



**PRISCYLLA COSTA DANTAS**

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E  
ULTRAESTRUTURAL DO CANAL  
ALIMENTAR DE *Chrysoperla externa* (Hagen)  
EXPOSTAS AO THIAMETHOXAM E  
CHLORANTRANILIPROLE**

**LAVRAS – MG**

**2016**

**PRISCYLLA COSTA DANTAS**

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DO CANAL  
ALIMENTAR DE *Chrysoperla externa* (Hagen) EXPOSTAS AO  
THIAMETHOXAM E CHLORANTRANILIPROLE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. César Freire Carvalho  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2016**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Dantas, Priscylla Costa.

Análise morfológica e ultraestrutural do canal alimentar de  
*Chrysoperla externa* (Hagen) expostas ao thiamethoxam e  
chlorantraniliprole / Priscylla Costa Dantas. – Lavras : UFLA, 2016.  
107 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador: César Freire Carvalho.

Bibliografia.

1. Intestino médio. 2. Histologia. 3. Crisopídeos. 4. Inseticidas. I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**PRISCYLLA COSTA DANTAS**

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DO CANAL  
ALIMENTAR DE *Chrysoperla externa* (Hagen) EXPOSTAS AO  
THIAMETHOXAM E CHLORANTRANILIPROLE**

**MORPHOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF THE  
ALIMENTARY CANAL OF *Chrysoperla externa* (Hagen) EXPOSED TO  
THIAMETHOXAM AND CHLORANTRANILIPROLE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 31 de março de 2016.

Prof. Dr. Stephan Malfitano Carvalho	UFLA
Prof. Dr. José Eduardo Serrão	UFV
Dr. Luis Carlos Martinez Castrillon	UFV
Dra. Lenira Viana da Costa Santa-Cecília	EPAMIG

Prof. Dr. César Freire Carvalho  
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2016**

*Com todo amor e gratidão, aos meus maiores amores Emanuel, Silvane, Junior  
e Emanuelle, pessoas mais importantes da minha vida.*

**DEDICO E OFEREÇO.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de viver feliz ao lado das pessoas que amo que Ele me proporcionou nesta encarnação.

À Santa Teresinha das Rosas pelo amparo e realização de meus maiores sonhos.

Aos meus pais, minha gratidão profunda por toda a confiança e apoio em todos os momentos.

A meus irmãos, Junhão e Emanuelle, por terem rezado por mim e segurado minha mão nos inúmeros momentos difíceis que surgiram nestes quatro anos.

Ao meu orientador, César Freire Carvalho, pela oportunidade a mim concedida e pelo privilégio de ter-me confiado um trabalho inovador e complicado de ser realizado. Ao professor, Geraldo Andrade Carvalho, por toda a ajuda, ao longo dos anos, pelas ricas sugestões e críticas construtivas que contribuíram, positivamente, para o crescimento de meu trabalho.

Ao professor, José Eduardo Serrão, pela disposição em ajudar em absolutamente tudo que foi necessário para realização do trabalho. Obrigada!

À Cris, pela amizade sincera de sempre, apesar da distância que surgiu no decorrer dos anos. Ao meu querido amigo, Carlos Eduardo Bezerra, que esteve presente, desde o início e que me salvou dos milhares de dúvidas que surgiram no caminho.

À Dejjane Alves, pela maravilhosa amizade, carinho, ajuda e afeto! Você foi essencial na minha caminhada.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste sonho. Obrigada de coração, sem vocês meu trabalho não teria sido realizado.

*“Somos assim: sonhamos com o voo, mas tememos a altura. Para voar é preciso ter coragem para enfrentar o terror do vazio. Porque é só no vazio que o voo acontece. O vazio é o espaço da liberdade, a ausência de certezas. Mas é isso que tememos: o não ter certezas. Por isso trocamos o voo por gaiolas. As gaiolas são o lugar onde as certezas moram.”*

Os irmãos Karamazov - Fiódor Dostoiévski.

## RESUMO

A espécie *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) possui características que permitem incluí-las entre os inimigos naturais indicados para uso em programas de controle biológico. As larvas são capazes de predação grande variedade de presas, como pulgões, cochonilhas, moscas-branca, ovos de pequenas lagartas de lepidópteros e ácaros. A preservação dos crisopídeos, nos ecossistemas agrícolas, deve ser considerada, ao se estabelecer programas de manejo integrado de pragas e isso dependerá da compatibilidade com outros métodos de controle, especialmente, daqueles relacionados ao uso de inseticidas. O canal alimentar é o foco de muitas pesquisas, já que o uso de inseticidas pode induzir a diversas alterações no sistema digestivo de inimigos naturais. Os inseticidas thiamethoxam e chlorantraniliprole são utilizados em culturas em que há ocorrência de insetos benéficos. Deste modo, o trabalho objetivou avaliar a morfologia e ultraestrutura do canal alimentar de larvas e adultos de *C. externa* expostas a doses subletais de thiamethoxam e chlorantraniliprole. Nos tratamentos, foram utilizadas as concentrações (CL<sub>50</sub>) 0,59 ng i.a/μL do thiamethoxam e 19,62 ng i.a/μL do chlorantraniliprole, por meio de exposição por ingestão. Não foram observadas diferenciações citomorfológicas, em relação ao controle, nas análises realizadas, após a ingestão dos inseticidas. Os resultados não mostraram diferenças morfológicas regionais, no epitélio do mesêntero, mantendo sua estrutura regular típica com células digestivas do tipo colunares e ninhos de células regenerativas. Não foram observadas irregularidades na borda estriada ou danos na membrana peritrófica do mesêntero das larvas ou dos adultos. Portanto foi concluído que os inseticidas thiamethoxam e chlorantraniliprole, nas concentrações 0,59 ng i.a/μL e 19,62 ng i.a/μL, respectivamente, não ocasionam alterações morfológicas ou ultraestruturais no epitélio mesentérico de larvas e adultos de *C. externa*.

**Palavras-chave:** Alterações morfológicas. Histologia. Intestino médio.

## ABSTRACT

The *Chrysperla externa* (Hagen, 1861) has traits that allow it to be included among the natural enemies indicated for biological control programs. The larvae are capable of preying on a large variety of prey, such as aphids, mealybugs, whitefly, eggs of small lepidopteran caterpillars and mites. The preservation of green lacewing in agricultural ecosystems must be considered when establishing integrated pest management programs. This will depend on the compatibility with other control methods, especially those related to the use of insecticides. The food channel is the focus of many researches, since the use of insecticide can induce several changes in the digestive system of natural enemies. Insecticides thiamethoxam and chlorantraniliprole are used for cultures with the occurrence of beneficial insects. Thus, this work aimed at evaluating the morphology and ultrastructure of the food channel of *C. externa* larvae and adults exposed to sub-lethal doses of thiamethoxam and chlorantraniliprole. In the treatments, we used the concentrations ( $CL_{50}$ ) of 0.59 ng i.a/ $\mu$ L of thiamethoxam and 19.62 ng i.a/ $\mu$ L of chlorantraniliprole, by ingestion exposure. We observed no cytomorphological changes in relation to control in the analyses conducted after ingestion of the insecticides. The results showed no regional morphologic differences in the mesentery epithelium, maintaining its typical regular structure with column digestive cells and nests of regenerative cells. No irregularities were verified in the striated edge, or damage to the peritrophic membrane of the midgut of the larvae or adults. Therefore, we conclude that insecticides thiamethoxam and chlorantraniliprole, in the concentrations of 0.59 ng i.a/ $\mu$ L and 19.62 ng i.a/ $\mu$ L, respectively, caused no morphologic ou ultrastructural changes to the mesentery epithelium of *C. externa* larvae or adults.

**Keywords:** Morphologic changes. Histology. Midgut.

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	11
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	15
<b>2.1 Sistema digestivo dos insetos</b> .....	15
<b>2.2 Efeito de inseticidas</b> .....	17
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	21
<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS</b> .....	31
<b>ARTIGO 1 - ANATOMIA E HISTOLOGIA DO CANAL ALIMENTAR DE LARVAS E ADULTOS DE <i>Chrysoperla externa</i> (Hagen, 1861) (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE)</b> .....	31
<b>ARTIGO 2 - ULTRAESTRURA DO CANAL ALIMENTAR DE LARVAS E ADULTOS DE <i>Chrysoperla externa</i> (HAGEN, 1861) (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE) EXPOSTOS A THIAMETHOXAM E CHLORANTRANILIPROLE</b> .....	61

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

Chrysopidae (Neuroptera) apresenta, aproximadamente, 86 gêneros e 11 subgêneros, englobando em torno de 1200 espécies e exibe uma ampla diversidade morfológica e biológica, além de ser abundante em culturas de importância econômica. Essa família é a mais pesquisada em estudos entomológicos para uso como agentes de controle biológico de pragas (ADAMS; PENNY, 1985; ALBUQUERQUE, 2009; FREITAS, 2001; PAPPAS; BROUFAS; KOVEOS, 2011).

Assim, essa família destaca-se por apresentar espécies com características que permitem incluí-las entre os inimigos naturais indicados para uso em programas de controle biológico, uma vez que, como holometábolos (ASPÖCK; PLANT; NEMESCHKAL, 2001), os adultos se diferem radicalmente da fase imatura quanto aos hábitos, o que lhes confere grande vantagem evolucionária podendo explorar diversos agroecossistemas (FREITAS, 2001).

Os crisopídeos apresentam adaptações a diferentes habitats, sua presença é relatada em diferentes ecossistemas naturais e implantados (FREITAS, 2002), estando presentes em cultivos de frutíferas (MONTES et al., 2007), culturas perenes como cafeeiro (SILVA et al., 2005), hortaliças (RESENDE et al., 2007) e plantas ornamentais (CARVALHO et al., 2012). Eles são eficientes predadores, na fase larval, principalmente, no terceiro ínstar, onde possuem maior voracidade e ocorrem 72 % a 85 % do consumo total de presas (PRINCIPI; CANARD, 1984; TAVARES et al., 2012).

Os adultos da maioria das espécies, que não se alimentam de presas, utilizam como fonte principal de nutrientes os metabólitos primários das plantas, como açúcares, aminoácidos e lipídios, presentes no pólen, néctar e,

indiretamente, no “honeydew” (DOWNES, 1974; HAGEN, 1986; PRINCIPI; CANARD, 1984; WÄCKERS; RIJN; BRUIN, 2005).

No Brasil, destaca-se *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861), um predador com capacidade de supressão de pragas (BARBOSA et al., 2008) como os pulgões *Sipha flava* (Forbes, 1885) (OLIVEIRA et al., 2009), *Aphis gossypii* (Glover, 1877), *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852), *Rhodobium porosum* (Sanderson, 1901), cochonilhas como *Coccus* spp. (Hemiptera: Coccidae), *Orthezia* spp. (Hemiptera: Ortheziidae), lagartas de *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae), *Pinnaspis* spp. (Hemiptera: Diaspididae), *Selenaspidus* spp. e *Leptopharsa heveae* (Drake e Poor, 1935) (Hemiptera: Tingidae) em diversas culturas (BARBOSA et al., 2008; GAO; LIU; GE, 2007; PAPPAS; BROUFAS; KOVEOS, 2007; SOUZA et al., 2008).

A preservação dos crisopídeos, nos ecossistemas agrícolas, deve ser considerada ao se estabelecer programas de manejo de pragas. Isso dependerá da compatibilidade com outros métodos de controle, especialmente, daqueles relacionados ao uso de produtos fitossanitários, por isso, a necessidade de buscar e utilizar produtos seletivos, inócuos ou pouco tóxicos a esse inimigo natural (BARROS et al., 2006; CARVALHO et al., 2003; MOURA et al., 2009; PAPPAS; BROUFAS; KOVEOS, 2011; SILVA et al., 2005).

Há muitos estudos sobre os inseticidas utilizados nas culturas onde ocorre presença de crisopídeos (GIOLO et al., 2009; MANDOUR, 2009; NADEL et al., 2007; REZAEI et al., 2007; SCHNEIDER et al., 2009; SILVA et al., 2005), trabalhos sobre a seleção de resistência a inseticidas (PATHAN et al., 2010; VENKATESAN et al., 2009) e pesquisas sobre toxicidade de diversos inseticidas em *C. externa* (CARVALHO et al., 2002; GODOY et al., 2004; MOURA et al., 2009, 2010), visando gerar subsídios para o manejo integrado de pragas nas culturas. Entretanto são escassas as pesquisas que enfoquem no efeito de produtos fitossanitários no canal alimentar desse inseto.

O canal alimentar é o foco de muitas pesquisas, em outros grupos de insetos, já que o uso de produtos fitossanitários pode induzir a diversas alterações no sistema digestivo de inimigos naturais (AHMAD; OBIEWATSCH; BASEDOW, 2003; SCUDELER et al., 2016; SCUDELER; PADOVANI; SANTOS, 2014; SCUDELER; SANTOS, 2013), principalmente, a região do mesêntero, pois alterações nessa região podem afetar o crescimento e o desenvolvimento dos insetos, bem como a fisiologia, os quais dependem da alimentação adequada, de sua absorção e transformação (MORDUE; BLACKWELL, 1993; MORDUE; NISBET, 2000).

Os inseticidas thiamethoxam e chlorantraniliprole são utilizados com alta eficiência no controle de pragas onde há ocorrência de insetos benéficos (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA, 2008; LAWSON; NGO; KOENIG, 2000; MASON; RANCATI; BOSCO, 2000; OLIVEIRA et al., 2013; PREETHA et al., 2009; VIEIRA et al., 2012). Estudos demonstram que esses inseticidas podem causar efeitos nocivos em insetos não alvos (EL HASSANI et al., 2008; MUNHOZ et al., 2013).

Portanto, considerando a importância de *C. externa*, na agricultura, diante dos benefícios demonstrados por este predador nos agroecossistemas, há a necessidade de aprofundar o conhecimento a respeito de suas estruturas internas. Os estudos morfológicos de órgãos como o intestino, associando-se aos testes de toxicidade, são importantes para a elucidação da ação de compostos químicos nos inimigos naturais. Diante da escassez de estudos dessa natureza em crisopídeos, o presente trabalho pretende avaliar a morfologia, ultraestrutura e testar a hipótese de que ocorre efeito nocivo de doses subletais dos inseticidas thiamethoxam e chlorantraniliprole no canal alimentar de *C. externa*.



## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Sistema digestivo dos insetos**

O canal alimentar dos insetos entra em contato com diversos tipos de alimentos. Alguns digerem somente açúcar, outros, proteínas como colágeno e queratina e outros, carboidratos como a celulose. O sistema digestivo, em diferentes espécies, é fisiologicamente adaptado a essas condições (CAVALCANTE; CRUZ-LANDIM, 1999; CRUZ-LANDIM, 1985).

O sistema digestivo dos insetos é um tubo contínuo entre a boca e o ânus e compreende três regiões principais: o intestino anterior ou estomodeo, em que o alimento pode ser armazenado, filtrado, parcialmente digerido e em que, algumas vezes, ocorre a fragmentação antes que ele alcance o intestino médio. No intestino médio ou mesêntero, realiza-se a digestão química e absorção dos produtos da digestão, sendo, portanto o sítio primário de produção de enzimas digestivas dos insetos. Enquanto isso, no intestino posterior ou proctodeu, o alimento não digerido é conduzido para o exterior havendo a participação dessa região no equilíbrio osmótico do organismo (CHAPMAN, 1998; KLOWDEN, 2002; SNODGRASS, 1993; WIGGLESWORTH, 1972).

O intestino médio, segundo maior órgão do corpo dos insetos, tem como função a produção e secreção de enzimas digestivas, absorção de água, nutrientes e manutenção da homeostase. Possui origem endodérmica, sendo um tubo de diâmetro variável, formado por um epitélio simples ou pseudoestratificado, apoiado sobre uma lâmina basal, em torno da qual dispõem uma camada mais interna de fibras musculares estriadas circulares e outra mais externa de fibras longitudinais (CHAPMAN, 1998; HAKIM; BALDWIN; SMAGGHE, 2010; LEHANE; BILLINGSLEY, 1996; SNODGRASS, 1993; WIGGLESWORTH, 1972).

Na maioria dos insetos, o canal alimentar apresenta uma membrana chamada de matriz ou membrana peritrófica. Sua função está relacionada com a proteção do epitélio contra microrganismos, contra abrasão das células epiteliais pela passagem do alimento, durante a digestão, com a permeabilidade diferencial às enzimas digestivas e aos produtos de digestão e com a conservação dessas enzimas (TERRA, 1988).

Em larvas de Neuroptera, o canal alimentar é fechado entre o intestino médio e posterior (CHAPMAN, 1998; GEPP, 1984). No momento da alimentação, a larva introduz seu aparelho bucal na presa, onde enzimas são liberadas, ocorrendo digestão extraoral dos tecidos da presa, que, posteriormente, é liquefeito e sugado para dentro da cavidade oral pela ação de uma bomba muscular. O esôfago se dilata no protórax, para formar o papo ou inglúvio, que ocupa grande parte do meso e metatórax. O papo se comunica pela válvula estomodeal com o intestino médio, que ocupa grande parte do abdome. É no intestino médio que ocorre a maior parte da digestão e absorção de nutrientes (ALBUQUERQUE, 2009; FREITAS, 2002; GEPP, 1984).

O intestino posterior das larvas não é funcional, por isso, elas não eliminam resíduos metabólicos pelo ânus e, sim, como mecônio dentro do casulo pupal na emergência do adulto. Em decorrência dos hábitos alimentares da larva, poucos resíduos sólidos se acumulam ao longo de seu desenvolvimento (ALBUQUERQUE, 2009; CHEN et al., 2006; FREITAS, 2002; GEPP, 1984).

O sistema digestivo dos adultos de crisopídeo apresenta adaptações, no divertículo do papo, sendo esse grande e altamente convoluto, associado com troncos traqueais desenvolvidos, que servem para fornecer oxigênio para o metabolismo de leveduras e bactérias simbiotes mutualísticas que se proliferam no interior desse divertículo e no restante do canal alimentar (CHEN et al., 2006; WOOLFOLK; COHEN; INGLIS, 2004; WOOLFOLK; INGLIS, 2004).

Pesquisas conduzidas, anteriormente, relataram que o sistema digestivo dos crisopídeos foi estudado em várias espécies, como *Chrysopa perla* (Linnaeus, 1758), *Chrysopa oculata* Say, 1839; *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861), *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836), *Chrysoperla comanche* (Banks, 1938) (LAMUNYON, 1988; MCDUNNOUGH, 1909; SPIEGLER, 1962; WIGGLESWORTH, 1972). Muitas pesquisas são restritas à descrição morfológica e a estudos sobre a associação entre os crisopídeos com leveduras e fungos simbioses no intestino de *Chrysoperla rufilabris* (Brumeister, 1839), *Chrysoperla carnea* (Stephens), *Chrysoperla zastrowi sillemi* (BJØRNSON et al., 2013; CHEN et al., 2006; HEMALATHA et al., 2014; WOOLFOLK; INGLIS, 2004).

Recentemente, pesquisas sobre a toxicidade de substâncias vegetais em *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) foram realizadas (SCUDELER et al., 2016; SCUDELER; PADOVANI; SANTOS, 2014; SCUDELER; SANTOS, 2013). Entretanto é escasso o conhecimento a respeito da morfologia e ultraestrutura do canal alimentar de *C. externa* e das consequências da exposição desse órgão a inseticidas.

## **2.2 Efeito de inseticidas**

Pesquisas conduzidas, ao longo dos últimos anos, têm revelado a presença de níveis alarmantes de produtos fitossanitários nos ecossistemas, com persistência no solo, na água, no ar, nas plantas, nos animais e nos alimentos que, por meio desses últimos, podem chegar ao homem, ocasionando danos à sua saúde (TINGLE et al., 2003).

Os efeitos dos inseticidas sobre insetos benéficos têm sido objeto de um número cada vez maior de estudos (CROFT, 1990; HAYNES, 1988; HE et al., 2012; PREETHA et al., 2009; THOMPSON, 2003). Os inimigos naturais têm recebido mais atenção a esse respeito por causa de sua importância no manejo

integrado de pragas e produção de mel (DRIESCHE; BELLOW, 1996; OLIVEIRA et al., 2013; SCUDELER et al., 2016). Apesar dos efeitos negativos dos inseticidas para o ambiente, esse, ainda, é o método de controle de pragas mais utilizado nas culturas. Uma forma consciente do emprego de tais substâncias é mediante a utilização de inseticidas seletivos (GUEDES; LIMA; ZANUNCIO, 1992; PICANÇO et al., 1996).

A descoberta de novos produtos fitossanitários é de fundamental importância, para que esses sejam, comercialmente, viáveis no controle de pragas e, assim, possam ser usados em uma agricultura sustentável. A utilização combinada de produtos químicos e controle biológico fornece uma melhor opção para o gerenciamento das populações de pragas (CASTLE; PALUMBO; PRABHAKER, 2009; GENTZ; MURDOCH; KING, 2009).

Estudos sobre os efeitos subletais dos inseticidas sobre inimigos naturais, muitas vezes, têm como objetivo avaliar a adequação de inseticidas no MIP. No entanto os efeitos subletais sobre os inimigos naturais, raramente, são levados em conta, quando os programas de manejo são estabelecidos. Para reduzir os efeitos dos inseticidas sobre inimigos naturais, os ensaios de seletividade são realizados com o objetivo de escolher aqueles com um elevado grau de toxicidade letal contra as pragas alvo e toxicidade letal mínima aos insetos benéficos (SAKAMOTO et al., 2003).

Muitos estudos têm documentado efeitos subletais dos inseticidas sobre inimigos naturais, apesar disso apenas os testes de mortalidade são considerados, quando uma escolha entre vários inseticidas devem ser feitas, em um contexto de manejo integrado de pragas. Para avaliar, completamente, o risco, é fundamental estabelecer uma ligação entre a toxicidade de um determinado produto, em ensaios de laboratório e do risco associado à exposição em condições de campo, incluindo os efeitos letais e subletais (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

Dentre os inseticidas, cujos efeitos vêm sendo pesquisados em crisopídeos, estão os neonicotinoides, por sua alta eficiência no controle de várias pragas com ocorrência desses inimigos naturais (DANTAS, 2012; GODOY et al., 2010; GONTIJO et al., 2014) e os pertencentes ao grupo químico das diamidas antranílicas, como chlorantraniliprole (AMARASEKARE; SHEARER, 2013; RUGNO; ZANARDI; YAMAMOTO, 2015). No entanto grande parte desses estudos avalia somente a toxicidade aguda de inseticidas, ignorando os resultados indiretos, como efeitos subletais dos inseticidas sobre a fisiologia do inseto exposto (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

Os inseticidas neonicotinoides, como o thiamethoxam, são compostos orgânicos sintéticos com origem a partir da molécula de nicotina, extraída das plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) que possuem atividade por contato ou ingestão. O thiamethoxam mimetiza no organismo dos insetos a ação da acetilcolina, ou seja, é um agonista do receptor nicotínico da acetilcolina (nAChR) (ELBERT et al., 2008), levando o inseto à morte por hiperexcitação do sistema nervoso (NAUEN; BRETSCHNEIDER, 2002).

Assim como os neonicotinoides, a descoberta de outras classes de inseticidas, como as diamidas antranílicas, estão cada vez mais alcançando vendas, em grande parte do mercado global, em comparação com os organofosforados, carbamatos e piretroides e continuam a se expandir (LAHM et al., 2007; NAUEN et al., 2003; SEO et al., 2007). O chlorantraniliprole faz parte deste grupo, sendo derivado do inseticida natural rianodina, um metabólito da planta *Ryania speciosa* Vahl. (Flacourtiaceae) e seu efeito se dá pela ativação dos receptores de rianodina dos insetos, os quais liberam o cálcio armazenado no retículo sarcoplasmático até ao seu esgotamento, ocasionando uma função anormal dos músculos, causando: paralisia, letargia, cessação da alimentação e, finalmente, a morte (CORDOVA et al., 2006; LAHM et al., 2007).

No cenário eco toxicológico, os inseticidas thiamethoxam e chlorantraniliprole possuem baixa toxicidade aguda a mamíferos, não irritam a pele e os olhos, além de não ser bioacumulável (CORDOVA et al., 2006; MAIENFISCH et al., 2001). Entretanto diversos estudos demonstram que esses inseticidas são tóxicos a insetos benéficos (AMARASEKARE; SHEARER, 2013; GODOY et al., 2010; GONTIJO et al., 2014; MUNHOZ et al., 2013).

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, P. A.; PENNY, N. D. Neuroptera of the Amazon Basin. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 15, n. 3/4, p. 413-479, 1985.
- AHMAD, M.; OBIEWATSCH, H. R.; BASEDOW, T. Effects of neem-treated aphids as food/hosts on their predators and parasitoids. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 127, n. 8, p. 458-464, Sept. 2003.
- ALBUQUERQUE, G. S. Crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2009. cap. 23, p. 969-1022.
- AMARASEKARE, K. G.; SHEARER, P. W. Comparing effects of insecticides on two green lacewings species, *Chrysoperla johnsoni* and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 106, n. 3, p. 1126-1133, June 2013.
- ASPÖCK, U.; PLANT, J. D.; NEMESCHKAL, H. L. Cladistic analysis of Neuroptera and their systematic position within Neuropterida (Insecta: Holometabola: Neuropterida: Neuroptera). **Systematic Entomology**, Oxford, v. 26, n. 1, p. 73-86, 2001.
- BARBOSA, L. R. et al. Efficiency of *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) in the *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) population reduction in sweet pepper (*Capsicum annum* L). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1113-1119, jul./ago. 2008.
- BARROS, R. et al. Flutuação populacional de insetos predadores associados a pragas do algodoeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 57-64, 2006.
- BJØRNSON, S. et al. Ultrastructure and molecular characterization of the microsporidium, *Nosema chrysoperlae* sp. nov., from the green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) used for biological pest control. **Journal of Invertebrate Pathology**, Riverside, v. 106, n. 1, p. 280-288, Sept. 2013.
- CARVALHO, G. A. et al. Efeitos de inseticidas usados na cultura do algodoeiro sobre *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 699-706, out./dez. 2003.

CARVALHO, G. A. et al. Seletividade de Inseticidas a *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 615-621, out./dez. 2002.

CARVALHO, L. M. et al. Manejo de pragas em cultivo de roseira de sistema de produção integrada e sistema convencional. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 938-944, nov./dez. 2012.

CASTLE, S.; PALUMBO, J.; PRABHAKER, N. Newer insecticides for plant virus disease management. **Virus Research**, Amsterdam, v. 141, n. 2, p. 131-139, May 2009.

CAVALCANTE, V. M.; CRUZ-LANDIM, C. Types of cells present in the midgut of the insects: a review. **Naturalia**, São Paulo, v. 24, p. 19-40, 1999.

CHAPMAN, R. F. **The insect: structure and function**. 4<sup>th</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 770 p.

CHEN, T. et al. Observations on midgut structure and content on *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 99, n. 5, p. 917-919, 2006.

CORDOVA, D. et al. Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 84, n. 3, p. 196-214, Mar. 2006.

CROFT, B. A. **Arthropod biological control agents and pesticides**. New York: Wiley, 1990. 723 p.

CRUZ-LANDIM, C. Ultraestrutura e função do tubo digestivo dos insetos. **Anais da Academia de Ciências do Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 44, p. 28-41, 1985.

DANTAS, P. C. **Histomorfometria e efeito de doses subletais de thiamethoxam nos órgãos reprodutivos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae)**. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 52, p. 81-106, 2007.

DOWNES, J. A. Sugar feeding by the larva of *Chrysopa* (Neuroptera). **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 106, p. 121-125, 1974.

DRIESCHE, R. G. van; BELLOWS, T. S. **Biological control**. New York: Chapman & Hall, 1996. 539 p.

EL HASSANI, A. K. et al. Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 54, n. 4, p. 653-661, May 2008.

ELBERT, A. et al. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**, Sussex, v. 64, n. 11, p. 1099-1105, Nov. 2008.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Office to prevention, pesticides and toxic substances**. Washington, 2008. 750 p.

FREITAS, S. O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas. In: PARRA, J. R. P. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 13, p. 209-224.

FREITAS, S. **O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas**. Jaboticabal: FUNEP, 2001. 66 p.

GAO, F.; LIU, X. H.; GE, F. Energy budgets of the Chinese green lacewing (Neuroptera: Chrysopidae) and its potential for biological control of the cotton aphid (Homoptera: Aphididae). **Insect Science**, Madison, v. 14, n. 6, p. 497-502, Dec. 2007.

GENTZ, M. C.; MURDOCH, G.; KING, G. F. Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. **Biological Control**, Orlando, v. 52, n. 3, p. 208-215, Mar. 2009.

GEPP, J. Morphology and anatomy of the preimaginal stages of Chrysopidae: a short survey. In: CANARD, M.; SÉMÉRIA, Y.; NEW, T. R. (Ed.). **Biology of Chrysopidae**. The Hague: Dr. W. Junk, 1984. p. 9-19.

GIOLO, F. P. et al. Effects of pesticides commonly used in peach orchards in Brazil on predatory lacewing *Chrysoperla carnea* under laboratory conditions. **BioControl**, Dordrecht, v. 54, n. 6, p. 625-635, 2009.

GODOY, M. S. et al. Seletividade de seis inseticidas utilizados em citros a pupas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 359-364, 2004.

GODOY, M. S. et al. Seletividade fisiológica de inseticidas em duas espécies de crisopídeos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 11, p. 1253-1258, nov. 2010.

GONTIJO, P. C. et al. Non-target effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam on *Chrysoperla carnea* when employed as sunflower seed treatments. **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 87, n. 4, p. 711-719, Dec. 2014.

GUEDES, R. N. C.; LIMA, J. O. G.; ZANUNCIO, J. C. Seletividade dos inseticidas deltametrina, fenvalerato e fenitrotion para *Podisus connexivus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 339-346, 1992.

HAGEN, K. S. Ecosystem analysis: plant cultivars (HPR), entomophagous species and food supplements. In: BOETHEL, D. J.; EIKENBARY, R. D. (Ed.). **Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects**. Chichester: Ellis Horwood, 1986. p. 151-197.

HAKIM, R. S.; BALDWIN, K.; SMAGGHE, G. Regulation of midgut growth, development, and metamorphosis. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 55, p. 593-608, 2010.

HAYNES, K. F. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 33, p. 149-168, 1988.

HE, Y. X. et al. 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**, New York, v. 21, n. 5, p. 1291-1300, July 2012.

HEMALATHA, B. N. et al. Distribution and characterization of microbial communities in *Chrysoperla zastrowi sillemi*, an important predator of sap sucking insect pests. **African Journal of Microbiology Research**, Nairobi, v. 8, n. 14, p. 1492-1500, 2014.

KLOWDEN, M. J. **Physiological systems in insects**. Davis: Academic, 2002. 696 p.

- LAHM, G. P. et al. Rynaxypyr™: a new insecticidal anthranilic diamide that acts as a potent and selective receptor activator. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, New York, v. 17, n. 22, p. 6274-6279, Nov. 2007.
- LAMUNYON, C. Hindgut changes preceding pupation and related cocoon structure in *Chrysopa comanche* Banks (Neuroptera, Chrysopidae). **Psyche**, Cambridge, v. 95, p. 203-209, 1988.
- LAWSON, D. S.; NGO, N.; KOENIG, J. P. Comparison of aerial and ground applied thiamethoxam (Actara & Centric) for control of cotton pests. In: DUGGER, P.; RICHER, D. (Ed.). **Proceedings of beltwide cotton conferences**. Memphis: National Cotton Council of America, 2000. v. 2, p. 1330-1333.
- LEHANE, M. J.; BILLINGSLEY, P. F. (Ed.). **Biology of the insect midgut**. London: Chapman and Hall, 1996. p. 31-54.
- MAIENFISCH, P. et al. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. **Pest Management Science**, Sussex, v. 57, n. 2, p. 165-176, 2001.
- MANDOUR, N. S. Influence of spinosad on immature and adult stages of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). **BioControl**, Dordrecht, v. 54, p. 93-102, Feb. 2009.
- MASON, G.; RANCATI, M.; BOSCO, D. The effect of thiamethoxam, a second generation neonicotinoid insecticide, in preventing transmission of tomato yellow leaf curl geminivirus (TYLCV) by the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius). **Crop Protection**, Guildford, v. 19, n. 7, p. 473-479, Aug. 2000.
- MCDUNNOUGH, J. Uber den Bau des Darmes und seiner Anhang von *Chrysopa perla* L. **Archiv für Naturgeschichte**, Berlin, v. 75, p. 313-360, 1909.
- MONTES, S. M. N. M. et al. Levantamento de Chrysopidae (Neuroptera) em pessegueiros (*Prunus persica* L.) no oeste do Estado de São Paulo. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 113-198, jul./dez. 2007.
- MORDUE, A. J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 39, p. 903-924, 1993.

MORDUE, A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the Neem Tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.

MOURA, A. P. et al. Selectivity of pesticides used in integrated apple production to the lacewing, *Chrysoperla externa*. **Journal of Insect Science**, Tucson, v. 10, p. 121, July 2010.

MOURA, A. P. et al. Toxicidade de pesticidas recomendados na Produção Integrada de Maçã (PIM) a populações de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 3, p. 395-404, maio/jun. 2009.

MUNHOZ, R. E. F. et al. Evaluation of the toxic effect of insecticide chlorantraniliprole on the silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). **Open Journal of Animal Sciences**, Irvine, v. 3, n. 4, p. 343-353, Oct. 2013.

NADEL, H. et al. Ingestion of spinosad bait GF-120 and resulting impact on adult *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 17, n. 10, p. 995-1008, 2007.

NAUEN, R.; BRETSCHEIDER, T. New modes of action of insecticides. **Pesticide Outlook**, Cambridge, v. 12, n. 6, p. 241-245, 2002.

NAUEN, R. et al. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 76, n. 2, p. 55-69, 2003.

OLIVEIRA, A. O. et al. Desenvolvimento e reprodução de *Sipha flava* (Forbes) (Hemiptera: Aphididae) em diferentes temperaturas. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v. 38, n. 3, p. 311-316, 2009.

OLIVEIRA, R. A. et al. Side-effects of thiamethoxam on the brain and midgut of the africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Environment Toxicology**, New York, v. 29, n. 10, p. 1122-1133, Oct. 2013.

PAPPAS, M. L.; BROUFAS, G. D.; KOVEOS, D. S. Chrysopid predators and their role in biological control. **Journal of Entomology**, Deira, v. 8, n. 3, p. 301-326, 2011.

PAPPAS, M. L.; BROUFAS, G. D.; KOVEOS, D. S. Effects of various prey species on development, survival and reproduction of the predatory lacewing

*Dichochrysa prasina* (Neuroptera: Chrysopidae). **Biological Control**, Orlando, v. 43, p. 163-170, 2007.

PATHAN, A. K. et al. Resistance to pyrethroids and organophosphates increased fitness and predation potential of *Chrysoperla carnae* (Neuroptera: Chrysopidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 103, n. 3, p. 823-834, June 2010.

PICANÇO, M. C. et al. Toxicity of insecticides to *Dione juno juno* (Lepidoptera: Heliconidae) and selectivity to two of its predaceous bugs. **Tropical Science**, London, v. 36, n. 1, p. 51-53, 1996.

PREETHA, G. et al. Toxicity of selected insecticides to *Trichogramma chilonis*: assessing their safety in the rice ecosystem. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 37, n. 3, p. 209-215, July 2009.

PRINCIPI, M. M.; CANARD, M. Feeding habits. In: CANARD, M.; SÉMÉRIA, Y.; NEW, T. R. (Ed.). **Biology of Chrysopidae**. The Hague: Dr. W. Junk, 1984. p. 76-92.

RESENDE, A. L. S. et al. **Ocorrência de insetos predadores de pulgões em cultivo orgânico de couve em sistema solteiro e consorciado com adubos verdes**. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, 2007. 6 p. (EMBRAPA Agrobiologia. Comunicado Técnico, 101).

REZAEI, M. et al. Impacts of the pesticides imidacloprid, propargite, and pymetrozine on *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae): IOBC and life table assays. **BioControl**, Dordrecht, v. 52, n. 3, p. 385-398, June 2007.

RUGNO, G. R.; ZANARDI, O. Z.; YAMAMOTO, P. T. Are the Pupae and Eggs of the Lacewing *Ceraeochrysa cubana* (Neuroptera: Chrysopidae) Tolerant to Insecticides? **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 108, n. 6, p. 2630-2639, Dec. 2015.

SAKAMOTO, N. et al. The discovery of pyridalyl: a novel insecticidal agent for controlling lepidopterous pests. **Pest Management Science**, Sussex, v. 60, n. 1, p. 25-34, Jan. 2003.

SCHNEIDER, M. I. et al. Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). **Chemosphere**, Oxford, v. 76, n. 10, p. 1451-1455, Sept. 2009.

SCUDELER, E. L. et al. Cytotoxic effects of neem oil in the midgut of the predator *Ceraeochrysa claveri*. **Micron**, Oxford, v. 80, p. 96-111, Jan. 2016.

SCUDELER, E. L.; PADOVANI, C. R.; SANTOS, D. C. Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on the replacement of the midgut epithelium in the lacewing *Ceraeochrysa claveri* during larval-pupal metamorphosis. **Acta Histochemica**, Jena, v. 116, n. 5, p. 771-780, June 2014.

SCUDELER, E. L.; SANTOS, D. C. Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). **Micron**, Oxford, v. 44, p. 125-132, Jan. 2013.

SEO, A. et al. Flubendiamide, a new insecticide characterized by its novel chemistry and biology. In: OHKAWA, H.; MIYAGAWA, H.; LEE, P. W. (Ed.). **Pesticide chemistry: crop protection**. Geneva: Public Health, Environmental Safety, 2007. p. 127-135.

SILVA, R. A. et al. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro a larvas de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) e efeitos sobre as fases subseqüentes do desenvolvimento do predador. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 951-959, 2005.

SNODGRASS, R. E. **Principles of insect morphology**. 2<sup>nd</sup> ed. Ithaca: Cornell University Press, 1993. 573 p.

SOUZA, B. et al. Predation among *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) and *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) larvae under laboratory conditions. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 712-716, maio/jun. 2008.

SPIEGLER, P. E. Arthropod silks: the problem of fibrous proteins in animal tissues. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 16 p. 73-96, 1962.

TAVARES, W. S. et al. Prey consumption and development of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs and larvae and *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) eggs. **Maydica**, Bergamo, v. 56, n. 3, p. 283-290, 2012.

TERRA, W. R. Physiology and biochemistry of insect digestion an evolutionary perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 21, p. 675-734, 1988.

THOMPSON, H. M. Behavioural effects of pesticides in bees: their potential for use in risk assessment. **Ecotoxicology**, New York, v. 12, n. 1/4, p. 317-330, Feb./Aug. 2003.

TINGLE, C. C. et al. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 176, p. 1-66, 2003.

VENKATESAN, T. et al. Occurrence of insecticide resistance in field populations of *Chrysoperla zastrowi* Arabica (Neuroptera: Chrysopidae) in India. **The Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 79, n. 11, p. 910-912, 2009.

VIEIRA, S. S. et al. Efeitos dos inseticidas utilizados no controle de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B e sua seletividade aos inimigos naturais na cultura da soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1809-1818, set./out. 2012.

WÄCKERS, F. L.; RIJN, P. C. J. van; BRUIN, J. (Ed.). **Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications**. Cambridge: Cambridge University, 2005. 368 p.

WIGGLESWORTH, V. B. **The principles of insect physiology**. London: Chapman and Hall, 1972. 827 p.

WOOLFOLK, S. W.; COHEN, A. C.; INGLIS, G. D. Morphology of the alimentary canal of the *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) adults in relation to microbial symbionts. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 97, n. 4, p. 796-808, 2004.

WOOLFOLK, S. W.; INGLIS, G. D. Microorganisms associated with field-collected *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) adults with emphasis on yeast symbionts. **Biological Control**, Orlando, v. 29, n. 2, p. 155-168, Feb. 2004.



**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

**ARTIGO 1 - ANATOMIA E HISTOLOGIA DO CANAL ALIMENTAR  
DE LARVAS E ADULTOS DE *Chrysoperla externa* (HAGEN, 1861)  
(NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE)**

**Normas da revista *Annals of the Entomological Society of America*  
(VERSÃO PRELIMINAR em português)**

Dantas et al.: Morfologia do canal alimentar de *Chrysoperla externa*

Annals of the Entomological Society of America

Dr. P. C. Dantas

Universidade Federal de Lavras  
Departamento de Entomologia  
Universidade Federal de Lavras  
Lavras, MG 37200-000

Telefone: +55 35 99110 5799

E-mail: priscylla\_dantas@yahoo.com.br

**Anatomia e histologia do canal alimentar de larvas e adultos de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae)**

**P. C. Dantas<sup>1</sup> et al.**

<sup>1</sup> Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

## RESUMO

*Chrysoperla externa* é citada como importante predador com ocorrência registrada em culturas de importância econômica em diferentes estados do Brasil. O sucesso adaptativo de insetos como crisopídeos se deve à enorme variedade estrutural e à fisiologia do seu trato intestinal que lhes permite utilizar ampla variedade de substratos como fonte de nutrientes essenciais à sua sobrevivência. Embora muitos estudos forneçam dados importantes sobre a estrutura morfológica, informações mais detalhadas sobre o canal alimentar de crisopídeos têm sido investigadas em número limitado de espécies. Em *C. externa* essas informações continuam e são, ainda, mais escassas. Tendo em vista a importância desta espécie, o objetivo do trabalho foi descrever os aspectos morfológicos do canal alimentar larvas de 3º instar e adultos de *C. externa*. A investigação foi realizada por meio de análises histológicas e ultraestruturais. Os resultados obtidos na análise morfológica demonstraram que, nas larvas, o papo ocupa grande parte do estomodeo e é ligado ao mesêntero pela válvula esofágica. O mesêntero se apresenta como um saco grande de formato arredondado e possui o divertículo para reserva de alimento, na região posterior, estão inseridos oito túbulos de Malpighi. Apesar da presença de ânus, o proctodeo é uma região não funcional nas larvas de crisopídeo. Os adultos possuem adaptações, no divertículo do papo, sendo associado a grandes troncos traqueais, proventrículo cônico, contendo sulcos quitinosos, mesêntero alongado com camada epitelial fina. As análises histológicas demonstraram a presença de células colunares cilíndricas, presença de borda estriada e membrana peritrófica revestindo o bolo alimentar. Foi observada a presença de células vacuolizadas e ninhos de células regenerativas, no epitélio do mesêntero, células cúbicas e papilas retais no proctodeo. Exceto algumas poucas diferenças, o sistema digestivo das larvas e adultos de *C. externa* é semelhante ao descrito em outras espécies da família Chrysopidae.

Palavras-chave: crisopídeos, estruturas, morfologia, sistema digestivo.

## ABSTRACT

*Chrysoperla externa* is cited as an important predator with occurrence recorded in economically important cultures in different states of Brazil. The adaptive success of insects like lacewings is due to the great structural variety and the physiology of their intestinal tract that allows them to use wide variety of substrates as a source of nutrients essential for its survival. Although many studies provide important data on the morphological structure, more detailed information on the food of lacewings channel has been investigated in a limited number of species, in *C. externa* this information remain and are even scarcer. Given the importance of this species, the objective of this study was describe the morphology of the channel feeding 3rd instar larvae and adult *C. externa*. Research was carried out by means of histological and ultrastructural. The results of the morphological analysis showed that the larvae, the crop occupies much of stomodeum and is connected to the midgut by esophageal valve. The midgut is presented as a big bag of rounded shape and have the diverticulum to food reserve in the posterior region are inserted eight Malpighian tubules. Despite the presence of the anus, the proctodeo a non-functional region on the green lacewing larvae. Adults have adaptations in the crop diverticulum, being associated with large tracheal trunks, tapered proventricular containing chitinous ridges, elongated midgut with thin epithelial layer. Histological analysis showed the presence of columnar cells cylindrical, the presence of striated edge and peritrophic membrane coating the bolus. Its was observed thr presence of vacuolated cells and nests regenerative cell in the midgut epithelium, cubic cells and rectal papillae in proctodeo. Except for a few differences, the digestive system of *C. externa* larvae and adults are similar to that described in other Chrysopidae species.

Keywords: digestive system, lacewings, morphology, structures.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Chrysoperla* (Steinmann, 1964) é o mais estudado da família Chrysopidae. No Brasil, são encontradas quatro espécies desse gênero: *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861); *Chrysoperla defreitasi* Brooks, 1994; *Chrysoperla raimundoi* Freitas e Penny, 2001 e *Chrysoperla genanigra* Freitas, 2003. Contudo *C. externa*, por ser a espécie mais comum da região Neotropical (Freitas e Penny 2001), é, amplamente, estudada (Freitas 2002, Pessoa e Freitas 2008, Pessoa et al. 2010). Destaca-se, também, pela ocorrência, em diversos agroecossistemas e eficiência na regulação de populações de artrópodes-praga (Brooks e Banard 1990, Albuquerque et al. 1994, Costa et al. 2003, Carvalho e Souza 2009).

Os crisopídeos são insetos holometabólos, ou seja, suas larvas diferem das formas adultas, tanto na aparência como nos hábitos, fator que lhes confere grande vantagem evolucionária, visto que exploram diferentes nichos ecológicos (Freitas 2001).

As larvas de crisopídeos são predadores generalistas com grande potencial como agentes de controle biológico. Podem se alimentar de ovos, lagartas de pequeno tamanho, pulgões, cochonilhas, moscas brancas, psilídeos, tripés, ácaros e muitos outros artrópodes de tegumento facilmente perfurável (Carvalho e Souza 2009), e a maioria dos adultos se alimenta de recursos florais, tais como pólen e néctar, exsudados açucarados de planta, bem como honeydew excretado por hemípteros (Freitas 2002, Principi e Canard 1984).

Nas criações realizadas em laboratório, têm sido empregadas presas alternativas para as larvas, ovos dos lepidópteros *Sitotroga cerealella* Oliver (Lepidoptera: Gelechiidae), *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae). Para os adultos,

utiliza-se, como alimento, uma dieta à base de mel e levedura de cerveja 1:1(v/v) (Biagioni e Freitas 2001, Freitas 2002, Mantoanelli e Albuquerque 2007).

O sistema digestivo dos insetos é um tubo contínuo entre a boca e o ânus e compreende três regiões principais: o intestino anterior ou estomodeo em que o alimento pode ser armazenado, filtrado e, parcialmente, digerido; o intestino médio ou mesêntero em que se realiza a digestão química e absorção de nutrientes e o intestino posterior ou proctodeo em que pode ocorrer absorção de água, sais minerais, formação do bolo fecal e eliminação das fezes (Wigglesworth 1965, Snodgrass 1993, Chapman 1998, Klowden 2002, Cruz-Landim 2009).

O canal alimentar de muitos insetos está em contato com alimento fluido, enquanto em outros está em contato com alimentos sólidos, praticamente, sem água. Alguns digerem somente açúcar, outros, proteínas como colágeno, queratina e carboidratos, como a celulose. O sistema digestivo, em diferentes espécies, é fisiologicamente adaptado a essas diferentes condições (Cruz-Landim 1985, Cavalcante e Cruz-Landim 1999).

O canal alimentar de algumas espécies de crisopídeos foi morfológica e/ou histologicamente investigado em um número limitado de espécies (Mcdunnough 1909, Ickert 1968, Bitsch 1984, Principi e Canard 1984, Woolfolk et al. 2004, Hemalatha et al. 2014, Scudeler et al. 2016). Embora a maioria desses estudos forneçam dados importantes sobre a estrutura morfológica e a associação entre os crisopídeos com leveduras e fungos simbiotes, informações mais detalhadas sobre a estrutura do canal alimentar de espécies como *C. externa* continuam escassas, sendo necessária investigação mais aprofundada desse órgão.

Desta maneira, diante da inexistência de trabalhos sobre o canal alimentar de *C. externa*, sua importância, para o controle biológico de diversos organismos-praga e a necessidade de aprofundar o conhecimento a respeito da

biologia desse inseto, o objetivo deste trabalho foi realizar análise da organização morfofuncional do canal alimentar de *C. externa* do ponto de vista anatômico, histológico e ultraestrutural, além de identificar os principais tipos de células presentes ao longo do tubo digestivo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As larvas e adultos de *C. externa* utilizados foram obtidos da criação de manutenção do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras onde foram mantidos, em sala climatizada a  $25 \pm 2$  °C, UR de 70% e fotofase de 12 horas. Nessa criação, as larvas foram alimentadas com ovos de *A. kuehniella*. Os adultos foram alimentados com lêvedo de cerveja e mel (proporção 1:1), possuem acesso contínuo à água e foram criados em recipientes cilíndricos de PVC de 20 cm de altura x 20 cm de diâmetro, revestidos, internamente, por papel filtro branco. A parte superior foi vedada com filme de PVC laminado e a inferior foi apoiada, em uma bandeja plástica, forrada com papel toalha branco, conforme metodologia sugerida por Freitas (2001) e Carvalho e Souza (2009).

### **Dissecação dos intestinos**

Os espécimes foram, inicialmente, resfriados para imobilização e fixados com alfinetes entomológicos. Com auxílio de tesoura oftalmológica, foi realizada a dissecação pela região dorsal, fazendo uso de solução salina para insetos (0.1M NaCl; 0.1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0.1M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) sob microscópio estereoscópico. Uma vez dissecados, as amostras foram armazenadas em tubos de 1,5 mL, imersas em solução fixadora Zamboni (paraformaldeído 4% e ácido pícrico 0,4% em tampão fosfato) (Stefanini et al. 1967).

Para as análises de o canal alimentar, cinquenta larvas e cinquenta adultos foram dissecados e fotografados com auxílio do programa Leica Application Suite (version 3.7.0).

### **Microscopia eletrônica de varredura**

A preparação das amostras foi realizada no laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

Após dissecação, as amostras de canal alimentar dos insetos foram coletadas e imersas em solução fixativa (Karnovsky modificado - glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2,0%, tampão cacodilato 0,05M, pH 7,2), por 48 horas e submetidas ao seguinte protocolo: lavagem em água destilada (três vezes de 5min); pós-fixação em tetróxido de ósmio 1% em água destilada (30 min); desidratação em séries crescentes de álcool etílico; secagem em aparelho ponto crítico CPD 020 (Balzer Union). As amostras obtidas foram montadas em suportes de alumínio, *stubs*, com uma fita de carbono dupla face, colocada sobre uma película de papel alumínio, coberto com outro e observadas em MEV LEO EVO 40XVP. Foram geradas e registradas, digitalmente, várias imagens para cada amostra.

### **Microscopia de luz**

Os indivíduos de *C. externa* foram imobilizados em frio, em seguida, dissecados sob esteriomicroscópio, tendo todo o canal alimentar completo removido e transferido para solução tampão fosfato de sódio a 0,1 M, pH 7,2, fixados por 1 a 2 horas, em solução de glutaraldeído 2,5% , nesse mesmo tampão. Após a fixação, foram lavados, por duas horas no mesmo tampão,

desidratados em série alcoólica crescente a 30; 50; 70 e 90% (15 minutos cada) e depois em dois banhos de 10 minutos cada em álcool etílico a 99%. As amostras foram infiltradas, à temperatura ambiente, em dois banhos de quatro horas cada, sendo o primeiro com uma mistura de historesina e álcool (1:1) e o segundo com historesina pura. O material foi incluído em historesina e transferido, para moldes de silicone, que foram colocados em placas de Petri e mantidos em temperatura ambiente. Cortes semifinos com 1 µm de espessura foram obtidos em micrótomo Leica RM 2155 com navalhas de vidro. Esses foram transferidos para lâminas histológicas, as quais foram colocadas em placa aquecida a 50 °C por 15 minutos para que os cortes ficassem distendidos e aderidos à lâmina. Os cortes foram corados com hematoxilina de Harris, por 15 minutos, lavados em água corrente por 10 minutos, corados com azul de toluidina por 30 segundos e lavados em água. Para proteção dos cortes, lamínulas foram aderidas às laminas usando Entellan® (Merck Millipore) como meio de montagem. Em seguida, o material foi analisado e fotografado em microscópio de luz com câmera digital (Zeiss AxioCam ERc5s) e com o auxílio do Programa AxioVision Rel 4.8.

## **RESULTADOS**

### **Anatomia e histologia das larvas**

O canal alimentar das larvas de *C. externa* não possui divertículo para reserva de alimento. O papo ocupa grande parte do estomodeo e é ligado ao mesêntero pela válvula esofágica pouco desenvolvida, visível externamente como uma constrição entre essas duas regiões do tubo digestivo. O mesêntero se apresenta como um saco grande de formato arredondado com grande capacidade de dilatação durante a alimentação e ocupa a maior parte da região abdominal. Na região posterior do mesêntero ocorre uma pequena dilatação em que estão

inseridos os túbulos de Malpighi, em número de oito, o final dessa região é fechada, tornando o proctodeo uma região não funcional, apesar da presença do ânus ao final do tubo. Externamente não há camada muscular visível ao longo do tubo digestivo (Figura 1A).

Histologicamente, as características são semelhantes tanto na região anterior como na região posterior do intestino médio, sendo o epitélio das larvas composto por células digestivas grandes e/ou alongadas dos tipos colunar e de células regenerativas. As células digestivas possuem borda estriada, em sua superfície apical, no citoplasma das células digestivas, são encontrados vacúolos de variados tamanhos e grandes quantidades de células regenerativas agrupadas em ninhos. Os ninhos situam-se, na região basal do epitélio, sobre a membrana basal espessa. Na região apical do epitélio, encontram-se protusões citoplasmáticas de formatos e tamanhos diferentes sendo liberadas em direção ao lúmen, conferindo característica epitelial irregular nessa região. As células regenerativas são, em sua maioria pequenas, de formatos ovais, esféricos ou elipsoides (Figuras 1B, C).

O citoplasma é acidófilo com núcleos apresentando cromatina basófila dispersa e posicionada, homogeneamente, no espaço nuclear. A camada muscular é espessa e bem desenvolvida (Figura 1C). É encontrada uma grande quantidade de vacúolos citoplasmáticos, em toda extensão do epitélio, sendo observados na região basal, média e apical das células (Figura 1D).

### **Anatomia dos adultos**

O estomodeo dos adultos de *C. externa* é composto por uma faringe muscular curta como um tubo fino quase reto, seguido pelo esôfago delgado e longo (Figura 2A). Na porção posterior do esôfago, na altura do primeiro e segundo segmentos abdominais, ocorre a dilatação das paredes formando o papo

(Figura 2B). Foi observado que o tecido do papo permanece achatado quando não está preenchido (Figura 2C), esta característica permite um aumento de volume com o armazenamento de alimento (Figura 2D). O tubo digestivo de *C. externa* apresenta adaptações, como o divertículo do papo, que se apresenta grande e altamente convoluto e ocupa grande parte do abdome (Figura 2B, C, Figura 2A). Ele possui coloração azulada e está associado a grandes troncos traqueais (Figura 2C). O papo e o divertículo, em crisopídeos, são utilizados como órgão de armazenamento.

Na porção posterior do estomodeo, logo atrás do papo, está situado o proventrículo (Figura 2D). O proventrículo de *C. externa* possui formato cônico, com porção anterior esférica mais espessa e esclerotizada. Essa região é formada por oito sulcos quitinizados que estão dispostos na borda anterior. A parede externa do proventrículo apresenta rica musculatura longitudinal (Figura 2E, Figura 3B).

O mesêntero possui forma de tubo alongado, com diâmetro quase uniforme em toda sua extensão, cuja parede é formada por uma única camada de epitélio. Ocorrem ramificações traqueais longitudinais ao longo do comprimento do mesêntero (Figura 2D, Figuras 3B, C). O proctodeo é subdividido em piloro, íleo e reto, na extremidade final do canal alimentar, a região é marcada pelo piloro, que forma a válvula pilórica, de onde surgem, a partir dela, os túbulos de Malpighi (Figura 2A, Figura 3D). Ao final do íleo, ocorre a expansão do tubo formando o reto, nessa porção ocorre uma estrutura, em forma de saco, alargada e com epitélio fino. E essa estrutura é conhecida como papila retal.

### **Histologia dos adultos**

As paredes do papo e do divertículo são compostas por epitélio muito fino, revestidos por uma cutícula transparente e flexível. Não ocorre

diferenciação celular, uma vez que as estruturas do entomodeu não estão envolvidas na absorção de água ou secreção de substâncias. Apresentam-se pouco esclerotizadas e não foi possível observar espinhos ou dentes como é comumente encontrado em alguns crisopídeos. O divertículo possui o epitélio com dobras internas, com alta capacidade de distensão, o epitélio apresenta células achatadas com núcleo achatado volumoso e citoplasma escasso (Figura 4A).

O proventrículo possui células epiteliais apresentando as mesmas características da porção anterior. A extremidade final desse curto segmento se conecta ao intestino médio pela válvula cardíaca que se encontra projetada para o interior dessa última região. A parede interna do proventrículo contém sulcos quitinizados proeminentes e dobras presentes nestes sulcos, essa região é revestida com uma cutícula fortemente esclerotizada. Na passagem do intestino anterior para o médio ocorre uma modificação na disposição das camadas musculares. Na camada muscular interna, ocorre musculatura circular e músculos longitudinais na camada externa (Figura 4B).

Ainda, na região do intestino anterior, encontra-se a válvula cardíaca. É a porção de o canal alimentar em que ocorre a transição do proventrículo para o mesêntero. Essa região é marcada pela dobra interna da válvula cardíaca que forma o epitélio mesentérico. Pode-se observar a musculatura longitudinal presente na válvula cardíaca Essa região é revestida por uma cutícula e possui o epitélio simples com células digestivas colunares (Figura 4C, Figura 5A).

O mesêntero possui tecido epitelial simples, com células digestivas do tipo colunares e presença de borda estriada, todos envolvidos pela membrana peritrófica (Figuras 4D, Figura 5B). A membrana peritrófica é altamente acidófila, envolve todo o conteúdo alimentar e o separa do epitélio, o lúmen apresenta várias camadas da membrana peritrófica (Figura 5B). A borda estriada está presente como um feixe de filamentos que surge a partir da camada apical

das células. Os núcleos das células digestivas são grandes, possuem formato esférico, arredondado ou alongado, com cromatina dispersa, posicionada de forma homogênea na região intranuclear; estão localizados na região mediana da célula e possuem nucléolo (Figuras 4D, figura 5A, B).

Na transição do intestino médio para o posterior, são encontradas células digestivas do tipo colunares, células regenerativas, que se apresentam em conjuntos denominados ninhos, situados perto da lâmina basal e células vacuolizadas. A lâmina basal é espessa e apresenta invaginações por toda extensão epitelial, mas não constitui um labirinto basal (Figuras 5A, B).

A parede do intestino posterior é constituída por células epiteliais cúbicas com núcleos dispostos na região basal da célula. O piloro forma uma válvula entre o mesêntero e o proctodeo. O íleo é relativamente curto e revestido pela cutícula (Figura 5C). O reto possui epitélio fino com uma camada de células cúbicas. Ele se apresenta como uma região dilatada, em que há a ampola retal e quatro papilas retais, essa estrutura aparece como um prolongamento da parede intestinal e cada uma das papilas possui uma cavidade entre elas (Figura 5D).

## DISCUSSÃO

Ao contrário das larvas, os adultos da maioria das espécies de crisopídeo se alimentam, principalmente, de honeydew excretado por alguns hemípteros, néctar floral e extrafloral, além de pólen (Stelzl 1992, Canard 2001). As distintas estratégias alimentares se refletem na morfologia de suas peças bucais e do seu canal alimentar (Albuquerque 2009) e as principais estruturas do canal alimentar de são, facilmente, distinguíveis. Exceto algumas diferenças e independente do alimento ingerido nesse estágio, o canal alimentar segue um plano comum a diversas espécies, como demonstrado por Ickert (1968) em *Chrysoperla carnea* (Stephens), Principi e Canard (1984) em *Anisochrysa prasina* (Burmeister) e

*Chrysopa walkeri* McLachlan, Woolfolk et al. (2004) em *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister), Hemalatha et al. (2014) em *Chrysoperla zastrowi sillemi*, Scudeler et al. (2016) em *Ceraeochrysa claveri* (Navás).

O canal alimentar apresenta adaptações no divertículo do papo sendo esse grande e altamente convoluto, associado com os troncos traqueais desenvolvidos. Alguns autores descrevem o divertículo como formato típico de “bolsa” ou “bolsos acoplados”, por seu aspecto enrolado (convoluto) (Hagen e Tassan 1966, Hagen et al. 1970, Canard et al. 1990, Woolfolk et al. 2004, Gibson e Hunter 2002). Hagen et al. (1970) afirmaram que somente em espécies de crisopídeos glicopolínívoros os troncos traqueais apresentam maior tamanho, chegando a possuir um diâmetro cinco vezes superior às espécies predadoras, presumivelmente, para fornecer oxigênio para o metabolismo das leveduras simbiotes mutualísticas que se proliferam no interior do divertículo. O divertículo convoluto como o de *C. externa* foi encontrado em *A. prasina* (Bitsch 1984) e *C. rufilabris* (Woolfolk et al. 2004), *C. claveri* (Scudeler et al. 2016) e *C. zastrowi* (Hemalatha et al. 2014). O divertículo com numerosas dobras difere do encontrado em *C. walkeri* e *C. carnea*, que, apesar de extenso, apresenta-se como tubo expandido (Ickert 1968, Bitsch 1984). Chapman (1998) afirmou que várias espécies de insetos possuem essa estrutura de divertículo, incluindo adultos de moscas Tephritidae, entretanto grandes troncos traqueais articulados ao divertículo são exclusivos de espécies de crisopídeos. Tanto o papo como seu divertículo servem para armazenamento do alimento ingerido (Albuquerque 2009). De acordo com Ickert (1968), nesses órgãos, iniciar-se-ia a digestão. O divertículo é cercado por músculos circulares responsáveis pelas contrações peristálticas que direcionam o alimento em direção anterior, de volta ao papo ou, mais frequentemente, para o proventrículo, que se abre próximo à extremidade anterior (Albuquerque 2009).

A morfologia do mesêntero de *C. externa* é semelhante ao descrito em outras espécies da família Chrysopidae, como *C. rufilabris* (Woolfolk e Inglis 2004), *C. claveri* (Scudeler et al. 2016) com formato típico de tubo retilíneo que se alonga até o ânus e se expande à medida que ocorre aumento na alimentação do inseto. O proctodeo é marcado por um estreitamento do tubo digestivo, sendo subdividido em piloro, íleo ou intestino fino e reto. Ao final do íleo, ocorre a expansão do tubo formando o reto, nessa porção ocorre uma estrutura em forma de saco, alargado e com epitélio fino, sendo conhecida como papila retal (Bitsch 1984, Chapman 1998).

Histologicamente, nas estruturas do estomodeo como papo e divertículo, não ocorre diferenciação celular, uma vez que não estão envolvidas na absorção de água ou secreção de substâncias. O divertículo apresenta-se pouco esclerotizado, entretanto não foi possível observar espinhos ou dentes como é comum em alguns crisopídeos como *C. rufilabris* (Woolfolk et al. 2004). Na região do intestino anterior está presente a válvula cardíaca ou estomodeal. Esta, aliada às contrações peristálticas da musculatura circular do esôfago presente nessa região, impede o retorno dos fluidos ingeridos na alimentação (Albuquerque 2009).

O mesêntero possui epitélio simples achatado, com células digestivas do tipo colunares e presença da borda estriada, todos envoltos pela membrana peritrófica. O epitélio repousa sobre uma lâmina basal seguida de fibras musculares circulares internas e longitudinais externas (Scudeler et al. 2016). Segundo Albuquerque (2009), as células digestivas do epitélio mesentérico de crisopídeos estão envolvidas tanto na secreção de enzimas para a digestão como na absorção dos nutrientes. Na grande maioria dos insetos o epitélio é descrito sendo do tipo simples colunar, como observado por Gonçalves et al. (2014) no apídeo *Bombus morio* (Swederus, 1787), Gonçalves et al. (2013) avaliando o icthneumonídeo *Campoletis flavicincta* (Ashmead, 1890), Fialho et al. (2009)

no pentatomídeo *Brontocoris tabidus* (Signoret, 1863), diferente do encontrado por Scudeler et al. (2014) em *C. claveri*.

A borda estriada está presente como um feixe de filamentos que surgem a partir da camada apical das células. A membrana peritrófica se estende do proventrículo até a região mediana do intestino, de forma que o alimento não entra em contato direto com o epitélio entérico. Os resultados encontrados no presente trabalho confirmam o encontrado por Woolfolk, et al. (2004) em *C. rufilabris* por meio microscopia eletrônica de varredura, Chen et al. (2006) em *C. carnea* e Scudeler et al. (2016) em *C. claveri*, uma vez que Bitsch (1984) questionou a existência da membrana peritrófica no mesêntero de adultos de crisopídeos. A membrana peritrófica é comum na maioria dos insetos, embora alguns autores afirmem não haver presença em algumas espécies das ordens Hemiptera e Thysanoptera, onde ocorre uma membrana perimicrovilar e em algumas espécies de dípteros que a produção da membrana ocorre somente após a primeira alimentação (Terra 1988, Terra e Ferreira 1994, Silva et al. 1995, Chapman 1998).

Em toda extensão do epitélio, foi possível perceber protusões citoplasmáticas, também chamadas de borbulhas apicais (Cruz-Landim 2009), sendo eliminadas pelas células e liberadas na região do lúmen. As protusões citoplasmáticas estão principalmente relacionadas com processos de degeneração, servindo para eliminação de componentes celulares (De Priester 1971). Para Cruz-Landim et al. (1996) elas caracterizam um processo de secreção enzimática para o lúmen intestinal. As células colunares do epitélio mesentérico estão envolvidas tanto na secreção de enzimas para a digestão como na absorção dos nutrientes (Terra e Ferreira, 1994, Albuquerque 2009).

A região posterior do canal alimentar tem estrutura semelhante à do esôfago, com parede cercada por músculos circulares e com epitélio fino, mas com cutícula interna repleta de pequenos espinhos (Woolfolk et al. 2004). O

piloro possui a válvula pilórica na transição entre o intestino médio e o posterior, onde se abrem os túbulos de Malpighi (Serrão e Cruz-Landim 1996). A região pilórica é provida de uma grossa bainha de músculos circulares (Bitsch 1984). São encontradas quatro papilas retais em *C. externa*, sendo estruturas especializadas na absorção de água e íons do conteúdo retal (Gupta e Berridge 1966, Snodgrass 1993; Serrão et al. 2004, Santos et al. 2009). Chapman (1998) citou que comumente os insetos possuem seis papilas retais, resultado confirmado por Wolfolk et al. (2004) em *C. rufilabris*, contudo, diferente do encontrado em *C. externa*.

Segundo Chapman (1998), ocorre duas camadas de células digestivas nas papilas retais de neurópteros, enquanto nos outros grupos de insetos ocorre apenas uma camada. A cutícula das papilas retais é mais fina quando comparado com o restante do proctodeo. A região posterior do reto é estreita e menos esclerotizada e o ânus, cercado de músculos circulares e longitudinais, se abre na membrana entre as placas anais do décimo tergito (Albuquerque 2009).

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

## REFERÊNCIAS

**Albuquerque, G. S., C. A. Tauber, and M. J. Tauber. 1994.** *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Life history in Central and South America. *Bio. Control.* 4: 8-13.

**Albuquerque, G. S. 2009.** Crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae). In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). Bioecologia e nutrição de insetos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 23: 969-1022.

**Biagioni, A., and S. Freitas. 2001.** Efeito de diferentes dietas sobre o desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysoperla defreitasi* Brooks (Neuroptera: Chrysopidae). Neotrop. Entomol. 30: 333-336.

**Bitsch, J. 1984.** Anatomy of adult Chrysopidae, pp. 29-36. In M. Canard, SÉMÉRIA, Y.; NEW, T. R. (Ed.). Biology of Chrysopidae. The Hague: W. Junk.

**Brooks, S. J., and P. C. Barnard. 1990.** The green lacewings of the world: A generic review (Neuroptera: Chrysopidae). Bull. br. Mus. nat. 59: 117-286.

**Carvalho, C. F., and B. Souza. 2009.** Métodos de criação e produção de crisopídeos, pp. 77-115. In BUENO, V. H. P. (Ed.). Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. 2. ed. Lavras: UFLA.

**Canard, M., H. Kokubu, and P. Duelli. 1990.** Tracheal trunks supplying air to the foregut and feeding habits in adults of European green lacewing species (Insecta: Neuroptera: Chrysopidae). pp. 277-286. In M. W. Mansell and H. Aspöck, (Ed.). Advances in Neuropterology: proceedings of the third international symposium on Neuropterology. Pretoria: [s.n.].

**Canard, M. 2001.** Natural food and feeding habits of lacewings, pp. 116-129. In P. Mcewen, T. R. New, and A. E. Whittington, (Ed.). Lacewings in the crop environment. Cambridge: Cambridge University.

**Cavalcante, V. M., and C. Cruz-Landim. 1999.** Types of cells present in the midgut of the insects: a review. Naturalia 24: 19-40.

**Chapman, R. F. 1998.** The insect: structure and function. 4. ed. Cambridge: University Press.

- Chen, T., C. Chu, C. Hu, J. Um, and T. J. Henneberry. 2006.** Observations on midgut structure and content on *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99: 917–919.
- Costa, R. I. F., C. F. Carvalho, B. Souza, and J. Loreti. 2003.** Influência da densidade de indivíduos na criação de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). *Ciência e Agrotecnologia.* 27: 1.539-1.545.
- Cruz-Landim, C. 1985.** Ultraestrutura e função do tubo digestivo dos insetos. *An. Acad. de Ciên. São Paulo* 44: 28-41.
- Cruz-Landim, C., J. E. Serrão, and R. L. M. Silva-de-Moraes. 1996.** Cytoplasmic protusions from digestive cells of bees. *Cytobios* 88: 95-194.
- Cruz-Landim, C. 2009.** *Abelhas: Morfologia e Função de Sistemas.* Editora Unesp, Sao Paulo, Brasil.
- De Priester, W. 1971.** Ultrastructure of the midgut epithelial cells in the fly *Calliphora erythrocephala*. *J Ultrastruct Research.* 36: 783-805.
- Fialho, M. C. Q., J. C. Zanuncio, C. A. Neves, F. S., Ramalho, J. E. Serrão. 2009.** Ultrastructure of the digestive cells in the midgut of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) after different feeding periods on prey and plants. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 102: 119-127.
- Freitas, S. 2001.** Criação de crisopídeos (Bicho-lixieiro) em laboratório. Jaboticabal: Funep.
- Freitas, S., and N. D. Penny, 2001.** The green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) of Brazilian agro-ecosystems. *Proc. Calif. Acad. Sci.* 52: 245-395.
- Freitas, S. 2002.** O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas. *In* J. R. P. Parra, (Ed.). *Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores.* São Paulo: Manole. 13: 209-224.
- Gibson, C. M., and M. S. Hunter. 2005.** Yeast symbionts in the green lacewing, *Chrysoperla* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), pp. 55. *In* Annual

Meeting of the Entomological Society of America, 50., 2002, Fort Lauderdale. Abstracts... Lanham: Entomological Society of America.

**Gonçalves, W. G., M. P. Gonçalves, C. A. Neves, G. F. Martins, J.C. Zanuncio, and J. E. Serrão. 2013.** The Midgut of the Parasitoid *Campoletis flavicineta* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Fla Entomol. 96: 1016-1022.

**Gonçalves, W. G., C. Mdo. Fialho, D. O. Azevedo, J. C. Zanuncio, and J.E. Serrão. 2014.** Ultrastructure of the Excretory Organs of *Bombus morio* (Hymenoptera: Bombini): Bee Without Rectal Pads. Microsc. Microanal. 20: 285-295.

**Gupta, B. L., and M. J. Berridge. 1966.** A coat of repeating subunits on the cytoplasmic surface of the plasma membrane in the rectal papillae of the blowfly, *Calliphora erythrocephala* (Meig.), studied in situ by electron microscopy. J Cell Biol. 29: 376-382.

**Hagen, K. S., and R. L. Tassan. 1966.** The influence of protein hydrolysates of yeasts and chemically defined diets upon the fecundity of *Chrysopa carnea* Stephens (Neuroptera). Acta Soc. Zool. Bohemoslov. 30: 219-227.

**Hagen, K. S., R. L. Tassan, and E. F. Sawall Junior. 1970.** Some ecophysiological relationships between certain *Chrysopa*, honeydews and yeasts. Boll. Lab. Entomol. Agrar. Portici. 28: 113-134.

**Hemalatha, B. N., T. Venkatesan, S. K. Jalali, and B. Reetha. 2014.** Distribution and characterization of microbial communities in *Chrysoperla zastrowi sillemi*, an important predator of sap sucking insect pests. Afr. J. Microbiol. Res.14: 1492-1500.

**Ickert, G. 1968.** Beiträge zur biologie einheimischer chrysopiden (Planipennia, Chrysopidae). Entomologische Abhandlungen: museum für Tierkunde. 36: 123-192.

**Klowden, M. J. 2002.** Physiological systems in insects. California: Academic Press.

**Mantoanelli, E., and G. S. Albuquerque. 2007.** Desenvolvimento e comportamento larval de *Leucochrysa (Leucochrysa) varia* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae) em laboratório. *Rev. Bras. Zool.* 24: 302-311.

**Mcdunnough, J. 1909.** Extracellular fibrous proteins: the silks, pp.475-558. *In* Comprehensive Biochemistry, Eds. M. Florkin and E. H. Stotz. Elsevier, Amsterdam.

**Pessoa, L. G. A., and S. Freitas. 2008.** Potencial reprodutivo de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera, Chrysopidae) em função do número de indivíduos por unidade de criação. *Rev. Bras. Entomol.* 52: 463-466.

**Pessoa, L. G. A., S. Freitas, and E. S. Loureiro. 2010.** Adequação de dietas para criação de adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Arq. Inst. Biol. (Sao Paulo)* 77: 723-725.

**Principi, M. M., and M. Canard. 1984.** Feeding habits, pp. 76-92. *In* M. Canard, Y. Séméria, NEW, T. R. Biology of Chrysopidae. The Hangu: Dr. W. Junk Publishers.

**Santos, C. G., C. A. Neves, J. C. Zanuncio, and J. E. Serrão. 2009.** Postembryonic development of rectal pads in bees (Hymenoptera, Apidae). *Anat. Rec.* 292: 1602-1611.

**Scudeler, E. L., C. R., Padovani, D. C. Santos. 2014.** Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on the replacement of the midgut epithelium in the lacewing *Ceraeochrysa claveri* during larval-pupal metamorphosis. *Acta Histochem. (Print)* 116: 771-780.

**Scudeler, E. L., A. S. G. Garcia, C. R. Padovani, P. F. F. Pinheiro, and D. C. Santos. 2016.** Cytotoxic effects of neem oil in the midgut of the predator *Ceraeochrysa claveri*. *Micron* 80: 96-111.

**Serrão, J. E., and C. Cruz-Landim. 1996.** Ultrastructure of digestive cells in stingless bees of various ages (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Cytobios* 88: 161-171.

**Serrão, J. E., S. Marques-Silva, and G. F. Martins. 2004.** The rectum of *Oxaea flavescens* (Andrenidae) has a specialized structure among bees. *Micron* 35: 245-253.

**Snodgrass, R. E. 1993.** Principles of insect morphology. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press.

**Silva, C. P. R., A. F. Ribeiro, S. Gulbenkian, and W. R. Terra. 1995.** Organization, origin and function of the outer microvillar (perimicrovillar) membranes of *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera) midgut cells. *J Insect Physiol.* 41: 1093-1103.

**Stefanini, M., C. De Martino, and L. Zamboni. 1967.** Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. *Nature* 216: 173-174.

**Stelzl, M. 1992.** Comparative studies on mouthparts and feeding habits of adult Raphidioptera and Neuroptera (Insecta: Neuropteroidea), pp. 341-347. *In* M. Canard, H. Aspöck, and M. W. Mansell (Ed.). Current research in Neuropterology: proceedings of the fourth international symposium on Neuropterology. Toulouse: [s.n.].

**Terra, W. R. 1988.** Physiology and biochemistry of insect digestion: an evolutionary perspective. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 21: 675-734.

**Terra, W. R., and C. Ferreira. 1994.** Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. *Comp. Biochem. Phys.* 109: 1-62.

**Wigglesworth, V. B. 1965.** The principles of insect physiology. 6.ed. London: Methuen.

**Woolfolk, S. W.; A. C. Cohen, and G. D. Inglis. 2004.** Morphology of the alimentary canal of the *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) adults in relation to microbial symbionts. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97: 796-808.

**Woolfolk, S. W., and G. D. Inglis. 2004.** Microorganisms associated with field-collected *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) adults with emphasis on yeast symbionts. *Biol. Control.* 29: 55-168.

## LEGENDA DAS FIGURAS

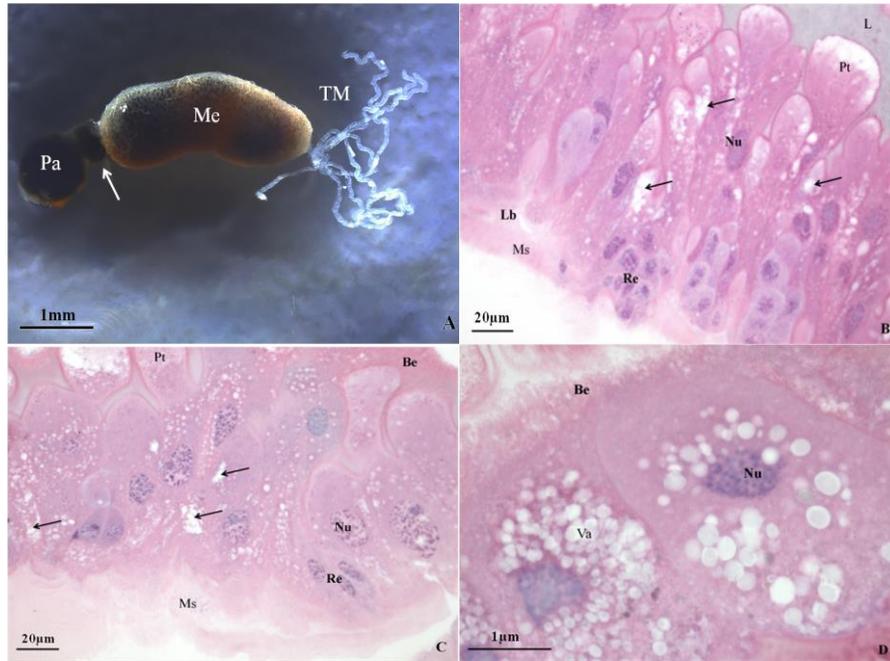
**Figura 1.** Canal alimentar de larvas de *C. externa*. **A** Morfologia externa do canal alimentar, constrição da válvula esofágica (seta) que liga papo (Pa) ao mesêntero (Me), túbulos de Malpighi (TM). **B** Região anterior do intestino médio, células digestivas de formato colunar alongado com presença de muitos ninhos de células regenerativas (Re), protusões citoplasmáticas acidófilas (Pt) sendo liberadas no lúmen intestinal (L), presença de vacúolos (setas) de diversos tamanhos, núcleos (Nu) arredondados com cromatina basófila, região basal com camada muscular (Ms) e lâmina basal espessa (Lb). **C** Região posterior do intestino médio apresentando epitélio com mesmas características da região anterior, protusões citoplasmáticas (Pt), vacúolos (setas), ninhos de células regenerativas (re), núcleos arredondados (Nu), camada muscular (Ms), borda estriada (Be). **D** Detalhe das células digestivas, presença de grande quantidade de vacúolos citoplasmáticos (Va), cromatina basófila posicionada homogeneamente no núcleo (Nu), borda estriada (Be).

**Figura 2.** Canal alimentar completo de *C. externa*. **A** Faringe (Fa), esôfago (Es), papo (Pa), proventrículo (Pv), divertículo (Dv), mesêntero (Me), túbulos de Malpighi (TM), ânus (An). **B** Estomodeu, esôfago (Es), papo (Pa), proventrículo (Pv) divertículo (Dv), mesêntero (Me), traqueias (seta longa). **C** Detalhes dos grandes troncos traqueais associados ao divertículo, papo (Pa), traqueia (Tq), traquéolas (Tql), proventrículo (Pv), mesêntero (Me). **D** Localização do proventrículo (seta). **E** Detalhe da estrutura do proventrículo (Pv), sulcos quitinizados na porta anterior, musculatura longitudinal. **F** Proctodeu (Pr), bolo fecal (BF), íleo (Im), reto (Rt), ânus (An).

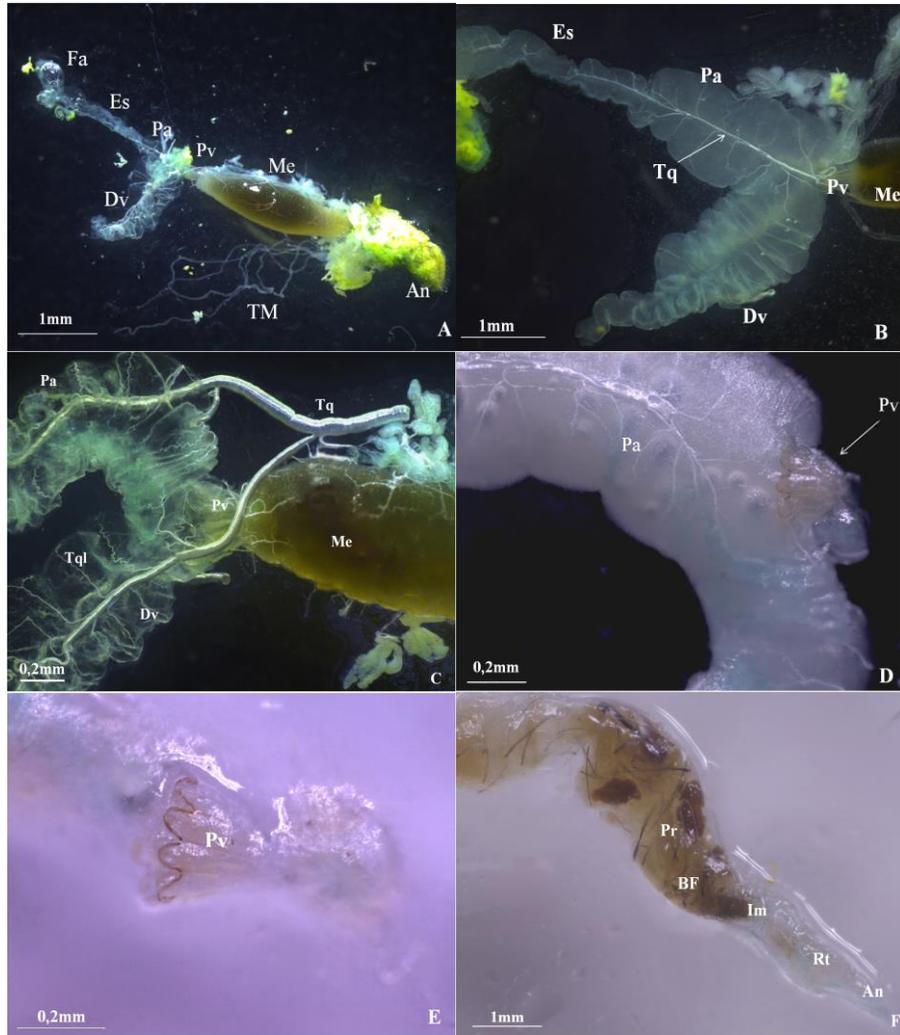
**Figura 3.** Elétron micrografias demonstrando a subdivisão do intestino de *C. externa*. **A** Divertículo altamente convoluto, detalhe nas “dobras” do tecido, faringe (Fa), divertículo (Dv). **B** Vista lateral mostrando a forma cônica do proventrículo (Pv), a ligação com o divertículo (Dv) e o mesêntero (Me). **C** Vista geral da superfície epitelial do mesêntero (Me), ramificação longitudinal das traquéolas (setas) fixadas na parte exterior do mesêntero (Me). **D** Subdivisão do proctodeu. Píloro (Pi), Íleo (Im), reto (seta). Detalhe para a ligação dos túbulos de malpighi (TM) da região do píloro.

**Figura 4.** Micrografias de microscopia de luz das diferentes porções do canal alimentar de *C. externa*. **A** Epitélio fino (Ep) do divertículo com dobras internas, revestido por cutícula fina (asterisco) e composto por células achatadas (setas), lúmen (L). **B** Proventrículo apresentando sulcos quitinizados (Sq), músculos circulares (Mc) e longitudinais (MI) e cutícula esclerotizada (setas), epitélio simples (Ep). **C** Válvula cardíaca (VC) conectada à porção anterior do mesêntero (Me), presença de músculos longitudinais (MI), epitélio apresentando células digestivas (Cd), lúmen (L). **D** Epitélio do mesêntero apresentando camada muscular (Ms), células digestivas (Cd), membrana peritrófica (MP), lúmen (L), invaginações da lâmina basal (Lb) e ninhos de células regenerativas (setas).

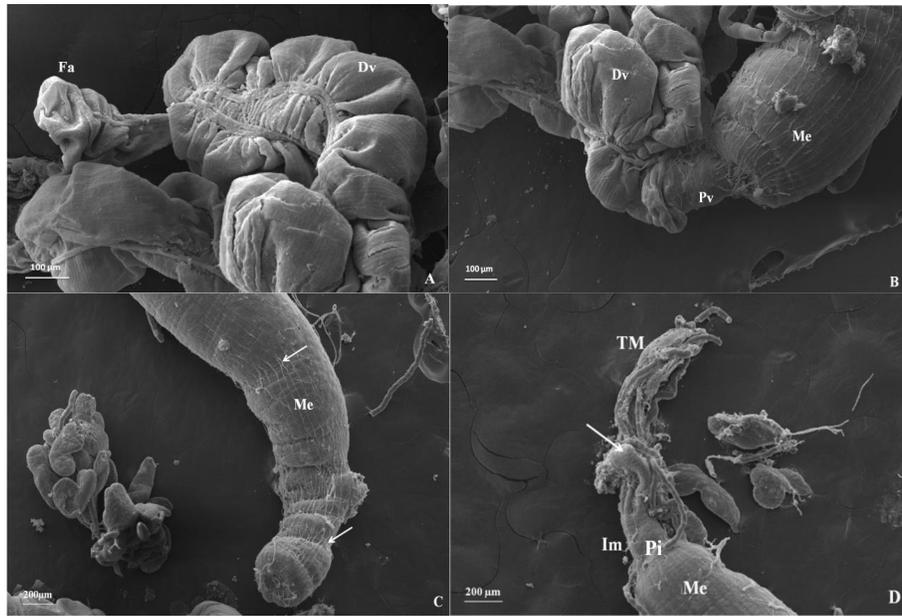
**Figura 5.** **A** Epitélio do mesêntero (Ep) apresentando vacúolos (Va), camada muscular (Ms), membrana peritrófica (MP), ninho de células regenerativas (seta longa), núcleo (Nu) lâmina basal aparente (setas curtas), espaço entre o lúmen (L) e o epitélio (asteriscos). **B** Detalhe da membrana peritrófica (MP) envolvendo o lúmen (L), espaço entre o lúmen (L) e o epitélio (asterisco), núcleo (Nu), lâmina basal (Lb). **C** Proctodeo apresentando células cúbicas (Cb), região do íleo (Im), túbulos de Malpighi (setas). **D** Reto (Rt): papilas retais (setas) com cavidades entre elas (asteriscos), composta por células cúbicas (Cb), íleo (Im), secção dos túbulos de malpighi (TM).



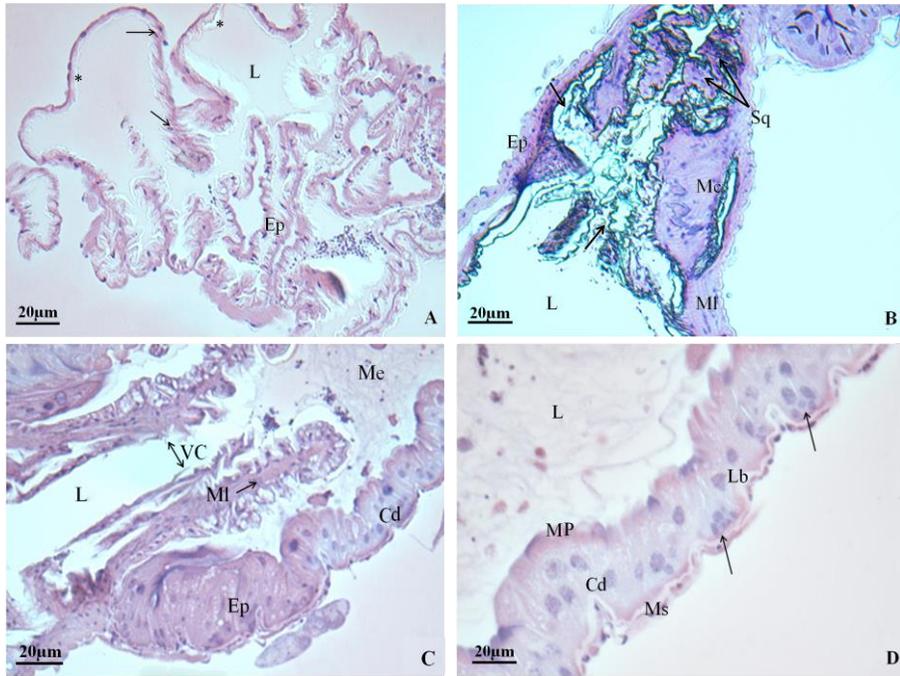
**Figura 1**



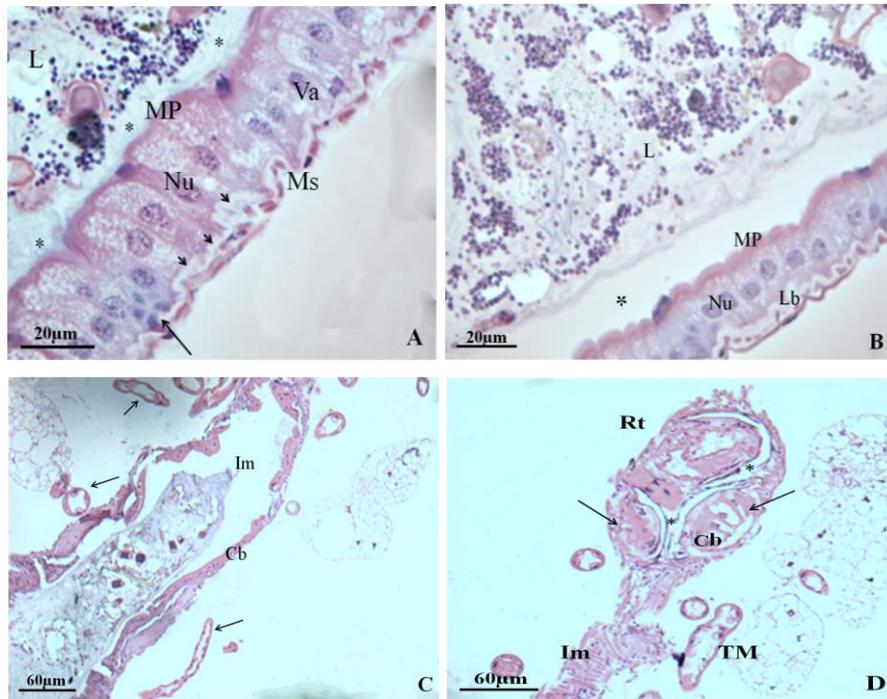
**Figura 2**



**Figura 3**



**Figura 4**



**Figura 5**



**ARTIGO 2 - ULTRAESTRURA DO CANAL ALIMENTAR DE LARVAS  
E ADULTOS DE *Chrysoperla externa* (HAGEN, 1861) (NEUROPTERA:  
CHRYSOPIDAE) EXPOSTOS A THIAMETHOXAM E  
CHLORANTRANILIPROLE**

**Normas da revista Chemosphere  
(VERSÃO PRELIMINAR em português)**

**Priscylla Costa Dantas<sup>1</sup>**

**César Freire Carvalho<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Doutora em Entomologia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

<sup>2</sup> Professor/Orientador do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

**Destaques:**

- O canal alimentar de *C. externa* não foi afetado pelos inseticidas.
- Exposição a thiamethoxam e chlorantraniliprole não afetou as células do mesêntero.
- Não ocorreram danos nos tecidos expostos às doses subletais dos inseticidas.
- Larvas e adultos de *C. externa* foram resistentes à exposição de doses subletais.

Ultraestrutura do canal alimentar de larvas e adultos de *Chrysoperla externa*

(Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) expostos a thiamethoxam e

chlorantraniliprole

Priscylla Costa Dantas<sup>a</sup>, César Freire Carvalho<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG  
37200-000, Brasil

Título curto: Toxicidade de thiamethoxam e chlorantraniliprole em *Chrysoperla externa*

\* Autor Correspondente:

Dr. Priscylla Costa Dantas  
E-mail: [priscylla\\_dantas@yahoo.com.br](mailto:priscylla_dantas@yahoo.com.br)

Figuras: 6

## RESUMO

A espécie *Chrysoperla externa* é muito estudada no Brasil por se destacar como agente potencial de controle biológico de pragas. Ela apresenta grande adaptabilidade a diversos agroecossistemas, elevado potencial reprodutivo e tolerância a determinados grupos de inseticidas. São realizadas múltiplas aplicações de inseticidas em culturas com ocorrência de crisopídeos. Entre os inseticidas amplamente utilizados estão o thiamethoxam e o chlorantraniliprole, pertencentes a dois diferentes grupos, neonicotinoides e diamidas antranílicas, que apesar da premissa de serem seletivos e possuírem baixa toxicidade, esses inseticidas, eventualmente, apresentam riscos potenciais para organismos não alvo, devido à sua capacidade para contaminar o pólen e o néctar floral e extrafloral. Portanto, o trabalho objetivou avaliar a ultraestrutura do mesêntero de larvas e adultos de *C. externa* expostos submetidos às concentrações 0,59 ng i.a/ $\mu$ L do thiamethoxam e 19,62 ng i.a/ $\mu$ L do chlorantraniliprole. Os insetos foram observados após exposição por ingestão e avaliação foi realizada por meio de análises histológicas e ultraestruturais.

Foi oferecido aos insetos dieta contendo a solução inseticida, as larvas foram alimentadas com ovos de *A. kuehniella* durante a fase larval e dissecados, os adultos foram dissecados após um dia, doze dias e trinta dias da ingestão. Os resultados demonstraram que estes inseticidas nas concentrações utilizadas não causaram alterações no epitélio do mesêntero nem perda da organização estrutural celular.

Tanto na porção anterior quanto na posterior do mesêntero foram encontradas típicas células digestivas colunares com morfologia regular, núcleos arredondados com cromatina homogênea e ninhos de células regenerativas espalhadas ao longo de todo mesêntero, semelhantes às encontradas no tratamento controle. As células apresentam vacuolização citoplasmática mesmo no tratamento controle, não havendo indicação de que a exposição aos inseticidas tenha influenciado na formação destes vacúolos. Diante destes resultados, pode-se concluir que a ingestão dos inseticidas thiamethoxam e chlorantraniliprole, não ocasionou efeitos negativos na estrutura epitelial e citomorfologia das células de larvas e adultos de *C. externa* nas concentrações utilizadas.

Palavras-chave: crisopídeos; histologia; intestino médio.

### ABSTRACT

*Chrysoperla externa* is studied in Brazil stand out as a potential agent of biological pest control. She has great adaptability to different agro-ecosystems, high reproductive potential and tolerance to certain insecticides groups. They are carried out multiple applications of insecticides on crops with the occurrence of lacewings. Among the insecticides widely used are the thiamethoxam and chlorantraniliprole, belonging to two different groups, neonicotinoids and anthranilic diamides, that although the premise of being selective and having low toxicity, these insecticides possibly pose potential risks to non-target organisms, due to their ability to infect pollen and floral nectar, and extrafloral. Therefore, the study aims to evaluate the ultrastructure the midgut of larvae and adults of *C. externa* subjects exposed to concentrations 0.59 ng a.i. /  $\mu$ L of thiamethoxam and 19.62 ng a.i. /  $\mu$ L of chlorantraniliprole. The insects were observed after exposure through intake and evaluation was performed by histological and ultrastructural analysis. Was offered to insects diet containing the insecticide solution, the larvae were fed with eggs of *A. kuehniella* during the larval stage and dissected, adults were dissected after a day, twelve days and thirty days of ingestion. The results showed that these insecticides in the used concentrations did not cause changes in the midgut epithelial cell or loss of structural organization. Both the anterior portion when the back of the midgut were found typical columnar digestive cells with regular morphology, rounded nuclei with chromatin and homogeneous nests regenerative cells scattered throughout the midgut, similar to those found in the control. The cells are vacuolated even in the control treatment, there is no indication that exposure to insecticides has influenced the formation of these vacuoles. Therefore it can be concluded that ingestion of insecticides thiamethoxam e chlorantraniliprole, did not cause adverse effects on the epithelial structure and cytomorphology in larvae and adults of *C. externa* concentration used.

Keywords: histology, lacewings, midgut.

## 1 Introdução

A família Chrysopidae destaca-se por possuir espécies usadas como agentes potenciais de controle biológico de pragas, uma vez que suas larvas são predadores vorazes com amplo espectro de presas (Freitas, 2002; Hassanpour et al., 2011; Pappas et al., 2011). Por serem insetos holometábolos, os adultos diferem dos estágios imaturos quanto aos hábitos, tendo em vista que larvas e adultos exploram diferentes nichos ecológicos que lhes confere vantagem evolucionária podendo explorar diversos agroecossistemas (Freitas, 2001).

O gênero *Chrysoperla* é o mais estudado em todo o mundo e possui espécies comercializadas por várias empresas na América do Norte e Europa visando ao controle de pragas em cultivos agrícolas, especialmente, pulgões (Hemiptera: Aphididae), ácaros (Acari) e moscas-brancas (Hemiptera: Aleyrodidae) (Hagley, 1989; Hagley e Miles, 1987; Hassan, 1978; Klingen et al., 1996; Tauber et al., 2000).

No Brasil, estudos sobre aspectos da biologia de crisopídeos restringem-se a poucas espécies, com destaque para *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861), visando a sua inclusão em programas de controle biológico (Figueira et al., 2000). Essa espécie apresenta grande adaptabilidade ao clima e a condições adversas, elevado potencial reprodutivo, tolerância a determinados grupos de inseticidas (Pathan, 2008; Pathan et al., 2010).

Os hábitos alimentares dos adultos de *C. externa* são variáveis, podendo se alimentar de pólen, exsudados açucarados de plantas, “honeydew” e néctar (Principi e Canard, 1984; Albuquerque, 2009). As larvas são efetivas predadoras de pulgões, cujas espécies, em sua maioria, são capazes de suprir suas necessidades nutricionais e assegurar o desenvolvimento normal ao longo de seu ciclo de vida (Fonseca et al., 2000; Freitas, 2001; Maia et al., 2004; Salamanca et al., 2011), e podem se alimentar de ovos, lagartas de pequeno tamanho,

pulgões, cochonilhas, moscas brancas, psilídeos, tripés, ácaros e muitos outros artrópodes de tegumento facilmente perfurável (Carvalho e Souza, 2009). A voracidade das larvas é uma das características que os tem convertido em biocontroladores de importância em diversos cultivos, tanto em campo como em casa de vegetação (Boregas et al., 2003; Valencia et al., 2006).

Apesar do manejo integrado de pragas (MIP) promover a utilização de controle biológico como método racional de controle de pragas, muitas vezes esse método não é eficaz o suficiente para diminuir as grandes populações de pragas (Medina et al., 2009; Jalali et al., 2009). Assim, são realizadas múltiplas aplicações de produtos fitossanitários em culturas com ocorrência de insetos benéficos. É importante à utilização de inseticidas que não ocasionem efeitos nocivos aos inimigos naturais, por isso a necessidade de buscar e utilizar produtos seletivos, inócuos ou pouco tóxicos a crisopídeos (Carvalho et al., 2003; Moura et al., 2009).

Entre os inseticidas amplamente utilizados na agricultura estão o thiamethoxam e o chlorantraniliprole, pertencentes a dois diferentes grupos, neonicotinóides e diamidas antranílicas, respectivamente (Matsuda et al., 2001; Elbert et al., 2008). O thiamethoxam atua nos receptores de acetilcolina nicotínicos no sistema nervoso central dos insetos, provocando estimulação excessiva em baixas concentrações, o bloqueio do receptor, paralisia e morte em concentrações mais elevadas (Tomizawa e Casida, 2003), o chlorantraniliprole atua como um modulador do receptor de rianodina e bloqueia as contrações musculares do inseto (Lahm et al., 2007). Apesar da premissa de serem seletivos e possuírem baixa toxicidade, esses inseticidas, eventualmente, também afetam insetos não alvos (Munhoz et al., 2013; Oliveira et al., 2013).

Embora o thiamethoxam e outros neonicotinóides tenham sido considerados pouco tóxicos ao ambiente, seu potencial impacto negativo sobre polinizadores levou a uma grande preocupação sobre seu impacto ambiental

(Goulson, 2013; Catae et al., 2014). Os efeitos de chlorantraniliprole foram estudados em diferentes insetos como *Choristoneura rosaceana* (Sial et al., 2011), o térmita *Reticulitermes flavipes* (Spomer et al., 2009), as abelhas *Apis mellifera* e *Bombus terrestris* (Dinter et al., 2009) e *Leptinotarsa decemlineata* (Jiang et al., 2012). No entanto, são escassas as informações sobre os efeitos do chlorantraniliprole sobre *C. externa*.

Ambas as classes de compostos apresentam riscos potenciais para organismos não alvo como crisopídeos, devido à sua capacidade para contaminar o pólen e o néctar floral e extrafloral (Lahm et al., 2009), principal fonte de alimentação dos adultos de *C. externa*, ou através do contato das larvas com os resíduos, gotas de pulverização e presas contaminadas (Cloyd e Bethke, 2011). Entretanto, poucas pesquisas têm sido realizadas com essa espécie com enfoque nos estudos morfológicos nos órgãos internos decorrentes de exposição à alimento contaminado com os inseticidas.

O canal alimentar é um órgão fundamental para a saúde dos insetos, porque é o local de contato com muitos patógenos e xenobióticos (Johnson et al., 2009). Para muitos insetos, o epitélio do intestino é a principal barreira contra patógenos no organismo (Higes et al., 2013), além disso esta estrutura é responsável pela desintoxicação de xenobióticos ingeridos (Han et al., 2012; Vachon et al., 2012).

Um grande número de trabalhos demonstrando a toxicidade de inseticidas para *C. externa* pode ser encontrado na literatura (Carvalho et al., 2002, 2003; Bueno e Freitas, 2004; Godoy et al., 2004; Silva et al., 2005, 2006; Moura et al., 2009, 2010; Castilhos et al., 2011; Dantas, 2012) tendo em vista o interesse científico evidenciado por diversos grupos de pesquisa, no sentido de elucidar as implicações das propriedades tóxicas nos diferentes parâmetros biológicos deste inseto. Entretanto, ocorre escassez de estudos aprofundados a respeito da toxicidade de inseticidas nas estruturas internas de *C. externa*, como

o canal alimentar. Assim, a trabalho objetivou avaliar a ultraestrutura do mesêntero de larvas de 3º instar e adultos dessa espécie exposta a doses subletais dos inseticidas thiamethoxam e chlorantraniliprole.

## **2 Material e Métodos**

Os espécimes de *C. externa* utilizados foram oriundos da criação de manutenção do Laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, Minas Gerais, onde são mantidos em sala climatizada a  $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR de 70% e fotofase de 12 horas. Nessa criação, as larvas foram alimentadas com ovos do piralídeo *Anagasta kuehniella* (Zeller). Os adultos foram alimentados com lêvedo de cerveja e mel (proporção 1:1), possuem acesso contínuo à água e são criados em recipientes cilíndricos de PVC de 20 cm de altura x 20 cm de diâmetro, revestidos internamente por papel filtro branco. A parte superior é vedada com filme de PVC laminado e a inferior é apoiada em uma bandeja plástica forrada com papel toalha branco, conforme metodologia sugerida por Freitas (2001), Carvalho e Souza (2009).

### ***2.1 Preparo e exposição das soluções inseticidas***

As soluções inseticidas foram obtidas por meio de cálculos de diluição das doses comerciais dos compostos Thiamethoxam (Actara 250WG) e Chlorantraniliprole (Altacor 350WG). Foram realizados ensaios de toxicidade a fim de estabelecer as concentrações que causavam a mortalidade ( $CL_{50}$ ) em *C. externa*. As concentrações utilizadas nos ensaios de toxicidade foram 30 ng i.a/ $\mu\text{L}$ ; 16,66 ng i.a/ $\mu\text{L}$ ; 3,33 ng i.a/ $\mu\text{L}$ ; 0,66 ng i.a/ $\mu\text{L}$ ; 0,59 ng i.a/ $\mu\text{L}$  de thiamethoxam e 78,75 ng i.a/ $\mu\text{L}$ ; 52,75 ng i.a/ $\mu\text{L}$ ; 32,75 ng i.a/ $\mu\text{L}$ ; 19,62 ng i.a/ $\mu\text{L}$ ; 7,87 ng i.a/ $\mu\text{L}$  de chlorantraniliprole. As avaliações foram realizadas aos

24, 48, 72 h após a aplicação e o número de mortos contabilizado e submetido a análises estatísticas, a fim de determinar  $CL_{50}$ .

A análise de Probit (Finney, 1971) foi usada para obtenção dos valores da  $CL_{50}$  e respectivos intervalos de confiança a 95% (IC-95%). O programa SAS Proc PROBIT foi utilizado para execução das análises de Probit (SAS Institute, 1997).

As concentrações utilizadas nos ensaios de toxicidade foram 0,59 ng i.a/ $\mu$ L do thiamethoxam e 19,62 ng i.a/ $\mu$ L do chlorantraniliprole.

### ***2.1.1 Ensaio com as larvas***

Os inseticidas foram diluídos em água nas concentrações supracitadas e ovos de *A. kuehniella* foram imersos nas soluções por 5 segundos e secados em temperatura ambiente por uma hora, segundo metodologia adaptada de Correia et al. (2009). As larvas foram individualizadas em placas de microtitulação (8,54cm de largura X 12,7cm de comprimento) para evitar canibalismo, não haver concorrência pelo alimento e garantir que todas elas recebessem alimento à vontade. Foi depositada uma larva de primeiro ínstar em quatro das oito fileiras de compartimentos da placa (Figura 1A), cada fileira contém 12 compartimentos, totalizando 48 compartimentos preenchidos com as larvas. A parte superior da placa foi fechada com tecido voile colado com auxílio de goma arábica, em cima do tecido foram acondicionados os ovos, sendo as larvas alimentadas durante todo o período com ovos tratados, até que atingissem o terceiro ínstar (Figura 1B). O grupo controle os ovos de *A. kuehniella* foram tratados apenas com água. Posteriormente, as larvas foram divididas em dois grupos, contendo dez insetos cada. O intestino das larvas do grupo 1 foram dissecados e reservados para preparo das análises de microscopia de luz, o grupo 2 dissecados e reservados para análise de microscopia eletrônica de transmissão.

No tratamento controle, foram dissecados intestinos de dez larvas alimentados apenas com os ovos de *A. kuehniella*

### **2.1.2 Ensaio com os adultos**

O bioensaio foi realizado por meio de exposição por ingestão, onde uma alíquota de 1mL de alimento contendo a solução inseticida foi oferecido aos insetos. Para que as soluções pudessem ser totalmente homogeneizadas, optou-se por oferecer como alimento a mistura de mel diluído em água (1:1) O tratamento controle foi composto somente pela dieta.

O alimento foi oferecido por meio de um chumaço de algodão embebido na solução inseticida depositado no fundo de copos descartáveis cortados (3 cm de altura x 1,5 cm de diâmetro). O fornecimento de água se deu por meio de um tubo de vidro com água, tampado com algodão, e colocado em posição invertida no topo das gaiolas, permitindo que o algodão permanecesse sempre umedecido por capilaridade (Carvalho e Souza, 2009) (Figura 2).

### **2.2 Delineamento experimental do tratamento com adultos**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições, sendo cada uma formada por nove adultos. Cada tratamento foi composto por trinta e seis insetos adultos com 24h de emergência. Os insetos foram alimentados com dieta contendo as soluções inseticidas, e o controle alimentado apenas com dieta. Posteriormente, os insetos foram divididos em três grupos, contendo doze insetos cada. O intestino dos crisopídeos do grupo 1 foram dissecados 24 h após a alimentação, do grupo 2 após 12 dias e do grupo 3 após 30 dias. Nos tratamentos controle, para cada

grupo, foram dissecados intestinos de seis indivíduos alimentados apenas com dieta.

### ***2.3 Microscopia de luz***

Na dissecação, apenas os intestinos médios das larvas e adultos foram coletados, sendo subdivididos em região anterior e posterior, identificados e reservados separadamente. Foi utilizada solução tampão fosfato de sódio a 0,1 M, pH 7,2, fixados por 1 a 2 h em solução de glutaraldeído 2,5% nesse mesmo tampão. Após a fixação foram lavados por duas horas no mesmo tampão, desidratados em série alcoólica crescente a 30; 50; 70 e 90% (15 minutos cada) e depois em dois banhos de 10 minutos cada em álcool etílico a 100%. As amostras foram infiltradas, à temperatura ambiente, em dois banhos de 4 h cada, sendo o primeiro com uma mistura de historesina e álcool (1:1) e o segundo com historesina pura. O material foi incluído em historesina acrescida do endurecedor em moldes de silicone que foram colocados em placas de Petri e mantidos em temperatura ambiente. Cortes semifinos com 3  $\mu\text{m}$  de espessura foram obtidos em micrótomo Leica RM 2155 com navalhas de vidro. Esses foram transferidos para lâminas histológicas, as quais foram colocadas em placa aquecida a 50 °C por 15 minutos para que os cortes ficassem distendidos e aderidos à lâmina. Os cortes foram corados com hematoxilina de Harris por 15 minutos, lavados em água corrente por 10 minutos, corados com azul de toluidina por 30 segundos e lavados rapidamente em água de torneira. Para proteção dos cortes, lamínulas foram aderidas às laminas usando Entellan® (Merck Millipore) como meio de montagem. Em seguida o material foi analisado e fotografado em microscópio de luz com câmera digital (Zeiss AxioCam ERc5s) e com o auxílio do Programa AxioVision Rel 4.8.

## **2.4 Microscopia eletrônica de transmissão**

Para realização da análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão, foram utilizadas somente as larvas de 3º instar de *C. externa*. As larvas foram imobilizadas a frio, em seguida, dissecadas sob esteriomicroscópio, tendo o intestino médio, dividido em porção anterior e posterior e inserido em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,2) contendo 0,2 M de sacarose e transferidos para glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,2) e sacarose 0,2 M. A seguir, as amostras foram lavadas em o tampão cacodilato de sódio e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão por duas horas. Depois de lavado duas vezes no tampão, as amostras foram desidratadas em série crescente de etanol (70-100%), embebidas em solução de resina LR White e etanol 70% (2:1) por uma hora. Posteriormente, as amostras foram embebidas em resina pura por uma hora e novamente em resina pura por mais 16 horas em temperatura ambiente, seguindo-se de polimerização em cápsulas de gelatina a 60 °C por 24 horas.

Seções ultrafinas obtidas em ultramicrótomo foram colocadas em grades de cobre e contrastadas por 20 minutos com acetato de uranila aquosa 1% e citrato de chumbo por 20 minutos. As amostras foram observadas e fotografadas em MET (Zeiss EM 109) no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa.

## **3 Resultados**

### **3.1 Análise histológica do tratamento controle**

Ao observar o tratamento controle das larvas de *C. externa* verificou-se epitélio simples e constituído por camada de células digestivas de formato

colunar e ninhos de células regenerativas localizadas na região basal do epitélio (Figura 3A). As células colunares são cilíndricas e alongadas tanto na região anterior como posterior do mesêntero e possuem borda estriada bem desenvolvida na região apical. O epitélio está apoiado sobre uma lâmina basal fina e circundado por células musculares. A superfície basal e apical irregular com protusões citoplasmáticas de forma e tamanhos diferentes em direção ao lúmen. As células digestivas possuem núcleos esféricos com alguns grânulos de cromatina descondensada e nucléolo evidente (Figura 3B).

No tratamento controle dos adultos de *C. externa*, o mesêntero é constituído por epitélio simples colunar, com superfície basal e apical irregulares, onde é possível diferenciar dois tipos de células: células digestivas, do tipo colunares e células regenerativas (Figuras 4A, B).

As células digestivas são de formato colunar, alongadas e com borda estriada. Apresentam núcleo que varia de formato (oval, esférico ou elipsoide), geralmente situado na região central da célula, bem desenvolvido, com grumos de cromatina pouco condensada e fortemente basófila, homoganeamente esparsa e nucléolo evidente. A região apical das células colunares são levemente dilatadas e preenchidas com conteúdo pouco acidófilo, algumas destas dilatações formam protusões citoplasmáticas, também chamadas de “borbulhas” que se desprendem da célula e são liberadas no lúmen. O citoplasma é fracamente basófilo (Figura 4B), possui vacúolos que podem ser encontrados em toda a na região da célula. Na região apical das células ocorrem grânulos basófilos. A borda estriada está presente em toda região apical, se apresentando bem marcada e acidófila (Figura 4A).

As células regenerativas se encontram agrupadas em ninhos na base do epitélio, perto da membrana basal. Os ninhos de células regenerativas estão presentes ao longo de todo o epitélio do mesêntero, são pequenas, de formato

oval ou arredondado com citoplasma fortemente basófilo. O mesêntero possui ainda uma membrana peritrófica basófila bem desenvolvida (Figura 4A, B).

### **3.2 Análise histológica do tratamento com thiamethoxam 0,59 i.a/μL**

No tratamento realizado com as larvas expostas a thiamethoxam o epitélio do mesêntero apresentou morfologia e distribuição celular regular, não foi observado diferenças nas células da região anterior e posterior em relação ao tratamento controle. As regiões apresentavam características protusões citoplasmáticas e borda estriada bem marcada na região apical do epitélio (Figura 3C, D).

A região basal permaneceu com suas características regulares, com o epitélio em repouso sobre a lâmina basal. A camada muscular não apresentou diferenciações celulares e manteve o mesmo padrão ao longo do seu comprimento. Não houve diferenças estruturais em relação ao tratamento controle (Figura 3D).

As células regenerativas não apresentaram resposta negativa para o tratamento com thiamethoxam. As células digestivas apresentaram núcleos em formato regular, sem alterações nos núcleos ou condensação da cromatina, não ocorreu perda da estrutura celular ou deslocamento da membrana peritrófica (Figura 3D). Os vacúolos presentes na região anterior e posterior do epitélio são característicos do epitélio de *C. externa*, não havendo diferenças em comparação ao tratamento controle (Figura 3C, D).

No tratamento realizado nos adultos com o inseticida thiamethoxam 0,59 ng i.a/μL, os resultados não mostraram diferenças morfológicas regionais no epitélio do mesêntero de *C. externa*, após 24h de ingestão do inseticida. O epitélio da porção anterior do mesêntero não apresentou perda da organização estrutural celular, na região apical das células do epitélio ocorreu dilatação na

região com projeções das células epiteliais para o lúmen intestinal, semelhantes ao tratamento controle, não ocorrendo irregularidade ou desestruturação da borda estriada (Figura 4C). A região posterior do mesêntero apresentou protusões citoplasmáticas liberadas para o lúmen como no tratamento controle e foi observada a presença de grânulos basófilos nas protusões. Nessa porção os núcleos apresentaram cromatina esparsa e homogênea e não foi constatado heterocromatina ou núcleos picnóticos. Pôde ser observado um aumento em alguns núcleos das células colunares, apresentando-se mais dilatados com cromatina descondensada (Figura 4D). Nas duas regiões não foi observada alterações nas membranas laterais das células colunares ou invaginações na membrana basal (Figuras 4C, D).

No tratamento com thiamethoxam avaliado no 12º dia tanto na região anterior como na posterior, ocorreu a presença de ninhos de células regenerativas com núcleos basófilos (Figura 4E, F). A borda estriada apresenta-se bem marcadas e regulares como no tratamento controle, a região posterior do mesêntero apresenta alongamento das células e maior vacuolização, sendo ela bem marcante (Figura 4F). Também foi constatada a presença de núcleos heterocromático com formato irregular e grânulos de cromatina condensados na região anterior. Os núcleos da região posterior apresentam cromatina esparsa e homogênea, com nucléolos fortemente basófilos. A vacuolização celular está presente nas duas regiões epiteliais deste tratamento.

No tratamento com avaliação realizada no 30º dia, ainda há ocorrência de vacuolização nas células epiteliais, as microvilosidades se apresentam regulares e fortemente acidófilas, a membrana peritrófica possui aspecto regular, não demonstrando diferenciação ao longo do epitélio intestinal. As células colunares apresentam-se morfológicamente normais, semelhantes ao tratamento controle e ocorre presença de ninhos de células regenerativas. A válvula cardíaca

apresenta camada muscular sem alterações e é possível observar protusões citoplasmáticas sendo liberadas no lúmen (Figura 4G, H).

### **3.3 Análise histológica do tratamento com chlorantraniliprole 19,62 i.a/ $\mu$ L**

O epitélio do mesêntero das larvas de *C. externa* exposta ao chlorantraniliprole não apresentou alterações nas camadas celulares ou na membrana peritrófica. As características morfológicas das células que compõe o epitélio intestinal não foram modificadas quando comparadas ao tratamento controle. As células digestivas colunares apresentaram formato cilíndrico regular, mantendo o núcleo esférico e cromatina dispersa de forma homogênea (Figura 3E, F). Não foi observado degradação na membrana peritrófica e a lâmina basal manteve sua característica regular ao longo do epitélio (Figura 3E), as células regenerativas estavam presentes em ninhos na região basal do epitélio.

O epitélio intestinal não apresentou diferenças entre as regiões anterior e posterior em relação ao tratamento controle, variações estruturais encontradas são típicas da estrutura celular do epitélio intestinal de *C. externa*, como pôde ser observado no tratamento controle.

Tanto na região anterior como na posterior, a superfície das células colunares foram regulares, apresentando borda estriada e com eliminação de protusões citoplasmáticas em direção ao lúmen (Figura 3E, F).

No tratamento com o inseticida chlorantraniliprole 19,62 ng i.a/ $\mu$ L, em adultos não foram observadas diferenciações citomorfológicas em relação ao tratamento controle em nenhuma das três avaliações. No tratamento com exposição ao inseticida por 24h, a estrutura do epitélio manteve-se regular, as células do tecido epitelial caracterizaram-se por apresentar morfologia colunar e alongada (Figuras 5A, B), núcleo volumoso apresentando diversos formatos como oval, esférico ou elipsoide com cromatina dispersa fortemente basófila,

espalhadas de forma homogênea na região nuclear, semelhante ao encontrado no tratamento controle (Figuras 5B, C, D, E, F). Não foram constatados grumos de cromatina condensado, heterocromáticos ou núcleos picnóticos. Os nucléolos também possuem diversos tamanhos e formatos, sendo alguns basófilos (Figura 5B, F), podendo ser encontrado mais de um nucléolo em cada núcleo (Figura 5B, C). Foram observadas protusões citoplasmáticas pouco acidófilas sendo liberadas para o lúmen intestinal (Figura 5B).

Nos resultados observados nas avaliações realizadas no 1º; 12º e 30º dia, a borda estriada se apresentou densa, fortemente acidófila e regular em toda a extensão epitelial, tanto na porção anterior como a posterior do epitélio. Foi constatada uma grande quantidade de células regenerativas nos tratamentos, elas se localizam na base do epitélio, sobre a membrana basal, sendo caracterizadas por se apresentarem em ninhos, espalhadas ao longo de todo mesêntero, semelhantes às encontradas no tratamento controle (Figuras 5A-H). Observou-se que independente da avaliação realizada, as células regenerativas não sofreram alterações perceptíveis nas análises histológicas.

A região basal do epitélio, onde está situada a camada muscular manteve seu aspecto regular e bem desenvolvido, a lâmina basal não sofreu alterações e manteve-se espessa e evidente (Figura 5A, G, H). A membrana peritrófica não sofreu diferenciação, mantendo sua camada estrutural intacta, semelhante ao tratamento controle (Figuras 5A, G, H). Em todos os tratamentos percebe-se a ocorrência de vacuolização citoplasmática, com vacúolos de variados tamanhos e situados tanto na região basal quanto na apical do citoplasma (Figura 5B, C, D).

### ***3.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão***

Na análise ultraestrutural do intestino médio das larvas do tratamento controle foi constatado um epitélio com uma camada simples de células identificadas como células digestivas do tipo colunares e células regenerativas. O citoplasma possui mitocôndrias de formatos arredondados e filamentosos de variados tamanhos em abundância principalmente na região apical. São encontrados vesículas de variados tamanhos com diferentes elétrondensidades. Ocorrem dobras do tecido epitelial na região basal da célula, sobre a lâmina basal, e presença de figuras mielínicas (Figura 6A). O retículo endoplasmático rugoso está presente, porém fracamente desenvolvido. Na região apical das células digestivas ocorrem microvilosidades longas suportados por microfilamentos de actina que dão a essa região a característica de borda estriada. Vesículas de conteúdo elétron-denso, grânulos, esferocristais e vacúolos com centro elétron-denso são comuns no citoplasma. As membranas que separam as células não apresentam sinuosidades ou invaginações, seguindo percurso retilíneo da região basal à apical da junção celular (Figura 6B).

As secções do mesêntero das larvas expostas à ingestão de inseticidas thiamethoxam e chloraniliprole não apresentaram alterações ultraestruturais em nenhuma das regiões analisadas. Tanto a região anterior quanto a posterior dos dois tratamentos, apresentaram células digestivas do tipo colunares com grande quantidade de microvilosidades sustentadas por microfilamentos. Não ocorreu alteração nas microvilosidades, estas apresentaram o feixe de filamentos intacto, mantendo sua organização estrutural. O citoplasma possui grande quantidade de mitocôndrias de variados formatos e tamanhos com matriz elétron-densa, assim como vesículas apresentando conteúdo com eletrondensidades diferentes, sendo que essas organelas estão presentes na

região apical e basal da célula, assim como no tratamento controle (Figuras 6C, D).

Gotas lipídicas em abundância puderam ser encontradas na região anterior e posterior dos tratamentos inseticidas, juntamente com a presença de vacúolos digestivos autofágicos (Figura 6D, F). Os vacúolos se apresentam volumosos e com fragmentos

Ocorre presença de grânulos na região anterior do intestino médio tratado com inseticida thiamethoxam (Figura 6C). Na região anterior do intestino médio tratado com chlorantraniliprole ocorre grande quantidade gotas lipídicas e a presença de lisossomos, presença de vesículas pequenas com conteúdo elétron-denso e vesículas não ocupadas totalmente por material elétron-denso de arranjo concêntrico (Figura 6E).

Não foram observadas invaginações ou qualquer alteração na lâmina basal e o citoplasma não apresenta depósitos de glicogênio em nenhuma das regiões. Esferocristais são encontrados isolados em algumas regiões do citoplasma. Diferenças ultraestruturais, entre os tratamentos nas regiões anterior e posterior do intestino médio não foram evidentes. Os tratamentos com inseticidas demonstraram resultados semelhantes aos encontrados no tratamento controle.

#### **4 Discussão**

A análise histológica do epitélio intestinal das larvas e adultos *C. externa* permitiu observar que apesar da presença de substâncias tóxicas no organismo, por meio da ingestão dos inseticidas thiamethoxam e chlorantraniliprole, não ocorreram efeitos negativos na estrutura epitelial e citomorfologia das células nas concentrações utilizadas.

Entretanto, recentes descobertas científicas apontam efeitos nocivos desses inseticidas a insetos benéficos. O enfraquecimento ou perda de colônias de abelhas *Apis mellifera* Linnaeus e a desordem de colapso das colônias (CCD) estão ligadas à exposição a inseticidas neocotinoides sistêmicos como o thiamethoxam (Maini et al. 2010; Pareja et al., 2011;. Lu et al., 2012;. Farooqui, 2013; Takashi, 2013).

Catae et al. (2014) encontraram alterações no intestino médio de *A. mellifera*, quando expostas à ingestão de doses subletais de thiamethoxam, sendo observado danos no epitélio e núcleos, ocasionando alteração na fisiologia da célula. Em estudo realizado por Oliveira et al. (2013), no qual abelhas africanizadas ingeriam uma dose de 0,428 ng/mL de tiametoxam por dia, mostrou que o thiamethoxam provocou redução no número de células regenerativas no epitélio, aumento na secreção apócrina, além de induzir vacuolização citoplasmática. O thiamethoxam é um neonicotinóide neurotóxico que atua diretamente sobre o sistema nervoso de insetos através da ação agonista sobre os receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChR) (Tomizawa e Casida, 2003; Tan et al., 2007) e embora seu efeito ocorra no sistema nervoso, órgãos não alvo como intestino também podem ser afetados. A morfologia do canal alimentar do mosquito *Aedes aegypti* também foi afetada com doses subletais de neonicotinoide, apresentando alterações nas células digestivas e regenerativas, incluindo deformação do núcleo, formação de grandes espaços entre as células digestivas e a formação de vacúolos (Fernandes et al., 2015).

Diversos estudos atribuem ao thiamethoxam o aumento na vacuolização citoplasmática do epitélio intestinal (Oliveira et al., 2013), entretanto, o presente trabalho demonstra o epitélio de *C. externa* com vacuolização no citoplasma como uma característica morfológica própria da espécie tanto na porção anterior quanto na posterior do intestino médio, não havendo aumento ou diminuição dessas estruturas em função da ingestão das concentrações subletais dos

inseticidas avaliados, diferindo, portanto, de resultados encontrados em outros estudos.

Apesar de fazer parte de um grupo químico diferente dos neonicotinoides e diamidas, estudos utilizando concentrações subletais de óleo de nim realizados por Scudeler e Santos (2013), Scudeler et al. (2016) em adultos de *Ceraeochrysa claveri* Navás apresentou alterações semelhantes no intestino médio desse crisopídeo. Os resultados apontaram irregularidade nas microvilosidades, aumento da vacuolização citoplasmática, danos no epitélio e nos núcleos celulares. Diversas pesquisas vêm apontando a ação direta e indireta do nim e de seus compostos sobre espécies de insetos não alvos como crisopídeos e a outras espécies de inimigos naturais (Cordeiro et al., 2010; Scudeler e Santos, 2013; Scudeler et al., 2014; 2016).

O ingrediente ativo chlorantraniliprole, por fazer parte de um grupo de inseticida relativamente novo, ainda possui poucos estudos sobre seus efeitos em inimigos naturais (Brugger et al., 2010; Amarasekare e Shearer, 2013; Gontijo et al., 2014). Esse inseticida uma vez ingerido atua como um agonista seletivo para os receptores de rianodina, uma classe de canais de cálcio intracelulares. Esses receptores desempenham um papel importante na função muscular devido à contração das células musculares e requerem a liberação exata de cálcio a partir de depósitos intracelulares no citoplasma. O chlorantraniliprole provoca a liberação irregular do cálcio armazenado no retículo sarcoplasmático de células musculares (Dinter et al., 2009), até o seu esgotamento, impedindo a capacidade de o inseto para regular a função muscular levando a uma contração muscular permanente. Os sintomas de intoxicação incluem rápida cessação da alimentação, letargia, regurgitação, paralisia muscular e, finalmente, a morte do inseto (Cordova et al., 2006; Chen et al., 2010).

Em recente trabalho realizado por Munhoz et al. (2013) constataram alterações no epitélio de *Bombix mori* (Lepidoptera: Bombycidae) causado por

concentrações subletais (em ppm) de chlorantraniliprole. Além de alta mortalidade, o inseticida causou saliências irregulares nas microvilosidades, aumento das secreções apócrinas, hipertrofia nas células regenerativas e morfologia semelhante à de corpos apoptóticos foram observados ao longo do epitélio do intestino médio. Este resultado afetou o metabolismo do inseto, causando queda na produção de seda. O corpo apoptótico é um termo frequentemente utilizado durante o processo de morte por apoptose clássica que define a parte ligada à membrana da célula que contém resíduo nuclear e citoplasmática de fragmentação durante a apoptose (Kerr et al., 1972).

Os resultados histológicos encontrados nas análises com *C. externa* evidenciaram que nos dois tratamentos com inseticida, as características morfológicas se mantiveram regulares nas células epiteliais, principalmente as das células digestivas com seu típico formato colunar como encontrado em outras espécies de crisopídeos como *C. rufilabris* (Woolfolk e Inglis, 2004), *C. claveri* (Scudeler et al., 2016) e das células regenerativas encontradas em ninhos abundantes na base do epitélio em todos os tratamentos. Não foi constatada morte celular por apoptose em nenhum dos tratamentos os quais foram submetidos os insetos. As células digestivas de *C. externa* apresentaram características morfológicas de células absorptivas, com borda estriada na região apical (Cruz-Landim, 2009; Fialho et al., 2009).

O resultado encontrado em *C. externa* pode ser explicado devido à associação entre os crisopídeos e leveduras e fungos simbiotes intestinais (Principi e Canard, 1984; Woolfolk et al., 2004; Hemalatha et al., 2014). As bactérias simbiotes são conhecidas por fixar o nitrogênio atmosférico, bem como sintetizar outros nutrientes essenciais (Breznak, 2000; Lilburn et al., 2001; Nardi et al., 2002; Dillon e Dillon, 2004) e melhorar o mecanismo de defesa interna contra compostos tóxicos. No presente trabalho não foi possível identificar a presença de bactérias simbiotes no intestino de *C. externa*,

entretanto, essa espécie possui troncos traqueais bem desenvolvidos. Hagen et al. (1970) afirmaram que somente em espécies de crisopídeos glico-polinívoras os troncos traqueais apresentam maior tamanho, presumivelmente para fornecer oxigênio para o metabolismo das leveduras simbiotes mutualísticas que se proliferam no interior do divertículo.

Em diversos estudos realizados em crisopídeos, observou-se que a sensibilidade varia dentro e entre os grupos de inseticidas. Rimoldi et al. (2008, 2012) relataram que a mortalidade de *Chrysoperla* foi maior com o neonicotinoide imidaclopride combinada com extrato de semente de nim a 5% do que tratada com outros inseticidas (Hanumantharaya et al., 2007) A aplicação de inseticidas à base de nim não afetou a população de *Chrysoperla carnea*, mas produtos químicos tóxicos como piretróides sintéticos afetaram negativamente a população de *Chrysoperla* sp (Venkatesan et al., 1997).

Em estudo recente, Shankarganesh et al. (2016) compararam o efeito de diversos tipos de inseticida e mediram o nível enzimático de detoxificação em *Chrysoperla zastrowi sillemi*. Foi atribuído à variação de susceptibilidade e o nível de seletividade à atividade das enzimas desintoxicantes como mono-oxigenases e esterases. A desintoxicação dos inseticidas é um dos principais mecanismos pelos quais os insetos sobrevivem contra a ação de patógenos e xenobióticos. Ela é possível porque os sistemas enzimáticos, tais como citocromo microssomal P-450, e atividades de mono-oxigenases, de esterases e glutatona-S-transferases tem a capacidade para promover reações de transformações de xenobióticos.

Nos resultados obtidos neste trabalho, *C. externa* pode ter sido capaz de realizar biotransformação das moléculas inseticidas, através de reações de desintoxicação associadas às mono-oxigenases e esterases presentes no seu sistema digestivo uma vez que estudos comprovam a presença de uma via de desintoxicação mediada por esterase em crisopídeos (Ishaaya e Casida, 1981;

Grafton-Cardwell e Hoy, 1985). No entanto, mais estudos são necessários para confirmar o envolvimento de diferentes enzimas na susceptibilidade de *C. externa* aos diferentes grupos de inseticidas.

Na análise de microscopia eletrônica de transmissão realizada as larvas de *C. externa* submetidas à ingestão de dietas tratadas com os inseticidas, não ocorreram modificações de caráter morfológico ou ultraestrutural nas células ou tecidos do intestino médio. Não foi observada perda da integridade do epitélio intestinal, e a membrana peritrófica manteve sua estrutura regular. Soares (2012) testando doses subletais de inseticida neonicotinoide imidaclopride no intestino de abelhas *Apis mellifera* recém-emergidas confirmou morte celular induzida pela ingestão desse inseticida. Gregorc e Ellis (2011), em estudo com ingestão do mesmo inseticida em larvas de *A. mellifera*, detectaram morte celular por apoptose nas células do intestino médio, porém somente nas células digestivas.

Kakamand et al. (2008) indicaram que inseticidas como thiamethoxam, quando ministrados via oral para abelhas melíferas começaram a provocar a morte dos indivíduos depois de 4 horas. A explicação possível sobre morte depois de horas de intoxicação, está relacionada à dificuldade de alimentação e hidratação das abelhas pela paralisia do sistema digestório ou pelos danos provocados pelos inseticidas ao intestino.

A avaliação dos efeitos subletais tem sido o foco de estudos que visam determinar os efeitos potenciais dos produtos fitossanitários que podem atingir uma população de inimigos naturais e, portanto, afetam suas funções fisiológicas e biológicas em agroecossistemas (Desneux et al., 2007; Cloyd, 2011; Scudeler e Santos, 2013; Scudeler et al., 2016). Toda e Kashio (1997) demonstraram que os neonicotinoides imidaclopride e acetamipride mostraram baixa toxicidade para larvas de *C. arnea* em testes de imersão. Entretanto, Patil e Lingappa (2001) relataram que com o aumento da dose de imidaclopride, ocorre toxicidade em larvas de *C. Carnea*. Em estudo realizado por Nasreen et al. (2005) e Preetha et

al. (2009) demonstraram que o thiamethoxam, foi moderadamente tóxico para larvas de *C. carnea* numa dose mais baixa que a recomendada e tóxicos na dose recomendada.

Scudeler e Santos (2013) demonstraram que o óleo de nim ingerido em quantidades subletais ocasionou alterações patológicas graves nas microvilosidades, saliências nos retículos endoplasmáticos e aparecimento de vacúolos no citoplasma de larvas de terceiro instar do crisopídeo *Ceraeochrysa claveri*. Produtos à base de nim causam efeitos nocivos nos estágios larvais de *C. carnea*, dependendo da dose aplicada (Agrawal e Brar, 2006).

No presente estudo as larvas de *C. externa* não sofreram alterações histológicas ou ultratestruturais no mesêntero após a ingestão dos inseticidas thiamethoxam e chlorantraniliprole. Munhoz et al. (2013) demonstraram o efeito nocivo de doses subletais de chlorantraniliprole (doses de 0,1 e 0,2 ppm) em lagartas de bicho da seda *Bombyx mori*, sendo constatado que as células do epitélio intestinal sofreram alterações como irregularidades nas microvilosidades, hipertrofia e hiperplasia das células regenerativas e processo de morte celular por apoptose.

Apesar da exposição à dieta contendo inseticidas por todo o período larval, o epitélio do intestino das larvas de terceiro instar de *C. externa* apresentou a morfologia típica comum a outras espécies de crisopídeo (Woolfolk e Inglis, 2004; Scudeler e Santos, 2013; Scudeler et al., 2016), com o epitélio do tipo simples, células digestivas do tipo colunar e ninhos de células regenerativas ao longo de toda a sua extensão, se situa sobre a lâmina basal seguida por uma camada muscular. As células digestivas apresentaram características morfológicas das células de absorção e secreção, que incluem microvilosidades conspícua, mitocôndrias em abundância, esferocristais e retículo endoplasmático rugoso.

Muitos estudos tem mostrado efeitos diretos e indiretos de diversos inseticidas indicados como seletivos a inimigos naturais, entretanto, Shankarganesh et al. (2016) afirmaram que a suscetibilidade de *Chrysoperla* sp. a inseticidas varia dentro do mesmo grupo de inseticidas e entre os variados grupos químicos.

A atividade das enzimas de desintoxicação foi estudada em larvas e adultos de *Chrysoperla zastrowi sillemi*, demonstrando a presença de vários níveis de carboxilesterases e atividade de mono-oxigenases do citocromo P450. Foi atribuído a essas enzimas a variação da suscetibilidade a diferentes grupos de inseticidas. A presença de vários níveis de carboxilesterases em população de *Chrysoperla* sp criadas em laboratório tem sido relatada por diversos autores (Ishaaya e Casida, 1981; Pree et al., 1989; Grafton-Cardwell e Hoy, 1985). As mono-oxigenases do citocromo P450 constituem um sistema metabólico importante e esse sistema desempenha um papel central no metabolismo oxidativo de compostos xenobióticos (Feyereisen, 2005), e as atividades mais elevadas está geralmente associada ao intestino médio dos insetos (Brun et al., 1996).

Larvas de *C. carnea* possuem uma notável tolerância a piretróides, atribuídos a desintoxicação por esterases. Essas enzimas possuem atividade elevada e uma especificidade única para hidrólise de permetrinas e deltametrina, degradando rapidamente esses compostos (Ishaaya e Casida, 1981). Essas enzimas podem ter desempenhado um papel importante na desintoxicação de *C. externa*, devido a um aumento na atividade enzimática desintoxicante, uma vez que os estágios imaturos de crisopídeos não possuem associação entre leveduras e fungos simbiotes intestinais, também responsáveis pela produção de enzimas de desintoxicação e degradação de compostos (Dowd, 1989, 1991; Veja e Dowd, 2005).

Os resultados obtidos nessa pesquisa podem levar a uma melhor compreensão dos efeitos adversos de inseticidas no intestino médio de larvas de *C. externa*, no entanto, mais estudos são necessários para confirmar o envolvimento de diferentes enzimas na tolerância deste crisopídeo a inseticidas.

## 5. Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

## 6. Referências

- Aggarwal, N., Brar, D.S., 2006. Effects of different neem preparations in comparison to synthetic insecticides on the whitefly parasitoid *Encarsia sophia* (Hymenoptera: Aphelinidae) and the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera : Chrysopidae) on cotton under laboratory conditions. *Journal of Pest Science* 79, 201-207.
- Albuquerque, G.S., 2009. Crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae). In: Panizzi, A. R.; Parra, J. R. P. (Eds.). *Bioecologia e nutrição de insetos*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 23, 969-1022.
- Amarasekare, K. G., Shearer, P. W., 2013. Comparing effects of insecticides on two green lacewings species, *Chrysoperla johnsoni* and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Economic Entomology*, 106, 1126–1133.
- Breznak, J. A., 2000. Ecology of prokaryotic microbes in the guts of wood and litter-feeding termites. In: Abe, T.; Bignell, D. E.; Higashi, M. (ed) *Termites: Evolution, sociality, symbiosis, ecology*, Boston: Kluwer Academic, pp. 209-231.

Boregas, K.G.B., Carvalho, C.F., Souza, B., 2003. Aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) em casa de vegetação. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 27, 7-16.

Brugger, K.E., Cole, P.G., Newman, I. C., Parker, N., Scholz, B., Suvagia, P., Walkef, G., hammond, T.G., 2010. Selectivity of chlorantraniliprole to parasitoid wasps, *Pest Management. Science*, 66, 1075– 1081.

Brun, A.,Cuany, A., Lemouel, T., Bergé, J. B., Amichot, M., 1996. Inducibility of the *Drosophila melanogaster* cytochrome P450 gene, *CYP6A2*, by phenobarbital in insecticide susceptible or resistant strains. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 26, 697–703.

Bueno, A. F., Freitas, S. 2004. Effect of the insecticides abamectin and lufenuron on eggs and larvae of *Chrysoperla externa* under laboratory conditions. *BioControl*, 49, 277-283.

Carvalho, G.A. et al., 2002. Seletividade de Inseticidas a *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, 31, 615-621.

Carvalho, G.A.; Bezerra, D., Souza, B., Carvalho, C.F., 2003. Efeitos de inseticidas usados na cultura do algodoeiro sobre *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology*, 32, 2003.

Carvalho, C.F.; Souza, B., 2009. Métodos de criação e produção de crisopídeos. In: Bueno, V. H. P. (Ed.). *Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade*. 2. ed. Lavras: UFLA, pp. 77-115.

Castilhos, R. V. et al., 2011. Seletividade de agrotóxicos utilizados em pomares de pêsego a adultos do predador *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 33, 73-80.

Catae, A.F. et al., 2014. Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Microscopy Research Technique*, 77, 274–281.

Chen, W.G. et al., 2010. An investigation on toxicity of the agricultural pesticide chlorantraniliprole to the silkworm, *Bombyx mori*. Science of Sericulture, 1, 84-90.

Cloyd, R. A., Bethke, J. A., 2011. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. Pest Management Science, 67, 3–9.

Cordova, D., Benner, E.A., Sacher, M.D., Rauh, J.J., Sopa, J.S., Lahm, G.P. et al., 2006. Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. Pesticide Biochemistry and Physiology, 84, 196-214.

Cordeiro, E.M.G., Corrêa, A.S., Venzon, M., Guedes, R.N.C., 2010. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. Chemosphere, 81, 1352-1357.

Correia, A.A., Wanderley-Teixeira, V., Teixeira, A.A.C., Oliveira, J. V., Torres, J.B., 2009. Morfologia do canal alimentar de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas tratadas com nim. Neotropical Entomology, 38, 83-91.

Cruz-Landim, C., 2009. Abelhas: Morfologia e Função de Sistemas. Editora Unesp, Sao Paulo, Brasil. pp. 407.

Dantas, P. C., 2012. Histomorfometria e efeito de doses subletais de thiamethoxam nos órgãos reprodutivos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). 2012. 94f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J.M., 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review Entomology, 52, 81 -106.

Dillon, R.J., Dillon, V.M., 2004. The Gut Bacteria of Insects: nonpathogenic interactions. The Annual Review of Entomology, 49, 71–92.

- Dinter, A., Brugger, K. E., Frost, N.M., Woodward, M.D., 2009. Chlorantraniliprole (Rynaxypyr): A novel DuPont™ insecticide with low toxicity and low risk for honey bees (*Apis mellifera*) and bumble bees (*Bombus terrestris*) providing excellent tools for uses in integrated pest management. Proceedings, Hazards of pesticides to bees—10th International Symposium of the ICP-Bee, Protection Group, pp. 984-996.
- Dowd, P. F., 1989. In situ production of hydrolytic detoxifying enzymes by symbiotic yeasts in the cigarette beetle (Coleoptera: Anobiidae). *Journal of Economic Entomology*, 82, 396-400.
- Dowd, P.F., 1991. Symbiont-mediated detoxification in insect herbivores. In: Barbosa, P., Krischik, V.A., Jones, C.G. (ed.). *Microbial mediation of plant-herbivore interactions*, New York: John Wiley & Sons. pp. 411-440.
- Elbert, A., Haas, M., Springer, B., Thielert, W., Nauen, R., 2008. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science*, 64, 1099–1105.
- Farooqui, T., 2013. A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: a unique hypothesis. *Neurochemistry International*, v. 62, 1, 122-136.
- Fernandes, K.M., Goncalves, W.G., Pascini, T.V., Miranda, F.R., Tome, H.V.V., Serrao, J.E., Martins, G.F., 2015. Imidacloprid impairs the post-embryonic development of the midgut in the yellow fever mosquito *Stegomyia aegypti* (= *Aedes aegypti*). *Medical and Veterinary Entomology*.
- Feyereisen, R., 2005. Insect Cytochrome P450. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K., Gill, S.S., Ed. *Comprehensive Molecular Insect Science*. London: Elsevier. p. 1–77.
- Fialho, M.C.Q., Zanuncio, J.C., Neves, C.A., Ramalho, F.S., Serrão, J.E., 2009. Ultrastructure of the digestive cells in the midgut of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) after different feeding periods on prey and plants. *Annals of the Entomological Society of America*, 102, 119-127.

- Figueira, L.K., Carvalho, C.F., Souza, B., 2000. Biologia e exigências térmicas de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentadas com ovos de *Alabama argillaceae* (Hubner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciência e Agrotecnologia*, 24, 319-326.
- Finney DJ. 1971. Probit Analysis. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Fonseca, A. R., Carvalho, C. F., SOUZA, B., 2000. Resposta funcional de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29, 309-317.
- Freitas, S., 2001. Criação de crisopídeos (Bicho-lixeiro) em laboratório. Jaboticabal: Funep, pp. 20.
- Freitas, S., 2002. O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas. In: Parra, J. R. P. (Ed.). *Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores*. São Paulo: Manole, Cap. 13, 209-224.
- Grafton-Cardwell, E.E.; Hoy, M.A., 1985. Intraspecific variability in response to pesticides in the common green lacewing, *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae). *Hilgardia*, 53, 1-31.
- Godoy, M. S. et al., 2004. Seletividade de seis inseticidas utilizados em citros a pupas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology*, 33, 359-364.
- Gontijo, P. C., Moscardini, V. F., Michaud, J.P., Carvalho, G.A., 2014. Non-target effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam on *Chrysoperla carnea* when employed as sunflower seed treatments. *Journal of Pest Science*, 87, 711-719.
- Goulson, D., 2013. Review: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50, 977-987.

Gregorc, A., Ellis, J.D., 2011. Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides Pesticide Biochemistry and Physiology, 99, 200–207.

Hagen, K. S., Tassan, R. L., Sawall Junior, E.F., 1970. Some ecophysiological relationships between certain *Chrysopa*, honeydews and yeasts. Bolletino del Laboratorio di Entomologia Agraria “Filippo Silvestri” in Portici, Portici, 28, 113-134.

Hagley, E.A.C., Miles, N., 1987. Release of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) for control of *Tetranychus urticae* Kosh (Acarina: Tetranychidae) on peach grow in protected environment structure. The Canadian Entomologist, Canadá, 119, 205-206.

Hagley, E.A.C., 1989. Release of *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) for control of the green apple aphid, *Aphis pomi* Degeer (Homoptera: Aphididae). The Canadian Entomology, 121, 309-314.

Han, P., Niu, C. Y., Biondi, A., Desneux, N., 2012. Does transgenic Cry1 Ac + CpTI cotton pollen affect hypopharyngeal gland development and midgut proteolytic activity in the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae)? Ecotoxicology 21, 2 214–22 21.

Hanumantharaya, L., Goud, B.K., Naik, K.L., 2007. Management of insect pests of sunflower using green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Stephens) and neem seed kernel extract. Karnataka, The Journal of Agricultural Science, 21, 130–133.

Hassan, S.A., 1978. Release of *Chrysoperla carnea* (Stephens) to control *Myzus persicae* (Sulzer) on eggplant in small greenhouse plots. Journal of Plant Disease and Protection, Germany, 8, 118-123.

Hassanpour, M. et al., 2011. Functional response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): effect of prey and predator stages. Insect Science, 18, 217-224.

Hemalatha, B.N., Venkatesan, T., Jalali, S.K., Reetha, B., 2014. Distribution and characterization of microbial communities in *Chrysoperla zastrowi sillemi*, an important predator of sap sucking insect pests. *African Journal of Microbiology Research*, 8, 1492-1500.

Higes, M., Meana A., Bartolome, C., Botias, C., Martin-Hernandez, R., 2013. *Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen. *Environmental Microbiology Reports*, 5, 17–29.

Ishaaya, I., Casida, J.E., 1981. Pyrethroid esterase(s) may contribute to natural pyrethroid tolerance of larvae of the common green lacewing. *Environmental Entomology*, 10, 681–684.

Jalali, M.A., Van Leeuwen, T., Tirry, L., De Clercq, P., 2009. Toxicity of selected insecticides to the two-spot ladybird *Adalia bipunctata*. *Phytoparasitica*, 37, 323-326.

Jiang, W.H., Lu, W.P., Guo, W.C., Xia, Z.H., Fu, W.J., Li, G.Q., 2012. Chlorantraniliprole susceptibility in *Leptinotarsa decemlineata* in the North Xinjiang Uygur autonomous region in China. *Journal of Economic Entomology*, 105, 549-554.

Johnson, R.M., Pollock, H.S, Berenbaum, M.R., 2009. Synergistic interactions between In-Hive miticides in *Apis mellifera*. *Journal of Economic Entomology*, 10, 474–479.

Kakamand, F.A.K., Mahmoud, T.T., Amin, A.B.M., 2008. The role of three insecticides in disturbance the midgut tissue in honeybee *Apis mellifera* L. workers. *Journal of Dohuk University*, 11, 144–151.

Kerr, J.F., Wyllie, A.H., Currie, A.R., 1972. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 26, 239-257.

Klingen, I., Johansen, N.S., Hofsvang, T., 1996. The predation of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on eggs and larvae of *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Applied Entomology*, 120, 363-637.

Lahm, G. P. et al., 2007. Rynaxypyr<sup>TM</sup>: a new insecticidal anthranilic diamide that acts as a potent and selective receptor activator. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17, 6274-6279.

Lahm, G. P., Cordova, D., Barry, J. D., 2009. New and selective ryanodine receptor activators for insect control. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 4127–4133.

Lilburn, T. C. et al., 2001. Nitrogen fixation by symbiotic and free-living spirochetes. *Science*, 292, 495-2498.

Lu, C., Warchol, K., Callahan, R., 2012. In situ replication of honey bee colony collapse disorder, *Bulletin of Insectology*, 65, 99-106.

Maia, W. J. M. S. et al., 2004. Capacidade predatória e aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae). *Ciência e Agrotecnologia*, 28, 1259-1268.

Maini, S., Medrzycki, P., Porrini, C., 2010. The puzzle of honey bee losses: a brief review. *Bulletin of Insectology*, 63, 153-160.

Matsuda, K., Buckingham, S.D., Kleier, D., Rauh, J.J., Grauso, M., Sattelle, D.B., 2001. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 22, p. 573–580.

Medina, P., Smagghe, G., Budia, F., Tirry, L., Vinuela, E., 2009. Toxicity and absorption of azadirachtin, diflubenzuron, pyriproxyfen, and tebufenozide after topical application in predatory larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera:Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 32, 196–203.

Moura, A. P. et al., 2009. Toxicidade de pesticidas recomendados na Produção Integrada de Maçã (PIM) a populações de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology, Londrina*, 38, 395-404.

Moura, A. P. et al., 2010. Selectivity of pesticides used in integrated apple production to the lacewing, *Chrysoperla externa*. Journal of Insect Science, Tucson, 10, 121.

Munhoz, R. E. F. et al., 2013. Evaluation of the toxic effect of insecticide chlorantraniliprole on the silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae), Open Journal of Animal Sciences, 3 p. 343-353.

Nardi, J. B., Mackie, R. I., Dawson, J. O., 2002. Could microbial symbionts of arthropod guts contribute significantly to nitrogen fixation in terrestrial ecosystems? Journal Insect Physiology, 48, 751-763.

Nasreen, A., Mustafa, G., Ashfaq, M., 2005. Mortality of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) after exposure to some insecticides; laboratory studies. South Pacific Studies, 26, 1–6.

Oliveira, R.A., Roat, T.C., Carvalho, S.M., Malaspina, O., 2013. Side-effects of thiamethoxam on the brain and midgut of the africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Environment Toxicology, 29, 1122-1133.

Pappas, M.L., Broufas, G.D., Koveos, D.S., 2011. Chrysopid predators and their role in biological control. Journal of Entomology, 8, 301-326.

Pareja, L. et al., 2011. Detection of pesticides in active and depopulated beehives in Uruguay. International Journal of Environmental Research and Public Health, 8, 3844-3858.

Pathan, A. L., 2008. Evidence of Field-Evolved Resistance to Organophosphates and Pyrethroids in *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), Journal of Economic Entomology, 101, 1676-1684.

Pathan, A.K., Sayyed, A.H., Aslam, M., Liu, T.X., Razaq, M., Gillani, W.A., 2010. Resistance to pyrethroids and organophosphates increased fitness and predation potential of *Chrysoperla carnae* (Neuroptera: Chrysopidae). Journal of Economic Entomology, 103, 823-834.

- Patil, C.S., Lingappa, S., 2001. Persistent toxicity of insecticides against *Chrysoperla carnea* Stephens. *Karnataka Journal of Agricultural Science*, 14, 519–520.
- Pree, D.J., Archibald, D.E., Morrison, R.K., 1989. Resistance to insecticides in the common green lacewing *Chrysoperla carnea* (Neuroptera, Chrysopidae) in southern Ontario. *Journal of Economic Entomology*, 82, 29–54.
- Preetha, G., Stanley, J., Suresh, S., Kuttalam, S., Samiyappan, R., 2009. Toxicity of selected insecticides to *Trichogramma chilonis*: Assessing their safety in the rice ecosystem. *Phytoparasitica*, 37, 209 – 215.
- Principi, M. M., Canard, M., 1984. Feeding habits. In: Canard, M., Séméria, Y., New, T. R. *Biology of Chrysopidae*. The Hague: Dr. W. Junk Publishers, pp. 76-92.
- Rimoldi, F., Schneider, M.I., Ronco, A.E., 2008. Susceptibility of *Chrysoperla externa* eggs (Neuroptera: Chrysopidae) to conventional and biorational insecticides. *Environmental Entomology*, 37, 1252–1257.
- Rimoldi, F., Schneider, M.I., Ronco, A.E., 2012. Short and long-term effects of endosulfan, cypermethrin, spinosad, and methoxyfenozide on adults of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Economic Entomology*, 105, 1982–1987.
- Salamanca, J.B. et al., 2011. Cría y evaluación de la capacidad de depredación de *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae) sobre *Neohydatothrips signifer* trips plaga del cultivo de maracuyá. In: Varon, D.E., Monje, B., Santos, A.O. *Manual técnico de manejo de trips en maracuyá*. Bogotá: Produmedios, pp. 23-42.
- SAS Institute. 1997. *User's Guide: Statistics*. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.

Scudeler, E.L., Santos, D.C., 2013. Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). *Micron* (Oxford. 1993), 44, 125-132.

Scudeler, E.L, Padovani, C.R., Santos, D.C., 2014. Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on the replacement of the midgut epithelium in the lacewing *Ceraeochrysa claveri* during larval-pupal metamorphosis. *Acta Histochemica* (Print), 116, 771-780.

Scudeler, E.L., Garcia, A.S.G., Padovani, C.R., Pinheiro, P.F.F., Santos, D.C., 2016. Cytotoxic effects of neem oil in the midgut of the predator *Ceraeochrysa claveri*. *Micron*, 80, 96-111.

Shankarganesh, K., Naveen, N.C., Bishwajeet, P., 2016. Effect of Insecticides on Different Stages of Predatory Green Lacewing, *Chrysoperla zastrowi sillemi* (Esben. Petersen). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 5, 1-8.

Sial, A.A., Brunner, J.F. and Garczynski, S.F., 2011. Biochemical characterization of chlorantraniliprole and spinetoram resistance in laboratory-selected obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99, 274-279.

Silva, R.A., Carvalho, G.A., Carvalho, C.F., Reis, P.R., Pereira, A.M.A.R., Cosme, L.V., 2005. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro a larvas de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) e efeitos sobre as fases subsequentes do desenvolvimento do predador. *Neotropical Entomology*, 34, 951-959.

Silva, R.A., Carvalho, G.A., Carvalho, C.F., Reis, P.R., Souza, B., Pereira, A.M.A.R., 2006. Action of pesticides used in coffee crops on the pupae and adults of *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). *Ciência Rural*, 36, 8-14.

Soares, H. M., 2012. Avaliação dos efeitos do inseticida imidacloprido para abelhas sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae,

Meliponini). 2012. 87 f. Dissertação - (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro.

Spomer, N.A., Kamble, S.T., Siegfried, B.D., 2009. Bioavailability of chlorantraniliprole and indoxacarb to eastern subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in various soils. *Journal of Economic Entomology*, 102, 1922-1927.

Takashi, M., 2013. Reduction in homing flights in the honey bee *Apis Mellifera* after a sublethal dose of neonicotinoid insecticides. *Bulletin of Insectology*, 66, 1-9.

Tan, J., Galligan, J.J., Hollingworth, R.M., 2007. Agonist actions of neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors expressed by cockroach neurons. *Neurotoxicology*, 28, 829-842.

Tauber, C.A., Tauber, M.J., Albuquerque, G.S., 2008. A new genus and species of green lacewings from Brazil (Neuroptera: Chrysopidae: Leucochrysinini). *Annals of the Entomological Society of America*, College Park, 101, 314-326.

Toda, S., Kashio, T., 1997. Toxic effect of pesticides on the larvae of *Chrysoperla carnea*. *Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushu*, 43, 101-105.

Tomizawa, M., Casida, J. E., 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annual Review Entomology*, 48, 339-364.

Valencia, A. et al., 2006. Taxonomía y registros de Chrysopidae (Insecta: Neuroptera) en el Estado de Morelos, México. *Acta Zoológica Mexicana*, Xalapa, 22, 17-61.

Vachon, V., Laprade, R., Schwartz, J.L., 2012. Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: A critical review. *Journal of Invertebrate Pathology*, 111, 1-12.

Venkatesan, S., Balasubramanian, G., Sundarababu, P.C., Sivaram, M.R., 1997. Use of nuclear polyhedrosis virus and green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Stephens) for *Helicoverpa armigera* (Hubner) management on sunflower. *Pest Management and Economic Zoology*, 5, 63–66.

Veja, F.E., Dowd, P.F., 2005. The role of yeasts as insect endosymbionts. *insect-fungal associations: ecology and evolution*, New York: (Oxford University Press), p p. 211-243.

Woolfolk, S.W., Cohen, A.C., Inglis, G.D., 2004. Morphology of the alimentary canal of the *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) adults in relation to microbial symbionts. *Annals of the Entomological Society of America*, 97, 796-808.

Woolfolk, S.W., Inglis, G.D., 2004. Microorganisms associated with field-collected *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) adults with emphasis on yeast symbionts. *Biological Control*, v. 29, 1 55-168.

### Legenda das Figuras

**Figura 1.** Delineamento experimental do bioensaio com larvas de *C. externa*, com utilização de placas de microtitulação. **A** Detalhe em vermelho das fileiras preenchidas com larvas de primeiro instar. **B** Placa pronta com tecido voile colado na parte superior onde foram depositados os ovos de *A. kuehniella*.

**Figura 2.** Fornecimento de água e alimento aos adultos de *C. externa*. **A** Alimentadores confeccionados com fundos de copos descartáveis e tubo de vidro para fornecimento de água. **B** Unidades de confinamento.

**Figura 3.** Secções histológicas do mesêntero de larvas *C. externa* tratado com thiamethoxam e chlorantraniliprole. **A** Corte longitudinal da porção anterior do mesêntero do controle, epitélio simples composto de células digestivas com núcleo (Nu) esférico, presença de vacúolos (Va) e células regenerativas (Re), região muscular bem desenvolvida (Ms), protusões citoplasmáticas (Pt) liberadas no lúmen (L). **B** Corte longitudinal da porção posterior do mesêntero do controle. Presença da borda estriada bem marcada (Be), núcleo ovalado e grande quantidade de vacúolos (Va). **C - D** Corte longitudinal da região anterior e posterior do mesêntero respectivamente, expostos ao thiamethoxam, arranjo regular das células digestivas com presença de borda estriada (Be), núcleos (Nu), vacúolos (Va) e camada muscular intacta (Ms). **E - F** Corte longitudinal da região anterior e posterior do mesêntero respectivamente, expostos ao chlorantraniliprole, ausência de variações nas estruturas celulares, presença de protusões citoplasmáticas (Pt), vacúolos (Va), núcleos regulares (Nu), células regenerativas (Re), lâmina basal (lb) e camada muscular (Ms) intactas.

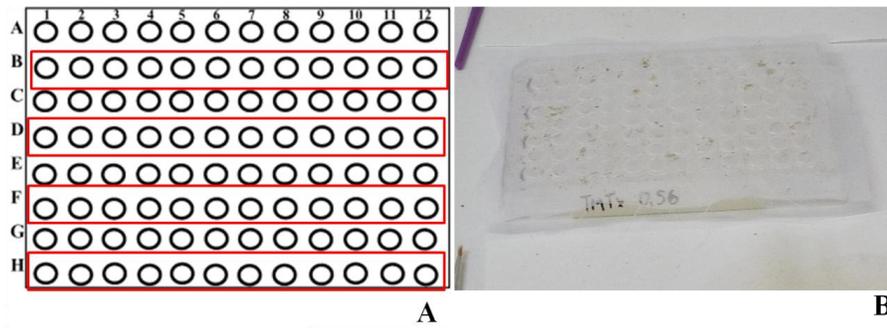
**Figura 4.** Secções histológicas do mesêntero de adultos de *C. externa* tratado com thiamethoxam. **A** Corte longitudinal da porção anterior do mesêntero do controle, epitélio simples composto de células digestivas (Cd), borda estriada (B), membrana peritrófica fortemente acidófila (MP), lúmen (L), núcleos celulares (Nu), camada muscular (Ms), grânulos basófilos (setas). **B** Região posterior do tratamento controle mostrando ápice das células formando protusões citoplasmáticas (Pt) liberadas no lúmen (L), citoplasma fracamente basófilo, ninhos com células regenerativas (Re) na base do epitélio, núcleo com cromatina esparsa (Nu), nucléolo evidente (setas), presença de vacúolos (Va), região muscular bem desenvolvida (Ms). **C** Corte longitudinal da região anterior

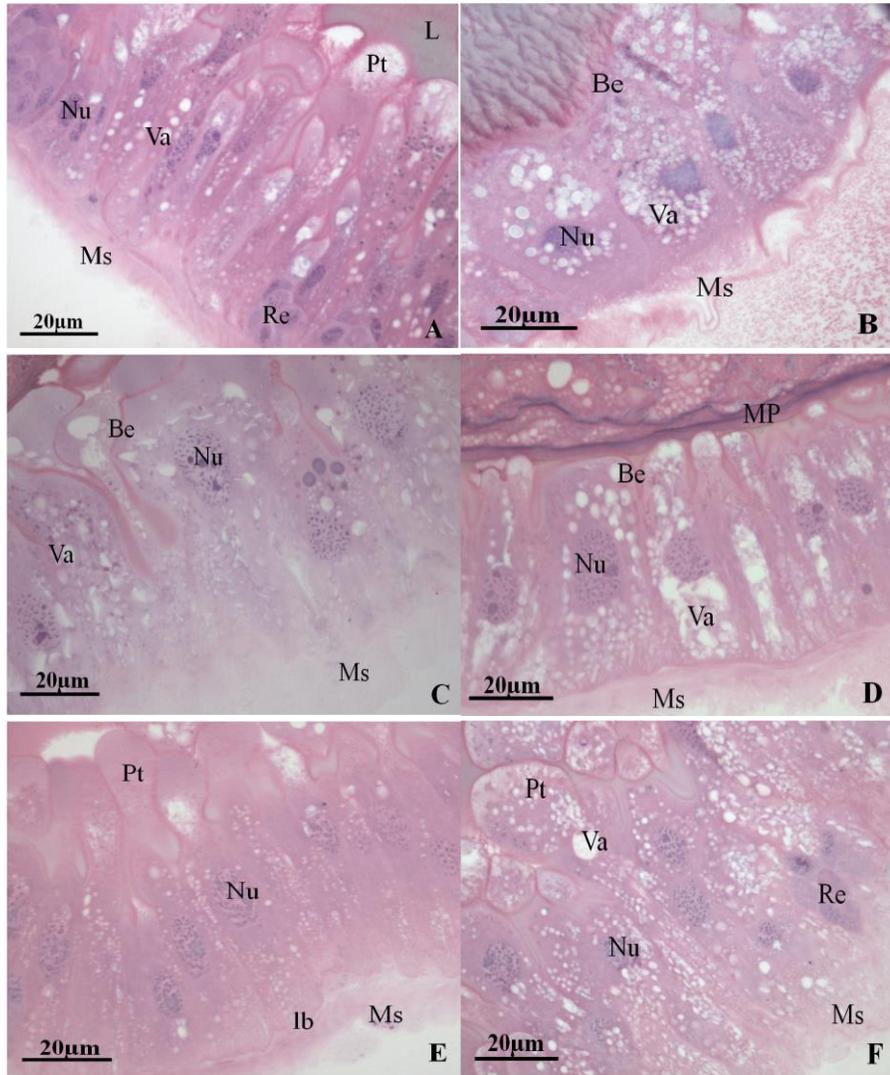
do mesêntero exposto ao thiamethoxam por 24h. Arranjo regular nas células digestivas (Cd), membrana peritrófica (MP), dilatação da região apical celular (asterisco), núcleos com cromatina descondensada (Nu), protusões citoplasmáticas com grânulos basófilos (Pt) liberados no lúmen (L). **D** Corte longitudinal da região posterior do mesêntero exposto ao thiamethoxam por 24h, membrana peritrófica com arranjo estrutural regular (MP), núcleos com cromatina regular (Nu), camada muscular intacta (Ms). **E** Corte longitudinal da região anterior do mesêntero exposto ao thiamethoxam, avaliado no 12º dia, membrana peritrófica (MP) e borda estriada (seta) intactas e bem marcadas, núcleos normais (Nu), presença de vacuolização celular (Va) e células regenerativas (Re), camada muscular regular (Ms). **F** Corte longitudinal da região posterior do mesêntero exposto ao thiamethoxam, avaliado no 12º dia, vacuolização celular marcante (Va), núcleo basófilo com cromatina regular (Nu), presença de células regenerativas (Re), musculatura regular (Ms). **G** Corte longitudinal da região anterior do mesêntero exposto ao thiamethoxam, avaliado no 30º dia, válvula cardíaca com musculatura normal (Vc), membrana peritrófica acidófila regular (MP), núcleos regulares (Nu), presença de células regenerativas (Re), presença de vacúolos (asterisco). **H** Corte longitudinal da região posterior do mesêntero exposto ao thiamethoxam, avaliado no 30º dia, membrana peritrófica altamente acidófilas (MP) com protusões citoplasmáticas (Pt) liberadas no lúmen (L), presença de vacúolos (Va), células regenerativas (Re), camada muscular regular (Ms). Barras = 20 µm.

**Figura 5.** Secções histológicas do mesêntero de *C. externa* tratado com chlorantraniliprole. **A – B** Epitélio do tratamento controle, porções anterior e posterior respectivamente, células digestivas em formato colunar, membrana peritrófica evidente (MP), lâmina basal espessa (lb), protusões citoplasmáticas (Pt), vacúolos (Va), células regenerativas (setas; Re) núcleos celulares com cromatina homogênea (Nu), camada muscular (Ms), lúmen (L). **C - D** Corte longitudinal da região anterior e posterior do mesêntero exposto ao chlorantraniliprole por 24h, organização celular regular, presença de grande quantidade de ninhos de células regenerativas (Re), núcleo com cromatina descondensada (Nu), nucléolo evidente e basófilo (setas), membrana peritrófica bem marcada (MP), camada muscular regular (Ms). **E – F** Corte longitudinal da região anterior e posterior do mesêntero exposto ao chlorantraniliprole, avaliado no 12º dia, membrana peritrófica regular (MP), presença de ninhos de células regenerativas (Re), núcleos regulares com cromatina descondensada (Nu),

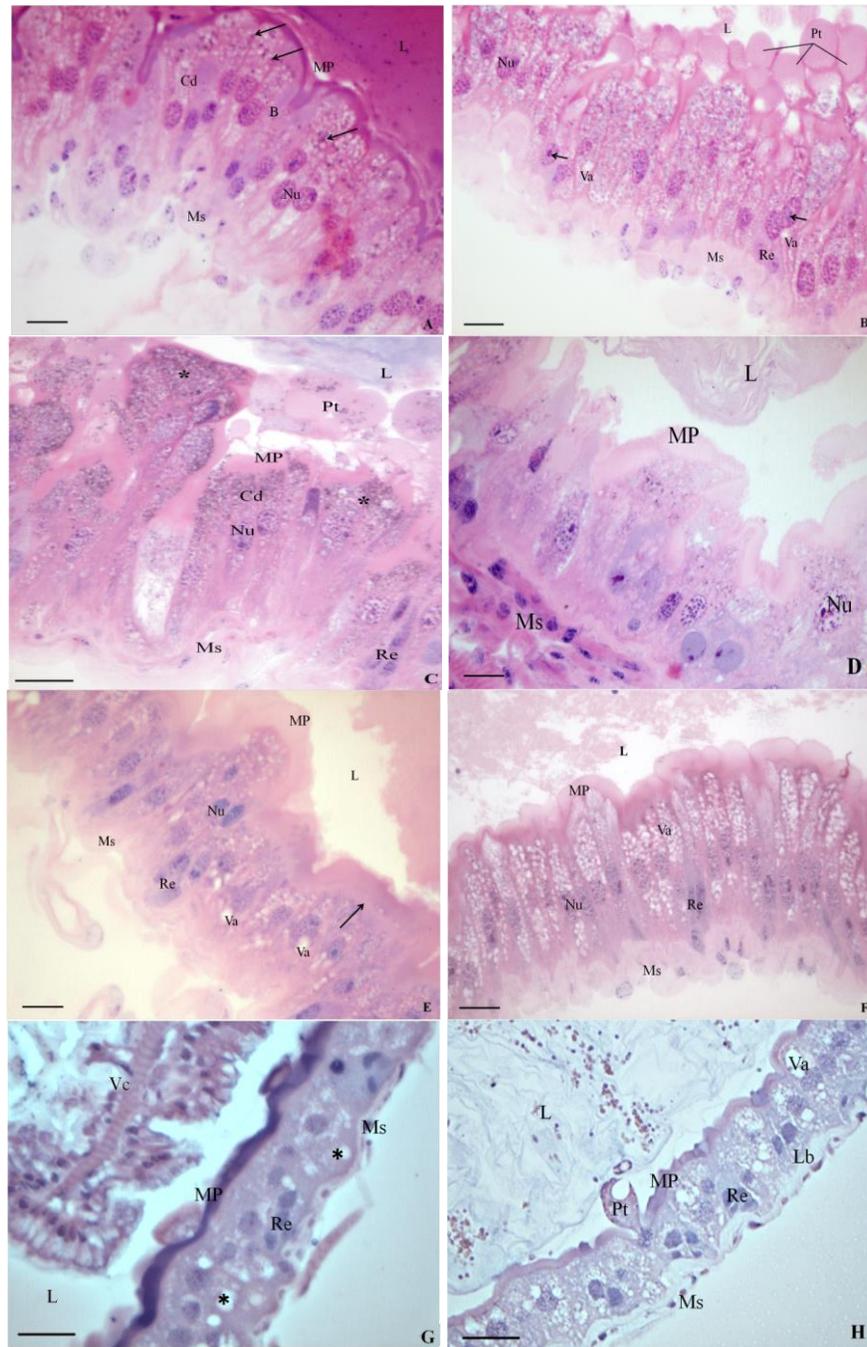
nucléolo basófilo (nc), camada muscular morfológicamente regular (Ms). **G – H** Corte longitudinal da região anterior e posterior do mesêntero exposto ao chlorantranilprole, avaliado no 30º dia, membrana peritrófica (MP) e borda estriada intactas (Be), núcleos fortemente basófilos em posição regular (Nu), lâmina basal espessa (lb), camada muscular regular (Ms), presença de ninhos de células regenerativas (Re) e vacuolização citoplasmática (setas; Va). Barras = 20 µm. Figura F Barra = 1 µm.

**Figura 6.** Fotomicrografias do intestino médio de larvas de *C. externa* expostas a inseticidas. **A** Região anterior do intestino médio do controle mostrando presença de mitocôndrias (Mt), vesículas grandes (Ve), retículo endoplasmático rugoso (Rer), dobras no tecido celular (seta) disposto sobre a lâmina basal (Lb), figuras mielínicas (Fm) e camada do tecido muscular (Ms). **B** Região posterior do intestino médio do controle, ápice das células digestivas com microvilosidades (Mv), junção celular retilínea (Jc), presença abundante de mitocôndrias na região apical (Mt), vesícula (Ve), retículo endoplasmático rugoso (Rer), vacúolos com conteúdo elétron-denso (Va). **C** Região anterior do intestino médio tratado com thiamethoxam, microvilosidades (Mv) com filamentos organizados em direção ao lúmen (L), presença de gotas lipídicas (Li), mitocôndrias (Mt) e grânulos (Gr). **D** Região posterior do intestino médio tratado com thiamethoxam, presença de grandes vesículas (Ve), mitocôndrias (Mt) e gotas lipídicas (Li). **E** Região anterior do intestino médio tratado com chlorantranilprole, microvilosidades com organização estrutural intacta (Mv), presença de vesículas de conteúdo elétron-denso (Ve) e vesículas não ocupadas totalmente por material elétron-denso de arranjo concêntrico (Vn), vacúolos (Va), gotas lipídicas (Li), mitocôndrias (Mt) e lisossomo (Ls). **F** Região posterior do intestino médio tratado com chlorantranilprole, presença de grandes vacúolos autofágicos (Va), mitocôndrias (Mt), gotas lipídicas (Li) e vesículas de conteúdo elétron-denso (Ve).

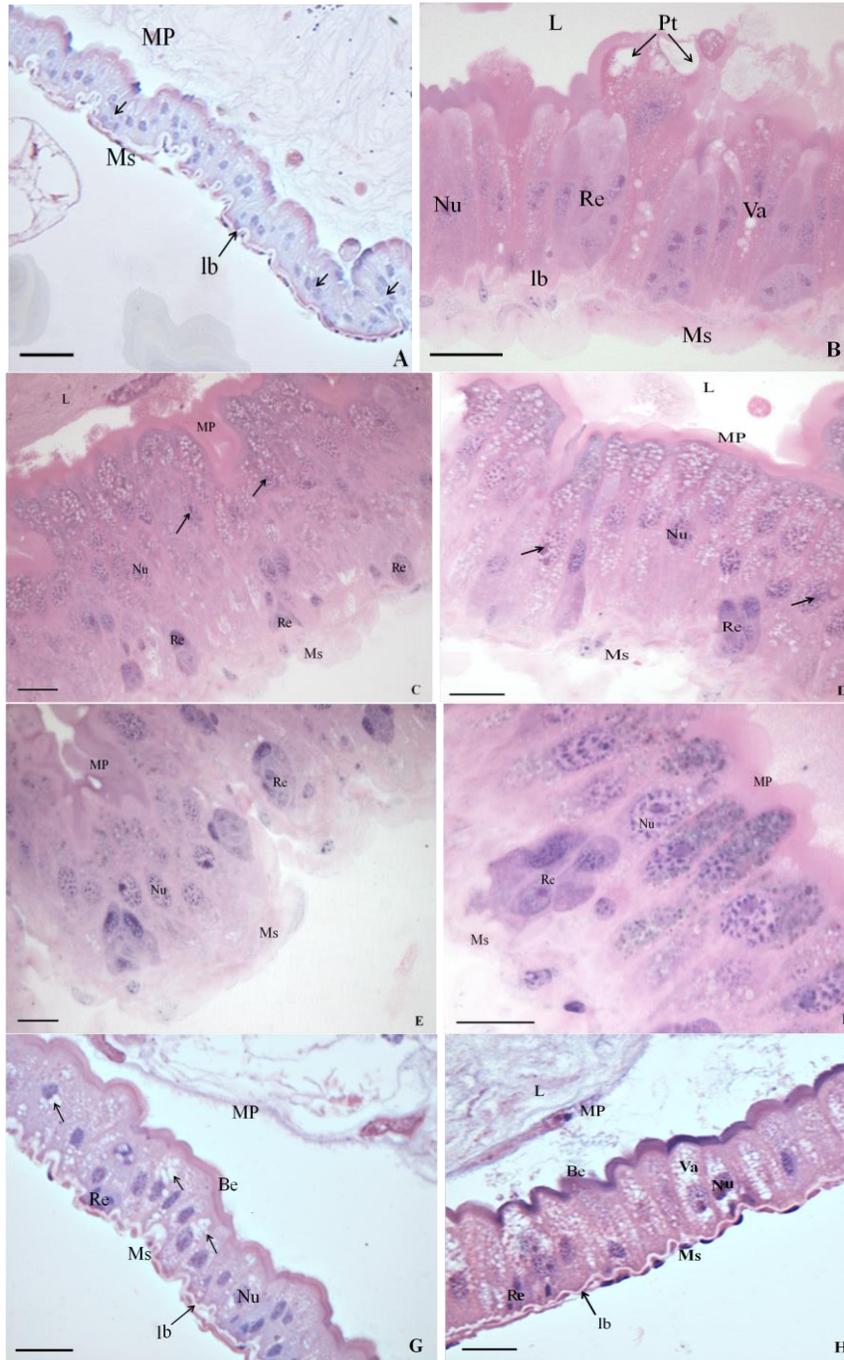
**Figura 1****Figura 2.**



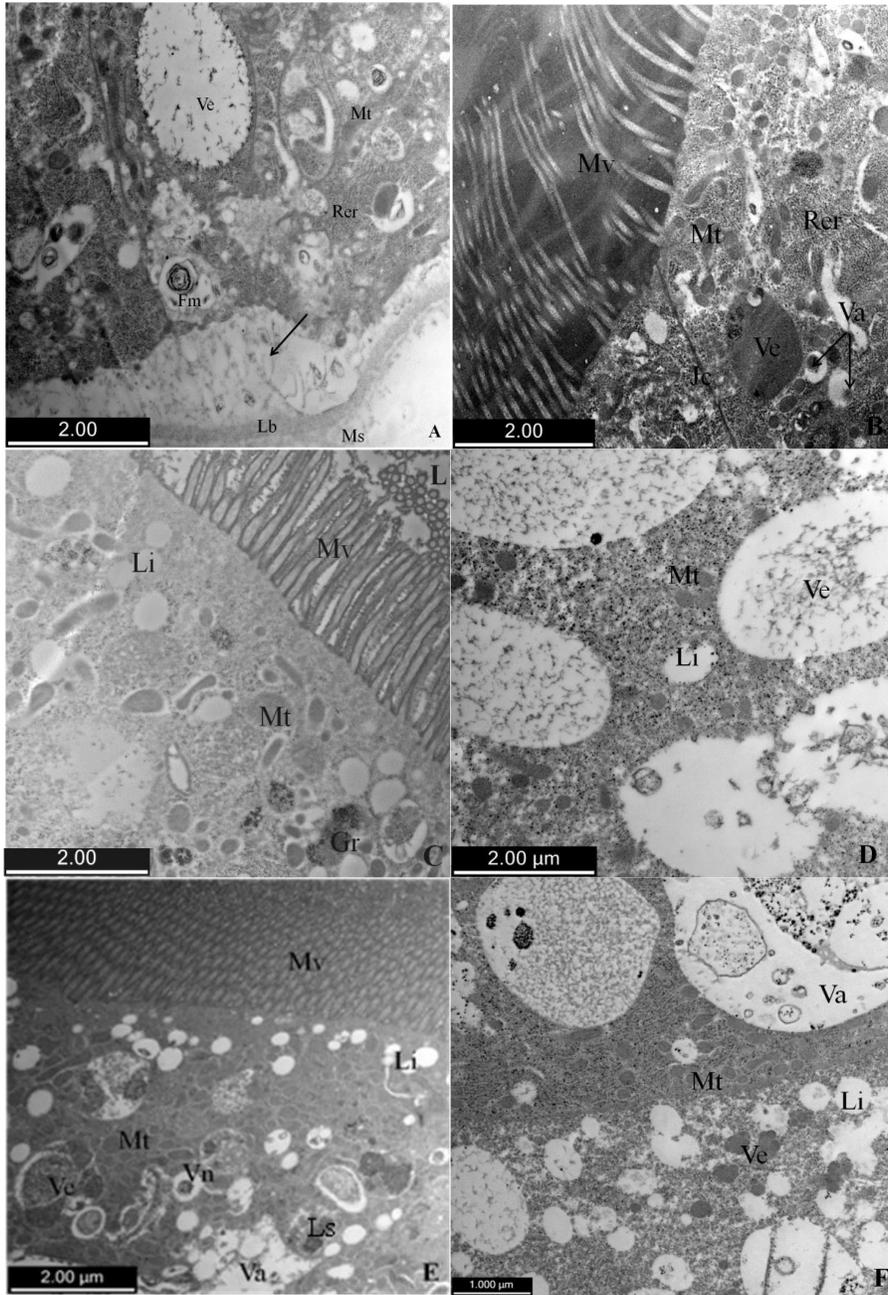
**Figura 3.**



**Figura 4**



**Figura 5.**



**Figura 6.**