

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**GABRYELE SILVA RAMOS**

**SELETIVIDADE DO IMIDACLOPRIDE ASSOCIADO AO SAL DE COZINHA  
(NaCl) AO PERCEVEJO PREDADOR *Podisus nigrispinus* (Dallas) (HEMIPTERA:  
PENTATOMIDAE)**

**VIÇOSA – MINAS GERAIS**

**Maio de 2017**

**GABRYELE SILVA RAMOS**

**SELETIVIDADE DO IMIDACLOPRIDE ASSOCIADO AO SAL DE COZINHA  
(NaCl) AO PERCEVEJO PREDADOR *Podisus nigrispinus* (Dallas) (HEMIPTERA:  
PENTATOMIDAE)**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado à  
Universidade Federal de Viçosa como parte das  
exigências para a obtenção do título de Engenheira  
Agrônoma. Modalidade: trabalho científico.**

**Orientador: Eugênio Eduardo de Oliveira**

**Coorientadores: Paula Daiana de Paulo**

**Hígor de Souza Rodrigues**

**VIÇOSA – MINAS GERAIS**

**Mai de 2017**

**GABRYELE SILVA RAMOS**

**SELETIVIDADE DO IMIDACLOPRIDE ASSOCIADO AO SAL DE COZINHA  
(NaCl) AO PERCEVEJO PREDADOR *Podisus nigrispinus* (Dallas) (HEMIPTERA:  
PENTATOMIDAE)**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado à  
Universidade Federal de Viçosa como parte das  
exigências para a obtenção do título de Engenheira  
Agrônoma. Modalidade: trabalho científico.**

APROVADO: 04 de maio de 2017.

---

Prof. Eugênio Eduardo de Oliveira  
(Orientador)  
(UFV)

**Aos meus avós Nilza e Perpedigno e pais Jorge e Júnia,  
que sempre me ensinaram a amar o que faço,  
e foram a razão de eu ser quem sou hoje.**

**Dedico.**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter guiado meus passos até aqui.

À minha família, razão de todo o meu esforço e empenho acadêmico, meus avós Nilza e Perpedigno pelo exemplo de simplicidade e inspiração de vocação profissional, aos meus pais Jorge e Júnia, e meu irmão, Gabryel.

À Universidade Federal de Viçosa – UFV, pela oportunidade de fazer parte desta história.

Ao curso de Agronomia UFV e todos os professores e amigos que fazem parte deste, pelo conhecimento de grande valia e que carregarei ao longo da minha trajetória profissional.

Ao meu orientador e amigo Prof. Eugênio Eduardo de Oliveira pelo acolhimento desde o início da minha caminhada acadêmica e por toda a confiança e paciência depositadas em mim.

Aos grandes amigos do Laboratório de Fisiologia e Neurobiologia de Invertebrados por todos os conselhos, risadas e trabalho em equipe. Em especial, aos meus co-orientadores Paula Daiana de Paulo e Hígor de Souza Rodrigues que foram pacientes e me acompanharam durante a concretização deste trabalho.

Ao Laboratório de Controle Biológico, em especial à Juliana Mendonça pelo companheirismo e toda a ajuda prestada na realização dos experimentos.

Aos colegas de trabalho do Laboratório de Ecofisiologia e Ecotoxicologia por toda ajuda e liberação de seu espaço para a realização deste trabalho.

Gratidão!

**“Perdoai  
Mas eu preciso ser Outros  
Eu penso renovar o homem usando borboletas.”**

Manoel de Barros.

## SUMÁRIO

<b>Resumo</b>	<b>08</b>
<b>Abstract</b>	<b>09</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>10</b>
<b>2. Material e Métodos</b>	<b>12</b>
<b>2.1. Obtenção dos insetos</b>	<b>12</b>
<b>2.1.1. Criação de <i>Euschistus heros</i></b>	<b>12</b>
<b>2.1.2. Criação de <i>Podisus nigrispinus</i></b>	<b>12</b>
<b>2.2. Bioensaios</b>	<b>13</b>
<b>2.2.1. Exposição de <i>E. heros</i> à concentração subletal de imidaclopride</b>	<b>13</b>
<b>2.2.2. Exposição de <i>P. nigrispinus</i> a soluções inseticidas</b>	<b>14</b>
<b>2.2.3. Sobrevivência de <i>P. nigrispinus</i> após exposição inseticida</b>	<b>14</b>
<b>2.3. Análises estatísticas</b>	<b>15</b>
<b>3. Resultados</b>	<b>15</b>
<b>4. Discussão</b>	<b>17</b>
<b>5. Conclusão</b>	<b>19</b>
<b>6. Referências</b>	<b>19</b>

## RESUMO

O conhecimento dos efeitos de pesticidas sobre inimigos naturais em agroecossistemas são de suma importância para o manejo integrado de pragas. O percevejo predador *Podisus nigrispinus* é relatado como um importante agente de controle biológico. Portanto, este predador pode estar sujeito às exposições direta e indireta a inseticidas usados para controlar várias pragas, especialmente em campos de soja. Entre estes produtos, os neonicotinóides são amplamente utilizados no controle do percevejo-marrom-da-soja, *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). O uso de sal (0,5% p / v) em mistura com inseticidas é uma prática comumente utilizada no Brasil, reduzindo a dose desses compostos, em alguns casos, em até 50%. No entanto, os efeitos letais e subletais sobre organismos benéficos desencadeados por tal prática ainda são completamente negligenciados. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia da exposição subletal (30% da dose de campo) de *E. heros* ao imidaclopride em sinergismo com o sal de cozinha (NaCl), bem como os efeitos letais da exposição de *P. nigrispinus* à dose de campo de imidacloprid (recomendada para o controle de *E. heros*) associado ou não ao sal. Adultos recém emergidos de *E. heros* e fêmeas e ninfas de quinto ínstar de *P. nigrispinus* mantidos em condições controladas ( $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de UR e 12 h de fotofase) foram expostos durante 48 h a resíduos secos de imidaclopride com e sem a presença do sal de cozinha. Para o controle, os insetos foram expostos à água com e sem adição de NaCl. A mortalidade foi avaliada 24 e 48 h após o início da exposição e os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Nos bioensaios de sobrevivência de *P. nigrispinus*, foi fornecido alimento *ad libitum* após a exposição e os dados coletados foram submetidos ao teste de Kaplan-Meier (método LogRank). A exposição subletal de adultos de *E. heros* ao imidacloprid aliado ao sal de cozinha causou maior mortalidade comparada ao controle (75%). Em contraste, não houve diferença significativa na mortalidade de fêmeas adultas de *P. nigrispinus* após 48 h de exposição à dose de campo de imidacloprid (com ou sem sal) quando comparado ao controle, observando-se mortalidades inferiores a 12%. Além disso, a análise de sobrevivência também não mostrou diferença significativa entre adultos tratados (com e sem sal) e não tratados de *P. nigrispinus*. Diante o exposto, o imidaclopride com NaCl se mostrou seletivo para este inimigo natural. No entanto, mais estudos ainda são necessários para investigar possíveis alterações nos parâmetros reprodutivos e alimentares deste percevejo predador para endossar sua utilização em programas de manejo integrado de pragas.

**Palavras-chave:** Asopinae, controle biológico, ecotoxicologia, seletividade.

## ABSTRACT

Pesticides effects on natural enemies in an agroecosystem are of paramount importance for integrated pest management. The predator stink bug *Podisus nigrispinus* is reported to be an important biological control agent. Unfortunately, this predator can be subject to direct and indirect exposure to insecticides used to control various pests especially in soybean fields. Among these products, neonicotinoids are widely used to control the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). The use of salt (0.5% w / v) in mixture with insecticides is a frequent practice in Brazil believed to reduce the dose of these compounds, in some cases, by up to 50%. However, the lethal and sublethal effects on beneficial organisms triggered by such practice have been completely neglected. This work aimed to evaluate the efficacy of the sublethal exposure (30 %) of *E. heros* to imidacloprid allied with NaCl as well as the lethal effects of unintended exposure of *P. nigrispinus* to the field dose of imidacloprid (recommended for the *E. heros* control) associated or not with salt. Freshly emerged adults of *E. heros*, females and fifth instar nymphs for *P. nigrispinus*, kept under controlled conditions ( $25 \pm 2$  ° C,  $60 \pm 10\%$  RH and 14 h photophase) were exposed for 48 h to the dry imidaclopride residue with and without salt. Control insects were exposed to water with and without addition of NaCl. Mortality was assessed 24 and 48 h after the beginning of the exposure and the data were submitted to analysis of variance (ANOVA). In the survival bioassays, insects were fed *ad libitum* after exposure and the data collected were submitted to the Kaplan-Meier test (LogRank method). The sublethal exposure with salt added imidacloprid solution of *E. heros* adult females caused a higher mortality than the control (+75%). In contrast, there was no significant difference in mortality of adult *P. nigrispinus* after 48 h of exposure to field dose of imidacloprid (with or without salt) when compared to the control as only mortalities less than 12% were always recorded. Furthermore, the survival analysis showed also no significant difference between treated (with and without salt) and untreated females of this natural enemy. In view of the above, imidacloprid with NaCl was selective for *P. nigrispinus*. More studies are still needed to further investigate potential changes in the reproductive and feeding parameters of this predatory bug before fully endorsing its use in integrated pest management.

**Keywords:** Asopinae, biological control, ecotoxicology, selectivity.

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja *Glycine max* (L.) é de grande importância econômica para o Brasil e a sua produtividade é afetada pela ocorrência de insetos-praga, que causam perdas e aumentam os custos de produção. A ocorrência frequente de um complexo de percevejos fitófagos é considerada altamente prejudicial para o desenvolvimento e produtividade da cultura. Atualmente, o percevejo marrom-da-soja *Euschistus heros* é considerado uma das principais pragas desde as regiões mais quentes, do norte do Paraná ao Centro-Oeste brasileiro até no Rio Grande do Sul (Corso & Gazzoni, 1998; Corrêa-Ferreira *et al.*, 2002; Degrande & Vivan, 2005; Ávila & Grigolli, 2014).

O controle dos percevejos da soja é feito principalmente com o uso de inseticidas. Atualmente no Brasil os produtos registrados pertencem aos grupos dos organofosforados (mas em fase de banimento), piretroides, ciclodienos (endosulfan) e dos neonicotinoides (MAPA, 2014). Além disso, alguns estudos têm demonstrado que a adição de sal de cozinha (NaCl) na concentração de (0,5%) à calda de organofosforados possibilita uma redução de 50% da dose do inseticida, sem que ocorra prejuízo da eficiência de controle (Corso, 1990; Panizzi *et al.*, 2007; Avila & Grigolli, 2014). Porém, o efeito sinérgico da adição do sal de cozinha ainda requer estudos que esclareçam como e o porquê do sinergismo só acontecer somente para alguns grupos de inseticidas. Até mesmo o senso comum de que este sal de cozinha funcionaria como fagoestimulante têm sido objeto de grande debate (Corso, 1990; Sosa-Gómez *et al.*, 1993; Níva & Panizzi, 1996; Corso & Gazzoni, 1998). Estudos com o objetivo de compreender os efeitos da exposição subletal de neonicotinoides aliados ao sal de cozinha a *E. heros* recentemente receberam alguma atenção (Haddi *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2015).

Os inseticidas neonicotinoides são agonistas de receptores nicotínicos de acetilcolina, nAChRs e causam estimulação nervosa, porém, não degradada pela acetilcolinesterase (Nauen *et al.*, 2001), com baixa persistência do solo (Buckingham *et al.*, 1997) e podem causar efeitos subletais em predadores artrópodes, afetando negativamente sua neurofisiologia. Os neonicotinóides também podem afetar parâmetros comportamentais em artrópodes predatórios, como mobilidade, orientação química e visual e sua capacidade de forrageamento (Desneux *et al.*, 2007).

Neste sentido, vale salientar que vários organismos não-alvo estão sujeitos ao contato com estes pesticidas, uma vez que, o emprego e manutenção de agentes de controle biológico dentro dos agroecossistemas é uma das principais táticas adotadas em programas

de manejo integrado de pragas. Para o sucesso da integração de várias estratégias de controle, é de suma importância conhecer a ação de pesticidas em organismos não-alvo a fim de se determinar a seletividade/compatibilidade destes compostos. A implantação de programas de manejo integrado de pragas já inicialmente favoreceu a cultura da soja, voltando-se, principalmente, para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae), e alguns dos percevejos fitófagos recorrentes na cultura e registrados em várias regiões do país (Ramiro *et al.*, 1986).

Hemípteros predadores são bastante utilizados no controle de diversas pragas, principalmente lagartas desfolhadoras. O percevejo *Podisus nigrispinus* é um predador generalista e Neotropical de ocorrência natural e frequente em cultivos de diversas culturas anuais (Lemos *et al.*, 2005), além de olerícolas e espécies florestais como o eucalipto (*Eucalyptus* spp.). No Brasil, este asopíneo é considerado importante no controle de lagartas desfolhadoras (Zanuncio *et al.*, 1994) e na proteção de plantios de eucalipto contra *Thyriniteina arnobia* (Stoll) (Geometridae), *Sarsina violascens* (Herrich-Schaeffer) (Lymantriidae), dentre outros lepidópteros desfolhadores.

Nas últimas décadas, têm-se avançado nos estudos de agentes bióticos controladores de pragas agrícolas, possibilitando implantar programas de controle biológico em áreas extensas de monocultura (Moscardi, 2002). O impacto dos inseticidas neocotinoides nas respostas funcionais dos predadores tem sido investigado (Poletti *et al.*, 2007, He *et al.*, 2012). Por outro lado, pouco se sabe sobre as respostas desses inseticidas ao predador neotropical *P. nigrispinus*, assim como, os efeitos letais e subletais desencadeados pela adição do sal a caldas inseticidas têm sido completamente negligenciados para esses percevejos predadores, sendo de extrema importância estudos dos efeitos subletais de pesticidas aliados a agentes sinérgicos, como o sal de cozinha (NaCl) em caldas inseticidas para esses organismos, para otimizar o emprego destas técnicas.

Dessa forma, o avanço em estudos da seletividade e compatibilidade de pesticidas sintéticos a insetos benéficos poderá contribuir para se realizar uma boa escolha das práticas fitossanitárias de controle a serem empregadas a campo. Diante o exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar se a presença de sal de cozinha associada a dose de campo do neonicotinoide imidaclopride (recomendada para controle do percevejo-marrom-da-soja, *Euschistus heros*) pode promover mortalidade e afetar a sobrevivência de *Podisus nigrispinus*, além de constatar quão efetivo é a exposição subletal de *E. heros* ao imidaclopride aliado ao NaCl.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Obtenção dos insetos**

#### **2.1.1. Criação de *Euschistus heros***

A criação de *E. heros* foi mantida em condições controladas de fotoperíodo (14 h de fotofase), umidade (60±10%) e temperatura (25±2 °C) no laboratório de fisiologia e neurobiologia de insetos da UFV e seguiram procedimentos semelhantes aos descritos por Borges *et al.* (2006) e Silva *et al.* (2007). Adultos e ninfas a partir do terceiro instar de *E. heros* foram mantidos em gaiolas transparentes (potes plásticos com um volume de 3 L). Para permitir a ventilação da gaiola, foi feito um orifício na tampa dos potes cobertos com tecido organza. Os fundos das gaiolas foram recobertos com pedaços de papel no mesmo formato dos potes. Os insetos foram alimentados com dieta natural consistindo de sementes de amendoim cru (*Arachis hypogaea* Linnaeus), grãos secos de soja (*Glycine max* Linnaeus), sementes de girassol (*Helianthus annuus* Linnaeus) e vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* Linnaeus). Quatro vagens de feijão em cada extremo radial da gaiola e duas cartelas retangulares de papel (100 x 80 mm de dimensão) contendo uma mistura dos grãos acima citados foram fixadas nas paredes das gaiolas com ganchos feitos de cliques de metal. Cola branca atóxica foi utilizada na colagem dos grãos às cartelas de papel. Dois recortes de organza de 50 x 100 mm foram colocados, apoiados nas paredes das gaiolas, como substrato para oviposição e caminamento. A densidade de adultos no interior da gaiola foi de aproximadamente 100 casais e as posturas foram coletadas a cada dois dias. Cerca de 1.000 ovos (± 0,45 g) foram colocados em placas plásticas de Petri (Ø 90 mm) com um fragmento de 5 cm de vagens verdes de feijão até a eclosão das ninfas. Ao atingirem o segundo instar os insetos foram transferidos para potes retangulares de 8 x 22 x 22 cm e como alimento vagens verdes de feijão e uma cartela de grãos (sementes de amendoim, girassol e soja).

#### **2.1.2. Criação de *Podisus nigrispinus***

A criação de *P. nigrispinus* foi mantida em condições controladas de fotoperíodo (12 h de fotofase), umidade (70±10%) e temperatura (25±2 °C) no laboratório de fisiologia e neurobiologia de insetos da UFV conforme metodologias similares às descritas por Lemos *et al.* (2003). Os ovos foram coletados e mantidos em placas plásticas de Petri de (Ø 146 mm) juntamente com pedaços de algodão embebidos em água para fornecimento

de umidade. Após a eclosão dos ovos e as ninfas atingirem o terceiro ínstar, os insetos foram passados para uma gaiola de madeira vedada com tecido de organza de 30 cm de comprimento e 15 cm de largura. No interior da gaiola foram dispostas hastes de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) em um frasco com água e na parte superior pupas de *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). Os adultos recém-emergidos nas gaiolas de ninfas foram transferidos para outra gaiola, com as mesmas fontes de alimento, para reprodução e oviposição destes insetos. Especialmente para a execução deste trabalho, foram mantidas gaiolas contendo apenas ninfas de 5º instar para se obter a padronização da idade dos insetos adultos utilizados nos bioensaios.

## **2.2. Bioensaios**

### **2.2.1. Exposição de *E. heros* à concentração subletal de imidaclopride**

A toxicidade aguda dos inseticidas foi verificada em experimentos de concentração resposta. Insetos adultos não sexados foram expostos ao resíduo seco de imidaclopride na concentração de 30% da dose de campo recomendada para controle de *E. heros* em soja (1,26 µg i.a./cm<sup>2</sup>), com a adição ou não de sal de cozinha a 0,5% (p/v). As concentrações do inseticida neonicotinoide imidaclopride foram preparadas com a utilização da formulação comercial (grânulos dispersíveis em água a 700 g de ingrediente ativo (i.a.)/L; Bayer CropScience, São Paulo, Brasil) contendo o ingrediente ativo de interesse e diluído em água destilada. Nestes testes, frascos de vidro cilíndricos com capacidade volumétrica de 250 mL foram tratados com 2 mL da solução de inseticida diluído em água destilada. Essa quantidade de solução foi suficiente para cobrir uniformemente toda a parede interna do frasco. Os frascos foram colocados horizontalmente em um suporte acoplado ao eixo de um motor de baixa rotação (Roto-Torque) para que o princípio ativo do inseticida tivesse distribuição uniforme por toda a superfície interna, após a completa evaporação da água destilada. Dez insetos adultos com menos de 24 h de vida adulta foram expostos ao resíduo seco do inseticida e avaliou-se a mortalidade após 48 horas de exposição ao inseticida. Com o objetivo de padronizar a avaliação, os insetos foram considerados mortos quando não responderam a estímulos provocados por seguidos toques por um pincel para pintura com cerdas macias num período máximo de 1 min de avaliação. Os insetos foram mantidos em condições ambientais controladas (27±2 °C, 60±20% UR, fotofase de 14 h) em sala climatizada no Laboratório de Fisiologia e Neurobiologia de Invertebrados, UFV, Viçosa, MG. Foram realizadas 10 repetições para cada concentração do inseticida.

### **2.2.2. Exposição de *P. nigrispinus* a soluções inseticidas**

Ninfas de 5º instar recém emergidas e fêmeas adultas de até 72 h foram expostas ao resíduo seco da dose de campo de imidaclopride (4,2 µg i.a./ cm<sup>2</sup>), recomendada para controle de *E. heros* em soja, com a adição ou não de sal de cozinha a 0,5% (p/v). Os tratamentos controle consistiram de água destilada e água destilada mais sal a 0,5% (p/v). As soluções inseticidas foram preparadas e 2mL destas foram transferidas para frascos de vidro cilíndricos com capacidade volumétrica de 250 mL, cobrindo uniformemente toda a parede interna do frasco. Os frascos foram colocados horizontalmente em um suporte acoplado ao eixo de um motor de baixa rotação (Roto-Torque) para que o princípio ativo do inseticida tivesse distribuição uniforme por toda a superfície interna, após a completa evaporação da água destilada. Dez ninfas de 5º instar recém-emergidas e respectivamente dez fêmeas com até 72 h de vida adulta foram utilizadas nos bioensaios e avaliou-se a mortalidade após 48 horas de exposição ao inseticida. Com o objetivo de padronizar a avaliação, os insetos foram considerados mortos quando não foram capazes de caminharem uma distância equivalente ao comprimento do seu corpo num período máximo de 1 min de avaliação. Os insetos foram mantidos em condições ambientais controladas (25±2 °C, 60±10% UR, fotofase de 14 h) em sala climatizada no laboratório de fisiologia e neurobiologia de invertebrados, UFV, Viçosa, MG. Foram realizadas 13 repetições para cada tratamento do bioensaio com ninfas de 5º instar e nove repetições para cada tratamento do bioensaio com fêmeas adultas.

### **2.2.3. Sobrevivência de *P. nigrispinus* após exposição inseticida**

Insetos adultos com 72 h após emergência foram expostos ao resíduo seco da dose de campo de imidaclopride (4,2 µg i.a./ cm<sup>2</sup>), recomendada para controle de *E. heros* em soja, com a adição ou não de sal de cozinha a 0,5% (p/v). Após os mesmos procedimentos descritos acima, passadas as 48 h de exposição, estes insetos foram transferidos para placas de Petri (Ø 90 mm). Em cada placa adicionou-se uma folha de papel de filtro; um pedaço de algodão umedecido com água destilada; uma pupa de *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae) e uma haste de *Eucalyptus* spp. de, aproximadamente, 7 cm, contendo de 3 a 4 folhas. Os insetos foram mantidos em condições ambientais controladas (25±2 °C, 60±10% UR, fotofase de 12 h) em sala climatizada no laboratório de fisiologia e neurobiologia de invertebrados, UFV, Viçosa, MG. Foram coletados dados de sobrevivência de 88 indivíduos adultos.

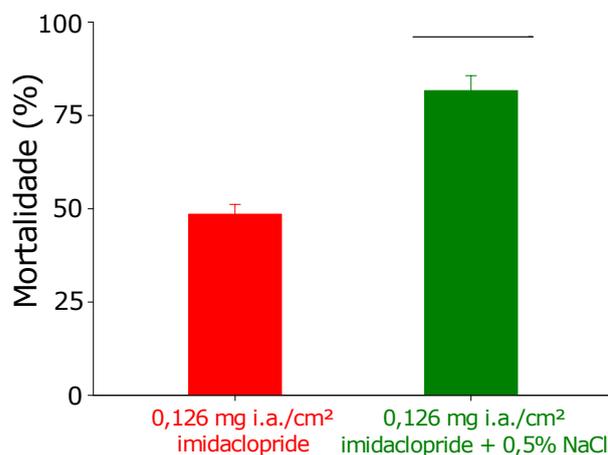
### 2.3. Análises estatísticas

Os resultados de mortalidade de *E. heros* foram submetidos à análise de Probit (Finney, 1971), por intermédio do procedimento PROC PROBIT do software SAS (SAS Institute, 2008).

Os resultados obtidos nos bioensaios com *P. nigrispinus*, foram submetidos à análise de variância, e quando as premissas de normalidade dos resíduos e/ou homogeneidade de variância não foram satisfeitas, os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Kruskal-Wallis a 5% de significância. A análise de sobrevivência foi efetuada utilizando o teste de Kaplan-Meier (método de *LogRank*) utilizando o software SigmaPlot 12.5 (Systat Software, San José, CA, EUA).

### 3. RESULTADOS

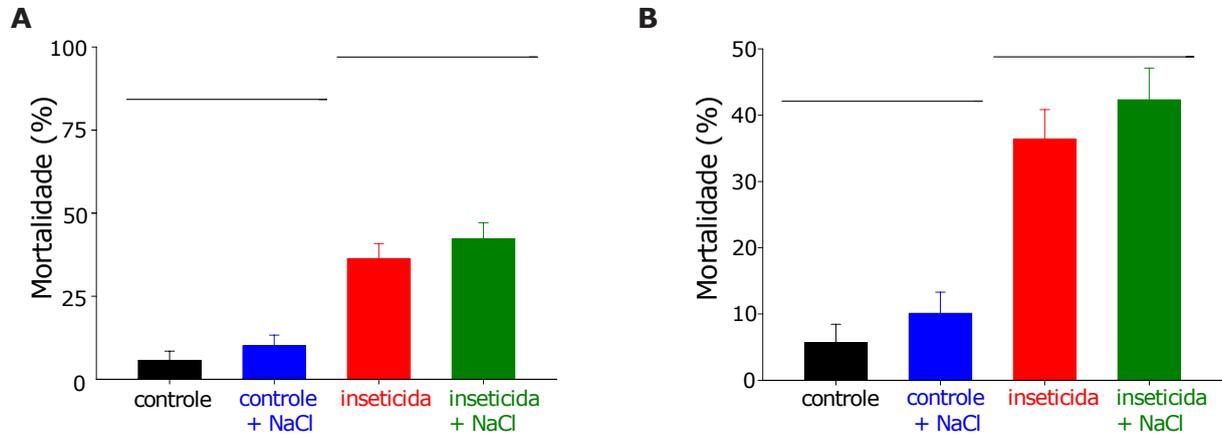
Os resultados do bioensaio de exposição de insetos adultos de *E. heros* a 1,26 µg i.a./ cm<sup>2</sup> de imidaclopride (equivalente a 30% da dose de campo recomendada para o controle) mostram que ocorreu a potencialização da calda inseticida com a adição do sal de cozinha ( $F_{(1,11)} = 50,62$ ;  $P < 0,001$ ) quando comparado com o tratamento sem o acréscimo do agente sinérgico (Figura 1).



**Figura 1.** Mortalidade de *E. heros* após 48 h de exposição à concentração de 1,26 mg i.a./cm<sup>2</sup> de imidacloprid com ou sem adição de sal (NaCl).

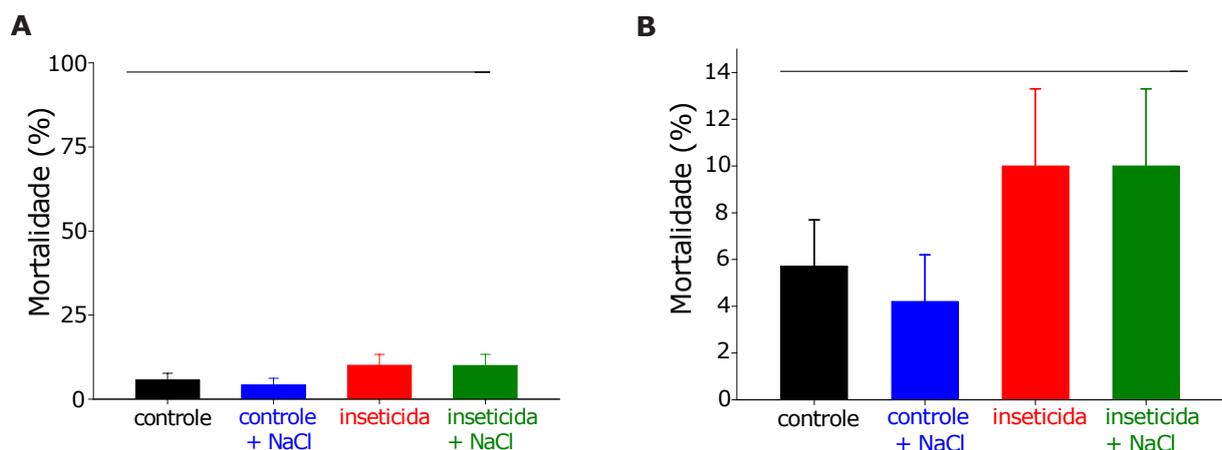
Os resultados obtidos no bioensaio de exposição de ninfas de quinto ínstar à concentração de 4,2 µg i.a./cm<sup>2</sup>, equivalente a dose de campo, com adição ou não de sal de cozinha à calda inseticida, mostram que, os insetos submetidos aos tratamentos que continham inseticida obtiveram mortalidade significativamente diferente do controle ( $H_{gl=3}$

= 21,35;  $P < 0,001$ ). A mortalidade ocasionada pelo neonicotinoide imidaclopride a ninfas de quinto instar de *P. nigrispinus* foi inferior a 50% do total de ninfas expostas aos tratamentos acrescidos ou não ao sal de cozinha. (Figura 2).



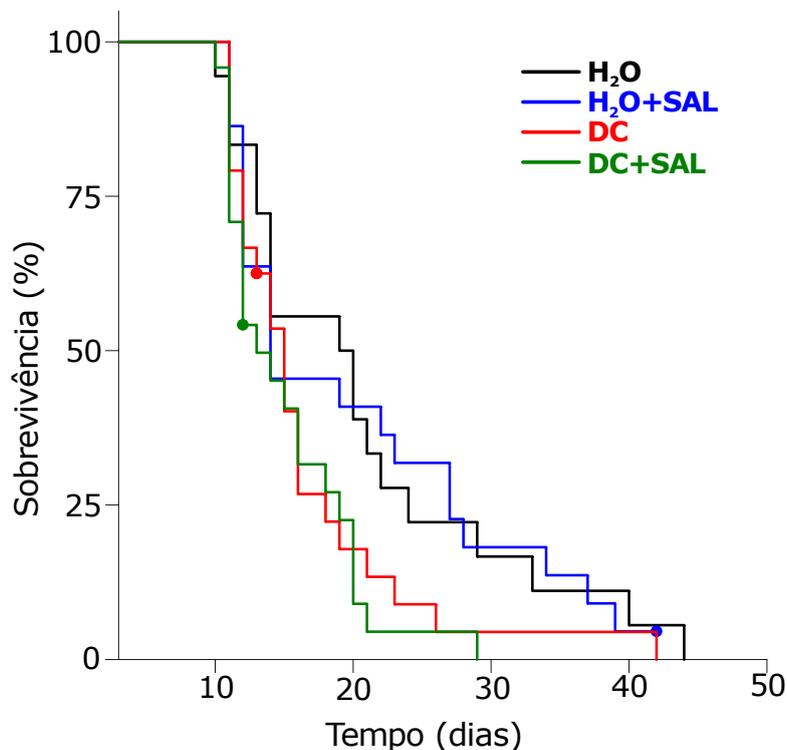
**Figura 2.** Mortalidade de ninfas de 5º instar de *P. nigrispinus* após 48 h de exposição à concentração de 4,2 µg i.a./ cm<sup>2</sup> de imidaclopride com ou sem adição de sal (NaCl). (A) escala no eixo de mortalidade de 0 a 100 %, (B) escala no eixo de mortalidade de 0 a 50 %.

No bioensaio de exposição de fêmeas adultas de *P. nigrispinus* a 4,2 µg i.a./cm<sup>2</sup> não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ( $H_{gl=3} = 2,32$ ;  $P = 0,509$ ). A mortalidade ocasionada pelo agente inseticida a fêmeas adultas de *P. nigrispinus* foi inferior a 12% do total de insetos expostos aos tratamentos acrescidos ou não ao sal de cozinha (Figura 3).



**Figura 3.** Mortalidade de fêmeas adultas de *P. nigrispinus* após 48 h de exposição à concentração de 4,2 µg i.a./ cm<sup>2</sup> de imidaclopride com ou sem adição de sal (NaCl). (A) escala do eixo Y (Mortalidade 0 a 100 %), (B) escala do eixo Y (mortalidade de 0 a 14 %).

Os resultados obtidos na análise de sobrevivência de adultos de *P. nigrispinus* mostram que não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos (Log Rank  $_{gl=3} = 7,51$ ;  $P = 0,057$ ), sendo que o tempo médio de sobrevivência variou de 15,1 a 20, 7 dias.



**Figura 4.** Sobrevivência de *P. nigrispinus* após 48 h de exposição à concentração de 4,2  $\mu\text{g i.a./ cm}^2$  de imidaclopride com ou sem adição de sal (NaCl).

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo sugerem que a adição do sal de cozinha (NaCl) à calda inseticida promove um incremento na mortalidade dos adultos de *E. heros* em comparação ao tratamento (30% da dose de campo) que não continha tal agente sinérgico. Em contrapartida, as soluções inseticidas (com ou sem adição de sal) não afetou a mortalidade e sobrevivência do predador *P. nigrispinus*, uma vez que estes insetos vivem cerca de 20 dias em diferentes composições de dieta, corroborando com os dados encontrados neste trabalho. (Zanuncio *et al.*, 2001).

Ramiro *et al.* (2005) relatam que a mistura de thiamethoxan, cipermetrina e sal de cozinha permitiu o controle das espécies de percevejos-da-soja, *Piezodorus guildinii*, *Nezara viridula* e *Euschistus heros*, por até 15 dias. Esses resultados podem ser explicados pelo fato do sal junto à calda inseticida ocasionar uma alteração do hábito

alimentar através de uma indução a um efeito arrestante e um comportamento mais dinâmico sobre a planta, aumentando a exposição do inseto ao inseticida (Corso *et al.*, 1998). Assim, o sinergismo do sal favorece uma redução na quantidade de inseticida aplicado em lavouras de soja, diminuindo o dispêndio com insumos, além de causar um menor impacto ambiental.

Apesar dos inseticidas neonicotinóides serem de uso recente no controle de insetos fitófagos, estes têm recebido atenção quanto ao estudo de seus efeitos em organismos não alvo. A sobrevivência de *P. nigrispinus* é mais alta em adultos que em ninfas (quarto e quinto ínstars) mediante exposição à imidaclopride, piriproxifeno e ao óleo de neem (Zanuncio *et al.*, 2016). Assim, é sugerido que este asopíneo seja mais suscetível nos estágios imaturos. No entanto, a mortalidade encontrada para ninfas de quinto instar (inferior a 43%) não descaracteriza a seletividade do inseticida mesmo na presença do agente sinérgico (NaCl) testado. Inseticidas piretróides já foram relatados por afetarem minimamente alguns insetos benéficos como os do gênero *Podisus* (Guedes *et al.*, 1992; Picanço *et al.*, 1998). Em alguns casos, foram constatados até mesmo efeitos horméticos em *Podisus distinctus* após exposição subletal à permetrina (Magalhães *et al.*, 2002). A maior suscetibilidade de estágios imaturos pode ser reflexo da concentração de enzimas detoxificativas (esterases), bem como da composição da cutícula (Guedes *et al.*, 1992).

Trabalhos anteriores já demonstraram que o sal é um agente sinérgico em caldas inseticidas devido a preferência destes insetos por áreas tratadas com baixas concentrações de NaCl (Corso & Gazzoni, 1998; Marcomini *et al.*, 2016). Isso pode ser explicado por uma resposta neuronal na expressão de receptores Gr5a (responde ao estímulo de baixas concentrações de NaCl) e/ou Gr66a (resulta em aversão ao NaCl) (Yarmolinsky *et al.*, 2009). Tal resposta pode ser ausente em *P. nigrispinus* devido à conformação diferencial de seu sítio de ação, bem como a presença de sensilas tarsais que possam alterar a toxicodinâmica de tal agente (Feeny *et al.*, 1983).

A presença de inimigos naturais em plantações não garante que haja efetivo benefício na redução populacional das espécies-praga, uma vez que estes indivíduos podem não estar se alimentando das presas devido aos efeitos de aplicação de pesticidas (Degrande *et al.*, 2002). Malaquias *et al.* (2014) relatam que *P. nigrispinus* alimentados com *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) resistentes e susceptíveis a lambda-cialotrina foram afetados pelo neonicotinóide imidaclopride. Segundo Braeckman *et al.* (1997), concentrações subletais de inseticidas também podem causar alterações celulares no inseto que podem gerar, também, consequências na

reprodução dos mesmos. Portanto, são necessárias mais investigações a respeito de possíveis alterações fisiológicas desencadeadas pela toxicocinética desta molécula em *P. nigrispinus*, com o intuito de se avaliar possíveis alterações nos padrões reprodutivos (fertilidade, fecundidade e viabilidade de ovos) e alimentares (capacidade predatória) deste predador.

O controle biológico atualmente assume cada vez maior importância em programas de manejo integrado de pragas (Parra *et al.*, 2002), principalmente em um contexto onde a discussão acerca da produção integrada rumo a uma agricultura sustentável é priorizada. Com um manejo adequado, métodos de controle podem ter efeito sinérgico e apresentarem maior durabilidade, ainda mais se efeitos como os horméticos e a seletividade de compostos forem reconhecidos e explorados de forma conveniente (Magalhães *et al.*, 2002).

## 5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que a exposição à dose subletal de imidaclopride aliado ao sal de cozinha (NaCl) potencializa a mortalidade do percevejo fitófago *E. heros*. Em contrapartida, a seletividade do imidaclopride associado ao NaCl encontrada para o percevejo predador *Podisus nigrispinus* sugere a continuidade de seu uso em um programa de manejo integrado de pragas sem afetar significativamente a mortalidade e sobrevivência deste organismo não-alvo. No entanto, futuras investigações são necessárias para provar se tal exposição pode ocasionar alterações em padrões reprodutivos e na capacidade predatória deste percevejo predador para que se possa endossar a sua utilização no manejo integrado de pragas na cultura da soja.

## 6. REFERÊNCIAS

- Ávila, C.J., Grigolli, J.F.J., Pragas da Soja e Seu Controle, In: Lourenção, A.L.F., Grigolli, J.F.J., Melotto, A.M., Pitol, C., Gitti, D.C., Roscoe, R. (Eds.), Tecnologia e produção: Soja 2013/2014. Fundação MS, 2014. 247p.
- Borges, M., Laumann, R. A., Da Silva, C. C. A., Moraes, M. C. B., Dos Santos, H. M., & Ribeiro, D. T. (2006). Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da

- soja (Hemiptera-pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos*.
- Braeckman, B., Simoens, C., Rzeznik, U., & Raes, H. (1997). Effect of sublethal doses of cadmium, inorganic mercury and methylmercury on the cell morphology of an insect cell line (*Aedes albopictus*, C6/36). *Cell biology international*, 21(12), 823-832.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estatísticas de comércio exterior do agronegócio brasileiro. 2014. Disponível em: <agrostat.agricultura.gov.br/>. Acesso: em 15 abr. 2017.
- Buckingham, S., Lapied, B., Corronc, H. L., & Sattelle, F. (1997). Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. *Journal of Experimental Biology*, 200(21), 2685-2692.
- Corrêa-Ferreira, B. S., Parra, J. R. P., Botelho, P. S. M., Corrêa-Ferreira, B. S., & Bento, J. M. S. (2002). *Trissolcus basalis* para o controle de percevejos da soja. *Controle biológico no Brasil. Parasitóides e predadores. Manole. São Paulo*, 449-476.
- Corso, I.C. Uso do sal de cozinha na redução da dose de inseticida para controle de percevejos. Londrina: Embrapa-CNPSO, 1990. 7p. (Embrapa-CNPSO. Comunicado técnico, 45).
- Corso, I.C., Gazzoni, D.L. Sodium chloride: an insecticide enhancer for controlling Pentatomids on soybeans. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 33, 1563-1571, 1998.
- Degrande, P. E., Reis, P. R., Carvalho, G. A., Belarmino, L. C., Parra, J. R. P., Botelho, P. S. M., ... & Bento, J. M. S. (2002). Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. *Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. São Paulo: Manole*, 71-93.
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 52, 81-106.
- Feeny, P., Rosenberry, L., & Carter, M. (1983). Chemical aspects of oviposition behavior in butterflies. *Herbivorous insects: host-seeking behavior and mechanisms/edited by S. Ahmad*.
- Guedes, R. N. C., De Lima, J. O. G., & Zanuncio, J. C. (1992). Seletividade dos inseticidas deltametrina, fenvalerato e fenitrotiom para *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Heteroptera: Pentatomidae). *Anais – Sociedade Entomológica do Brasil*, 21(3), 339-339.
- Haddi, K; Mendes, M.V.; Barcellos, M.S.; Lino-Neto, J.; Freitas, H.S.; Guedes, R.N.C., *et al.* (2016). Sexual Success after Stress? Imidacloprid-Induced Hormesis in Males of

- the Neotropical Stink Bug *Euschistus heros*. PloS ONE. 11, 1-18, 2016.
- 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(5), 1291-1300.
- Lemos, W. P., Ramalho, F. S., Serrão, J. E., & Zanuncio, J. C. (2003). Effects of diet on development of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), a predator of the cotton leafworm. *Journal of Applied Entomology*, 127(7), 389-395.
- Lemos, W. D. P., Ramalho, F. D. S., Serrão, J. E., & Zanuncio, J. C. (2005). Morphology of female reproductive tract of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas)(Heteroptera: Pentatomidae) fed on different diets. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(1), 129-138.
- Magalhães, L.C., Guedes, R.N.C., Oliveira, E.E., & Tuelher, E.S. (2002). Development and reproduction of the predator *Podisus distinctus* (Stal)(Heteroptera: Pentatomidae) exposed to sublethal doses of permethrin. *Neotropical Entomology*, 31(3), 445-448.
- Malaquias, J. B., Ramalho, F. S., Omoto, C., Godoy, W. A. C., & Silveira, R. F. (2014). Imidacloprid affects the functional response of predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) to strains of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) on Bt cotton. *Ecotoxicology*, 23(2), 192-200.
- Marcomini, M. C., 1 Cremonez, P. S. G., Neves, P. M. O. J. Efeito do NaCl no comportamento alimentar de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). Encontro Anual de Iniciação Científica - Universidade Estadual de Londrina. 2016.
- Moscardi, F., Morales, L., & Santos, B. (2002). The successful use of AgMNPV for the control of velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*, in soybean in Brazil. In *Proceedings of the VIII international on invertebrate pathology and microbial control and XXXV annual meeting of the Society for Invertebrate Pathology*. Foz do Iguaçu, Brazil (pp. 86-91).
- Nauen, R., Ebbinghaus-Kintscher, U., & Schmuck, R. (2001). Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Pest management science*, 57(7), 577-586.
- Niva, C.C.; Panizzi, A.R. 1996. Efeitos do cloreto de sódio no comportamento de *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) em vagens de soja. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v.25, p.251-257.

- Panizzi, A. R., Kogan, M., & Jepson, P. (2007). Nutritional ecology of plant feeding arthropods and IPM. *Perspectives in Ecological Theory and Integrated Pest Management*, 170-222.
- Parra, J. R. P. (2002). *Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores*. Editora Manole Ltda.
- Picanço, M., Leite, G. L. D., Guedes, R. N. C., & Silva, E. A. (1998). Yield loss in trellised tomato affected by insecticidal sprays and plant spacing. *Crop Protection*, 17(5), 447-452.
- Poletti, M., Maia, A. H. N., & Omoto, C. (2007). Toxicity of neonicotinoid insecticides to *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae) and their impact on functional response to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Biological Control*, 40(1), 30-36.
- Ramiro, Z. A., Batista Filho, A., & Machado, L. A. (1986). Ocorrência de pragas e inimigos naturais em soja no Município de Orlandia, SP. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 15(2), 239-246.
- Ramiro, Z. A., Batista Filho, A., & Cintra, E. R. R. (2005). Eficiência do inseticida Actara Mix 110+ 220 CE (Thiamethoxam+ Cipermetrina) no controle de percevejos-pragas da soja. *Arquivos do Instituto Biológico*, 72(2), 239-247.
- Santos, M.F., Santos, R.L., Tomé, H.V.V., Barbosa, W.F., Martins, G.F., Guedes, R.N.C., Oliveira, E.E., 2015. Imidacloprid-mediated effects on survival and fertility of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. *J Pest Sci*, 1-10.
- Silva, J. C. T., Jham, G. N., Oliveira, R. D. A. L., & Brown, L. (2007). Purification of the seven tetranortriterpenoids in neem (*Azadirachta indica*) seed by counter-current chromatography sequentially followed by isocratic preparative reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1151(1), 203-210.
- Sosa-Gómez, D.R., Takachi, C.Y., Moscardi, F. Determinação de sinergismo e suscetibilidade diferencial de *Nezara viridula* (L.) e *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) à inseticidas em mistura com cloreto de sódio. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 22, 569-576, 1993.
- Yarmolinsky, D. A., Zuker, C. S., & Ryba, N. J. (2009). Common sense about taste: from mammals to insects. *Cell*, 139(2), 234-244.
- Zanuncio, J., Alves, J. B., Zanuncio, T. V., & Garcia, J. F. (1994). Hemipterous predators of eucalypt defoliator caterpillars. *Forest Ecology and Management*, 65(1), 65-73.
- Zanuncio, J. C., Molina-Rugama, A. J., Serrão, J., & Pratisoli, D. (2001). Nymphal

development and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed with combinations of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae. *Biocontrol Science and Technology*, 11(3), 331-337.

Zanuncio, J. C., Mourão, S. A., Martínez, L. C., Wilcken, C. F., Ramalho, F. S., Plata-Rueda, A., ... & Serrão, J. E. (2016). Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific Reports*, 6.

|