo fisiológico e reduzido impacto na defesa metabólica contra compostos tóxicos por esse predador. O reduzido efeito na taxa de respiração foi, também, relatado para

outros insetos expostos a diferentes inseticidas, como *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae) a azadiractina (Bernardes et al., 2017) e *Plebeia lucii* Moure (Hymenoptera: Apidae) ao espinosade (Marques et al., 2020). A taxa de respiração de adultos de *P. distinctus* não diminuiu após exposição ao indoxacarbe com reduzidos custos de adequação e realocação de energia para outros processos fisiológicos (Plata-Rueda et al., 2020).

A mudança nos padrões de locomoção, causados pelo indoxacarbe, em *P. distinctus* parece ser devido à ação tóxica desse inseticida no sistema nervoso em insetos (Haynes, 1988; Plata-Rueda et al., 2020). Compostos tóxicos podem alterar a resposta comportamental de insetos após a exposição (Xiao et al., 2017; Castro et al., 2018). Adultos expostos a indoxacarbe aumentaram progressivamente a distância de caminhamento e reduziram o tempo parado, indicando hiperatividade locomotora (Alzogaray & Zerba, 2001; Lima et al., 2020; Plata-Rueda et al., 2020). Mudanças comportamentais com as diferentes concentrações de indoxacarbe podem ser devidas ao seu efeito no bloqueio dos canais de sódio dos neurônios que são locais de ação desse inseticida (Wing et al., 2000; Silver et al., 2010). Vários outros estudos relatam hiperatividade em insetos expostos a compostos tóxicos (Alzogaray & Zerba, 2001; Fiaz et al., 2019; Lima et al., 2020; Plata-Rueda et al., 2020).

O indoxacarbe causou alta mortalidade, reduziu a sobrevivência e alterou as respostas comportamentais de *P. distinctus*. O indoxacarbe combinado com esse predador deve ser melhor avaliado no MIP.

5. Referências

- Alzogaray RA, Zerba EN. (2001). Behavioural response of fifth instar nymphs of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) to pyrethroids. *Acta Tropica* 78: 51–57.
- Arnó J, Gabarra R. (2011). Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Pest Science* 84: 513–520.
- Asma C, Ons I, Sabrine BA, Kaouthar LG. (2018). Life-stage-dependent side effects of selected insecticides on *Trichogramma cacoeciae* (Marchal) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory conditions. *Phytoparasitica* 46: 105–113.
- Bernardes RC, Tomé HV, Barbosa WF, Guedes RN, Lima MAP. (2017). Azadirachtin-induced antifeeding in Neotropical stingless bees. *Apidologie* 48: 275–285.
- Castro AA, Legaspi JC, Tavares WDS, Meagher Jr RL, Miller N, Kanga L, Zanon JC. (2018). Lethal and behavioral effects of synthetic and organic insecticides on *Spodoptera exigua* and its predator *Podisus maculiventris*. *PLoS ONE* 13: e0206789.
- Cui L, Wang Q, Qi H, Wang Q, Yuan H, Rui C. (2018). Resistance selection of indoxacarb in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): Cross-resistance, biochemical mechanisms and associated fitness costs. *Pest Management Science* 74: 2636–2644.

- Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52: 81–106.
- Fernandes ME, Alves FM, Pereira RC, Aquino LA, Fernandes FL, Zanuncio JC. (2016). Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. *Chemosphere* 156: 45–55.
- Fiaz M, Martínez LC, Plata-Rueda A, Gonçalves WG, de Souza DLL, Cossolin JFS, Serrão JE. (2019). Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. *PeerJ* 7: e7489.
- Finney, D.J (1964). *Probit Analysis*. Cambridge University Press.
- Fogel MN, Schneider MI, Desneux N, González B, Ronco AE. (2013). Impact of the neonicotinoid acetamiprid on immature stages of the predator *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Ecotoxicology* 22: 1063–1071.
- Gondhalekar AD, Nakayasu ES, Silva I, Cooper B, Scharf ME. (2016). Indoxacarb biotransformation in the German cockroach. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 134: 14–23.
- Haynes KF. (1988). Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Review of Entomology* 33: 149–168.
- Lacerda MC, Ferreira AMRM, Zanuncio TV, Zanuncio JC, Bernardino AS, Espindula MC. (2004). Development and reproduction of *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed on larva of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Brazilian Journal of Biology* 64: 237–242.

- Li J, Huang Q, Liu B. (2020). An SI integrated pest management model with pesticide resistance to susceptible pests. *International Journal of Biomathematics* 13: 2050037.
- Li B, Li H, Pang X, Cui K, Lin J, Liu F, Mu W. (2018). Quaternary ammonium cationic surfactants increase bioactivity of indoxacarb on pests and toxicological risk to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 149: 190–196.
- Lima AP, Santana ED, Santos AC, Silva JE, Ribeiro GT, Pinheiro AM Bacci L. (2020). Insecticide activity of botanical compounds against *Spodoptera frugiperda* and selectivity to the predatory bug *Podisus nigrispinus*. *Crop Protection* 136:105230.
- Machado AV, Potin DM, Torres JB, Torres CSS. (2019). Selective insecticides secure natural enemies action in cotton pest management. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 184: 109669.
- Mansoor MM, Shad SA. (2020). Biochemical mechanism, inheritance and cross-resistance to cyromazine in a non-target *Chrysoperla carnea*: A potential predator of whiteflies and aphids. *Chemosphere* 260: 127620.
- Marques RD, Lima MAP, Bernardes RC. (2020). A spinosad-based formulation reduces the survival and alters the behavior of the stingless bee *Plebeia lucii*. *Neotropical Entomology* 49: 578–585.
- Martínez LC, Zanuncio JC, Morais WC, Plata-Rueda A, Cedeño-Loja PE, Serrão JE. (2015). Ultrastructure of the salivary glands of the stink bug predator *Podisus distinctus*. *Microscopy and Microanalysis* 21: 1514–1522.

- Martínez LC, Plata-Rueda A, da Silva Neves G, Gonçalves WG, Zanuncio JC, Bozdoğan H, Serrão JE. (2018). Permethrin induces histological and cytological changes in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere* 212: 629–637.
- Martínez LC, Plata-Rueda A, Rodríguez-Dimaté FA, Campos JM, Santos Júnior VCD, Rolim GDS, Serrão JE. (2019). Exposure to insecticides reduces populations of *Rhynchophorus palmarum* in oil palm plantations with bud rot disease. *Insects* 10: 111.
- Originlab Corporation. (2013). OriginPro v. 9.0.0 SR2 b87. Originlab Corporation. Northampton, MA: Originlab Corporation (da).
- Othman KSA, Swelam ES, Ahmed FS. (2020). A laboratory study of the toxicity of indoxacarb mixtures against *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *African Entomology* 28: 290–299.
- Plata-Rueda A, Martínez LC, Costa NCR, Zanuncio JC, de Sena Fernandes ME, Serrão JE, Fernandes FL. (2019). Chlorantraniliprole-mediated effects on survival, walking abilities, and respiration in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172: 53–58.
- Plata-Rueda A, de Menezes CHM, dos Santos-Cunha W, Alvarenga TM, Barbosa BF, Zanuncio JC, Serrão JE. (2020). Side-effects caused by chlorpyrifos in the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemosphere* 259: 127530.
- Panizzi AR. (2013). History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. *Neotropical Entomology* 42: 119–127.

- Pires EM, Zanuncio JC, Nogueira RM, Soares MA, de Oliveira MA. (2020). Dispersal of the zoophytophagous predator *Brontocoris tabidus* and *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) in an eucalyptus plantation. *Florida Entomologist* 103: 168–171.
- Ribeiro RC, Zanuncio TV, Ramalho FS, da Silva CAD, Serrão JE, Zanuncio JC. (2015). Feeding and oviposition of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) with sublethal concentrations of ten condiments essential oils. *Industrial Crops and Products* 74: 139–143.
- Ricupero M, Desneux N, Zappalà L, Biondi A. (2020). Target and non-target impact of systemic insecticides on a polyphagous aphid pest and its parasitoid. *Chemosphere* 247: 125728.
- Rimoldi F, Fogel MN, Ronco AE, Schneider MI. (2017). Comparative susceptibility of two Neotropical predators, *Eriopsis connexa* and *Chrysoperla externa*, to acetamiprid and pyriproxyfen: short and long-term effects after egg exposure. *Environmental Pollution* 231: 1042–1050.
- Rodrigues AR, Spindola AF, Torres JB, Siqueira HA, Colares F. (2013). Response of different populations of seven lady beetle species to lambda-cyhalothrin with record of resistance. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 96: 53–60.
- Sá VD, Zanuncio JC, Soares MA, Rosa CS, Serrao JE. (2013). Morphology and post depositional dynamics of eggs of the predator *Podisus distinctus* (Stål) (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae). *Zootaxa* 3641: 282–288.
- SAS Institute. (2002). The SAS System for Windows, release 9.0. SAS Institute, Cary, N.C.

- Silva BKDA, Godoy MSD, Lima AGD, Oliveira AKSD, Pastori PL. (2017). Toxicity of insecticides used in muskmelon on first-instar larvae of *Chrysoperla genanigra* Freitas (Neuroptera: Chrysopidae). *Revista Caatinga* 30: 662–669.
- Silver KS, Soderlund DM. (2005). Action of pyrazoline-type insecticides at neuronal target sites. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 81: 136–143.
- Silver KS, Song W, Nomura Y, Salgado VL, Dong K. (2010). Mechanism of action of sodium channel blocker insecticides (SCBIs) on insect sodium channels. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 97: 87–92.
- Shan YX, Zhu Y, Li JJ, Wang NM, Yu QT, Xue CB. (2020). Acute lethal and sublethal effects of four insecticides on the lacewing (*Chrysoperla sinica* Tjeder). *Chemosphere* 250: 126321.
- Suárez-López YA, Hatem AE, Aldebis HK, Vargas-Osuna E. (2020). Lethal and sublethal effects of lufenuron on the predator *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Crop Protection* 135: 105217.
- Tavares WS, Silva IM, Legaspi JC, Serrão JE, Zanuncio JC. (2017). *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) females are lighter feeding on *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae subjected to ventral nerve cord transection. *Entomologica Americana* 123: 35–41.
- Torres JB, Bueno ADF. (2018). Conservation biological control using selective insecticides—a valuable tool for IPM. *Biological Control* 126: 53–64.
- Wang XL, Su W, Zhang JH, Yang YH, Dong K, Wu YD. (2016). Two novel sodium channel mutations associated with resistance to indoxacarb and

- metaflumizone in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Insect Science* 23: 50–58.
- Wing KD, Schnee ME, Sacher M, Connair M. (1998). A novel oxadiazine insecticide is bioactivated in lepidopteran larvae. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 37: 91–103.
- Wing KD, Sacher M, Kagaya Y, Tsurubuchi Y, Mulderig L, Connair M, Schnee M. (2000). Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection* 19: 537–545.
- Xiao D, Tan X, Wang W, Zhang F, Desneux N, Wang S. (2017). Modification of flight and locomotion performances, respiratory metabolism, and transcriptome expression in the lady beetle *Harmonia axyridis* through sublethal pesticide exposure. *Frontiers in Physiology* 8: 33.
- Zanuncio JC, Jusselino-Filho P, Ribeiro RC, Zanuncio TV, Ramalho FDS, Serrão JE. (2011). Hormetic responses of a stinkbug predator to sublethal doses of pyrethroid. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 87: 608–614.
- Zanuncio JC, Jusselino-Filho P, Ribeiro RC, Castro AA, Zanuncio TV, Serrão JE. (2013). Fertility and life expectancy of a predatory stinkbug to sublethal doses of a pyrethroid. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 90: 39–45.
- Zanuncio JC, Mourão SA, Martínez LC, Wilcken CF, Ramalho FS, Plata-Rueda A, Serrão JE. (2016). Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific Reports* 6: 30261.

Zhang S, Zhang X, Shen J, Li D, Wan H, You H, Li J. (2017). Cross-resistance and biochemical mechanisms of resistance to indoxacarb in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 140: 85–89.

4. Tabela

Tabela 1. Concentrações letais do indoxacarbe a adultos de *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae)

¹ Concentração	² VE (mg mL ⁻¹)	³ IC (mg mL ⁻¹)	⁴ χ^2
CL ₂₅	3,33	2,55–3,97	
CL ₅₀	4,98	4,22–5,69	
CL ₇₅	7,43	6,50–8,75	81,69
CL ₉₀	11,09	9,32–14,49	

¹CL, concentração letal (CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ e CL₉₀) causando 25, 50, 75 e 90 % de mortalidade; ²VE, valor estimado; ³IC, intervalo de confiança; ⁴ χ^2 , O valor calculado do teste qui-quadrado para as concentrações letais e limites fiduciais baseados em escala logarítmica em nível de significância em $P < 0,001$.

5. Figuras

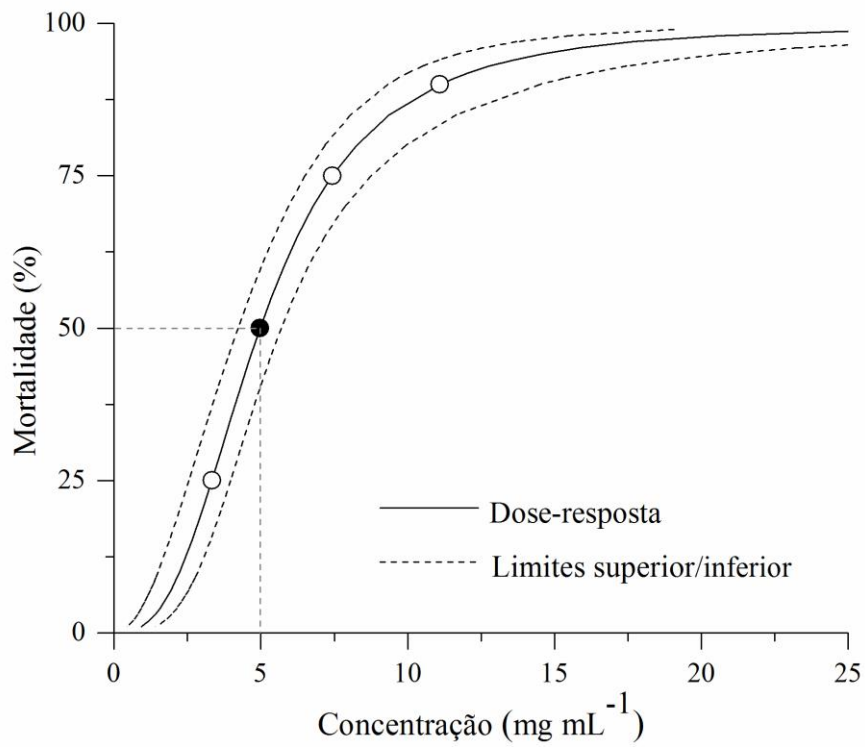


Figura 1. Curva de mortalidade de adultos de *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) expostos a diferentes concentrações letais do indoxacarbe. Ponto preto representa a concentração letal (CL₅₀) estimada pela análise probit. Linhas pontilhadas delimitam os intervalos de confiança de 95%.

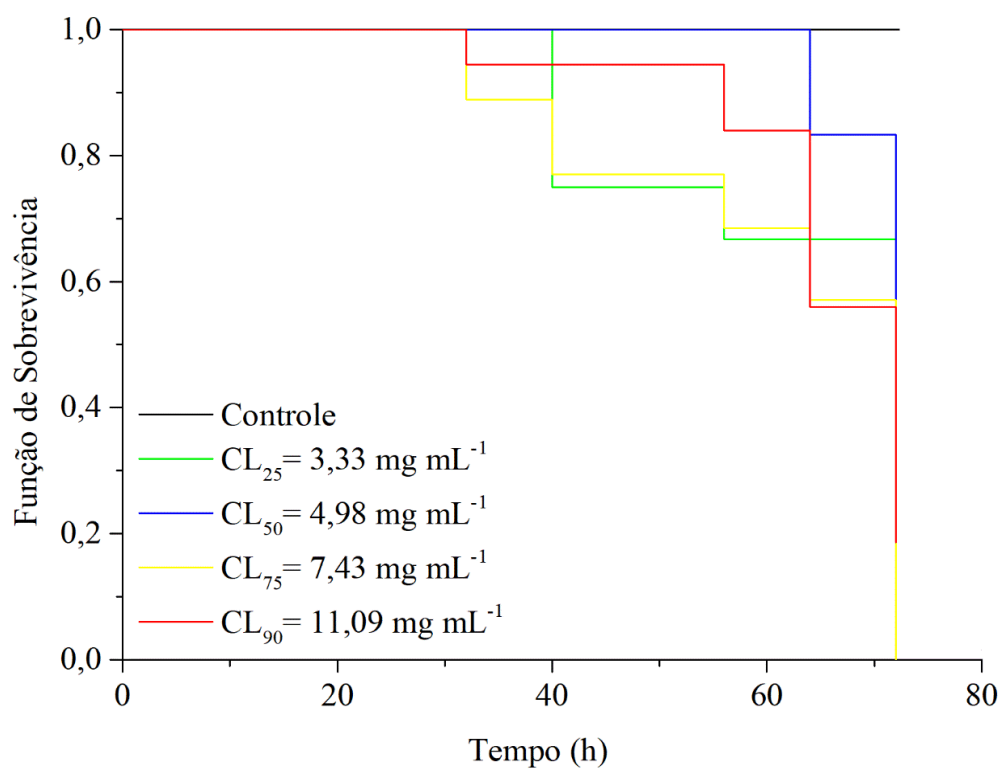


Figura 2. Curvas de sobrevivência para adultos de *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) expostos a diferentes concentrações do indoxacarbe por 72 h usando o método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de log-rank ($\chi^2 = 15,53$; $P < 0,01$).

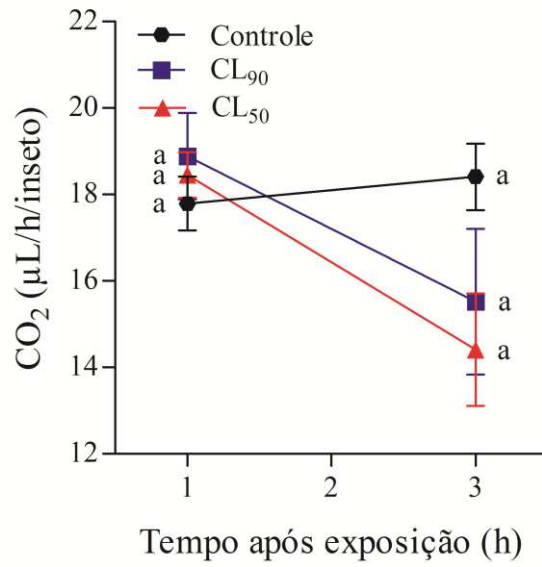


Figura 3. Taxa de respiração (média \pm erro padrão) de adultos de *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) expostos ao indoxacarbe (valores estimados de CL₅₀ e CL₉₀). Médias com mesma letra, no mesmo tempo, não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

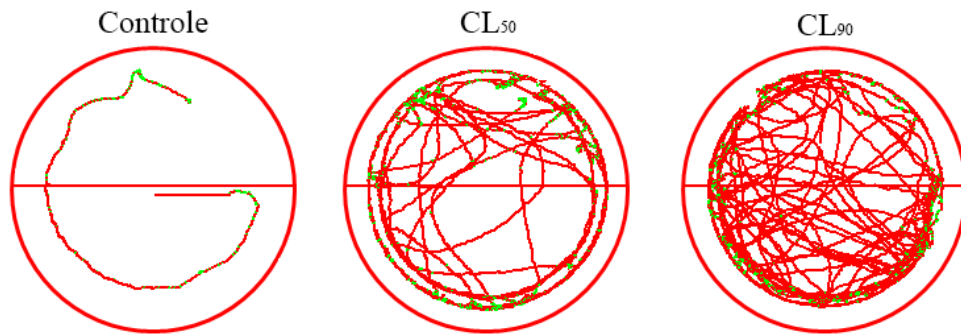


Figura 4. Atividade locomotora de adultos de *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) por 10 minutos em arenas de papel filtro (9 cm de diâmetro) com metade impregnada com indoxacarbe (metade superior de cada arena). Trilhas vermelhas indicam alta velocidade de caminhada; faixas verdes indicam baixa velocidade.

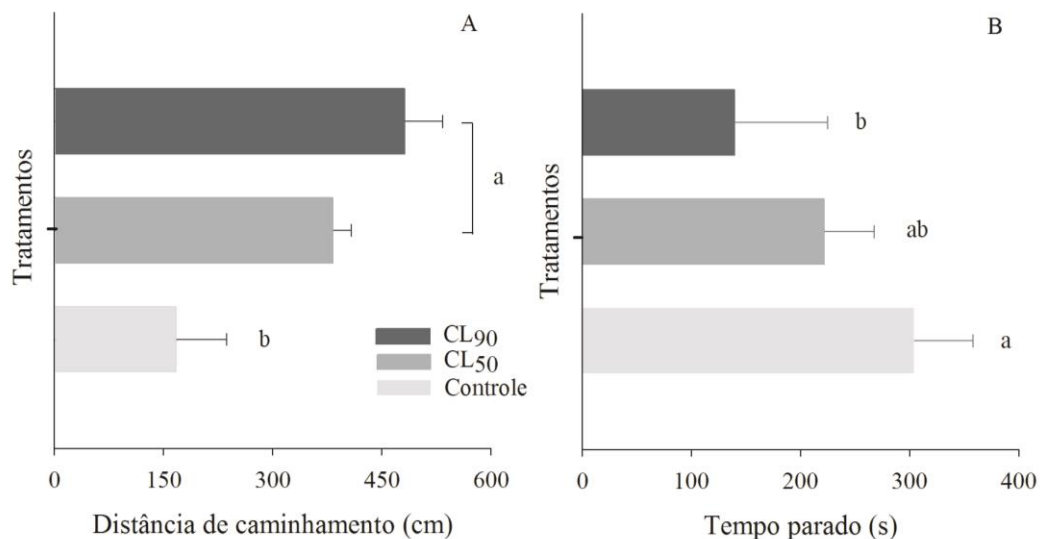


Figura 5. Distância de caminhada (A) e tempo parado (B) (média \pm erro padrão) durante 10 minutos de adultos de *Podisus distinctus* (Heteroptera: Pentatomidae) expostos ao indoxacarbe (valores estimados Controle, CL₅₀ e CL₉₀). Médias com mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).