

Universidade Federal do Rio Grande Instituto de Ciências Biológicas Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais



Efeitos do uso inseticidas sobre insetos aquáticos

Isadora Vasques da Luz

Orientador: Luiz Ubiratan Hepp

Rio Grande 2023



Universidade Federal do Rio Grande Instituto de Ciências Biológicas Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais



Efeitos do uso de inseticidas sobre insetos aquáticos

Aluno: Isadora Vasques da Luz

Orientador: Prof. Luiz Ubiratan Hepp

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

Rio Grande 2023

Ficha Catalográfica

L979e Luz, Isadora Vasques da.

Efeitos do uso de inseticidas sobre insetos aquáticos / Isadora Vasques da Luz. – 2023.

40 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Rio Grande/RS, 2023.

Orientador: Dr. Luiz Ubiratan Hepp.

- 1. Químicos 2. Agrotóxicos 3. Invertebrados aquáticos
- 4. Diversidade aquática I. Hepp, Luiz Ubiratan II. Título.

CDU 632.122

Catalogação na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

Este trabalho é dedicado ao meu irmão *Tarik Vasques da Luz* (18/03/1988 – 07/01/2021) que brilhou em terra e agora brilha no céu, o maior amor experimentado foi tê-lo em minha vida.

Yellow Submarine the beatles

In the town where I was born Lived a man who sailed to sea And he told us of his life In the land of submarines So we sailed on to the sun 'Til we found a sea of green And we lived beneath the waves In our yellow submarine We all live in a yellow submarine Yellow submarine, yellow submarine We all live in a yellow submarine Yellow submarine, yellow submarine And our friends are all aboard Many more of them live next door And the band begins to play We all live in a yellow submarine Yellow submarine, yellow submarine We all live in a yellow submarine Yellow submarine, yellow submarine Full steam ahead, Mister Boatswain, full steam ahead Full steam ahead it is, Sergeant (Cut the cable, drop the cable) Aye-aye, sir, aye-aye Captain, captain As we live a life of ease (a life of ease) Every one of us (every one of us) Has all we need (has all we need) Sky of blue (sky of blue) And sea of green (sea of green) In our yellow (in our yellow) Submarine (submarine, aha) We all live in a yellow submarine A yellow submarine, yellow submarine We all live in a yellow submarine A yellow submarine, yellow submarine We all live in a yellow submarine Yellow submarine, yellow submarine We all live in a yellow submarine Yellow submarine, yellow submarine

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Luiz Ubiratan Hepp, por seus ensinamentos e paciência ao longo dessa jornada;

Agradeço ao PPGBAC pela estrutura e ajuda;

Agradeço a CAPES pela bolsa que recebi durante um ano e meio;

Agradeço ao professor Rogério Tubino Viana por toda ajuda e disponibilidade;

Agradeço a Universidade Federal do Rio Grande – FURG pela oportunidade;

Agradeço aos técnicos do PPGBAC pela sua disponibilidade em nos ajudar em nossas aulas;

Agradeço ao professor Antônio Camargo por seus adendos à minha pesquisa; agradeço ao meu amigo Luiz Gustavo Lopes por me ajudar em toda essa jornada me trazendo seus ensinamentos:

Agradeço a minha família por toda ajuda durante esse período;

Agradeço em especial, a minha mãe Simone Vasques da Luz pela vida e pelo amor que me foi dado;

Agradeço ao meu pai Claudio Diomar Nolasco da Luz pelo apoio;

Agradeço a minha amiga Aline Fonseca por toda a ajuda e parceria;

Agradeço ao Saimon Bueno por sua disponibilidade em me ajudar sempre que pedido;

Agradeço ao meu amigo Erick Siebre por todo o apoio e amizade;

Agradeço a minha amiga Janaina Mello por toda ajuda;

Agradeço a Ingrid Pereira por toda a ajuda;

Agradeço a Professora Fabiana Schneck por seus ensinamentos;

Agradeço também a Professora Sônia Hefler por seus ensinamentos;

Agradeço a Professora Edelti Albertoni por suas colaborações com a minha pesquisa;

Agradeço ao meu amor, Catarina Polino Gomes por todo amor, companheirismo e cuidados;

RESUMO

Com o crescimento populacional nas últimas décadas, houve um aumento no uso de inseticidas nas práticas agrícolas, como os organofosforados e piretróides. Esse aumento se dá, seja pela necessidade de consumo, ou a proteção contra animais considerados pragas pelos humanos. Os inseticidas chegam em indivíduos não-alvos através de eventos como, escoamento de superfície, pulverização e drenagem das águas superficiais. Os inseticidas organofosforados e piretróides possuem uma meiavida longa e acabam afetando indivíduos não-alvo, como por exemplo, insetos aquáticos. Com isso, o intuito desse trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica e meta-analisar as publicações dos anos de 1990 a 2022 que falavam sobre a ação de inseticidas em insetos não alvo de água doce. Realizamos uma pesquisa inicial seguindo critérios do Protocolo PRISMA e encontramos 681 artigos, os quais foram triados e resultaram em 44 publicações posteriormente analisadas. Dos 44 artigos avaliamos diversas características como, efeitos diretos causados nos animais pelos inseticidas ao qual foram expostos, número de publicações por ano/países. Apenas nove artigos se enquadraram em critérios para serem meta-analisados. Observamos um acréscimo no número de publicações ao longo dos anos, mas um percentual muito baixo de estudos associados a insetos aquáticos não-alvo, comparados ao universo de publicações. Na meta-análise foram avaliadas as taxas de sobrevivência dos insetos, e obtivemos respostas significativas. Através dessas análises concluímos que é marcante os efeitos negativos dos inseticidas sobre a sobrevivência dos insetos aquáticos. Além disso, é clara a falta de informações básicas sobre os efeitos específicos dos inseticidas utilizados e padronização de métodos de análises.

Palavras-chave: Químicos; agrotóxicos; invertebrados aquáticos; diversidade aquática.

ABSTRACT

With population growth in recent decades, there has been an increase in the use of insecticides in agricultural practices, such as organophosphates and pyrethroids. This increase is due to the need for consumption or protection against animals considered pests by humans. Insecticides reach non-target individuals through events such as surface runoff, spraying and surface water drainage. Organophosphate and pyrethroid insecticides have a long half-life and end up affecting non-target individuals, such as aquatic insects. With that, the purpose of this work was to carry out a bibliographical review and metaanalyze the publications from the years 1990 to 2022 that spoke about the action of insecticides on non-target freshwater insects. We performed an initial search following criteria of the PRISMA Protocol and found 681 articles, which were screened and resulted in 44 publications that were subsequently analyzed. Of the 44 articles, we evaluated several characteristics, such as direct effects caused in animals by the insecticides to which they were exposed, number of publications per year/countries. Only nine articles met the criteria to be meta-analyzed. We observed an increase in the number of publications over the years, but a very low percentage of studies associated with nontarget aquatic insects, compared to the universe of publications. In the meta-analysis, the survival rates of the insects were evaluated, and we obtained significant responses. Through these analyzes we concluded that the negative effects of insecticides on the survival of aquatic insects are remarkable. Furthermore, there is a clear lack of basic information on the specific effects of the insecticides used and standardization of analysis methods.

Key-words: inseticide, pesticides, aquatic invertebrate, diversity aquatic.

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está organizada de forma a apresentar bases conceituais sobre o tema de trabalho e um manuscrito científico. A primeira seção consiste na Introdução Geral, a qual apresenta conceitos importantes acerca do tema uso de pesticidas e insetos aquáticos, além de destacar a problemática estudada. Em seguida é apresentado um manuscrito científico que consiste em uma revisão sistemática e uma meta-análise, onde foi avaliado o estado da arte sobre os efeitos do uso de inseticidas sobre espécies não-alvo, com ênfase em insetos aquáticos. Por fim, é apresentada uma Conclusão Geral com as Considerações Finais e Perspectivas sobre as observações obtidas no estudo.

SUMÁRIO

Resumo	7
Abstract	8
Apresentação	9
Lista de Figuras	11
Introdução Geral	12
Referências	15
Capitulo 1	20
Resumo	21
Introdução	21
Materiais e métodos	22
Resultados	24
Discussão	28
Considerações Finais	30
Referências	31
Conclusão Geral	34
Anexos	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Organograma dos procedimentos de pesquisa e escolha dos artigos											
utilizando o Protocolo PRISMA23											
Figura	2:	Acúmulo	de	artigos	por	ano,	desde	1990	ao	ano	de
2022											25
Figura 3: Efeitos agudos ou crônicos causados pelos inseticidas dos estudos em											
laboratório ou campo26											
Figura 4: Total de publicações que avaliaram o efeito dos inseticidas em insetos											
aquáticos não-alvo durante o período de 1990 a 202227											
Figura 5: Gráfico Forest para representação dos resultados da meta-análise com											
artigos publicados durante o período de 1990 e 2022 sobre os efeitos de inseticidas											
nas taxas de sobrevivência de insetos aquáticos. No gráfico são informados os Índices											
de Hete	roger	eidade, Ef	eito ge	eral, Risk	Ratio	(RR), I	Intervalo	de Con	fiança	a (CI) p	ara
os		ev	entos			ex	oerimenta	ais			е
controle.											28

INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento populacional nas últimas décadas tem provocado inúmeras alterações nos ambientes naturais, seja pela necessidade de alimento, seja pela ampliação das áreas habitadas. Desta forma, o desenvolvimento tecnológico, apesar de causar benefícios a população humana, tem efeitos adversos ao meio ambiente, como, por exemplo, o uso indiscriminado de inseticidas. As práticas agrícolas têm papel fundamental nestas alterações ambientais uma vez que o sistema de produção agrícola faz uso de produtos químicos com a intenção de controlar plantas daninhas, insetos praga, doenças, entre outros aspectos que podem prejudicar a produção (Ruegg et al., 1991). Assim, existem inúmeras classes de produtos químicos utilizados na agricultura, que variam de acordo com sua aplicação e/ou grupo-alvo a ser controlado (e.g. inseticidas, pesticidas, fungicidas, etc.).

Os inseticidas utilizados atualmente são classificados de acordo com suas características químicas, sendo os organofosforados e piretróides, os mais amplamente comercializados. No entanto, existem inseticidas caracterizados por outros grupos químicos (e.g. neonicotinóide) e até mesmo com agentes biológicos. Os inseticidas biológicos têm sido utilizados como uma alternativa menos agressiva para o meio ambiente, afetando na maioria das vezes, apenas organismos-alvo e possuindo meia-vida é curta (Efsa, 2006).

Os inseticidas organofosforados afetam o sistema nervoso dos animais, inibindo suas colinesterases, principalmente a acetilcolinesterase (AChE), o que causa o aumento do nível de acetilcolinas (ACh) nas sinapses nervosas e junções neuromusculares (Cavaliere et al., 1996). Esses efeitos resultam em constante despolarização e hiperestimulação nervosa alterando o comportamento dos animais (Zachary, 2007). Um exemplo de inseticida do grupo dos organofosforados é o Diazinon (Flores et al., 2014), o qual ocasiona comumente, exposição à organismos não-alvo (Efsa, 2006). A intoxicação por esses organofosforados ocorre de diversas formas, como: contaminação das fontes de água, uso de latas de inseticidas vazias

como bebedouro, desvio dos inseticidas pulverizados através do vento (Oliveira-Filho et al., 2010).

Os piretróides são inseticidas que possuem alta atividade biológica e baixas taxas de aplicação de dose, são caracterizados por possuir baixa biodisponibilidade em ambientes naturais devido a sua baixa solubilidade e forte propriedade de absorção (Davies, 1985). Nos últimos anos houve um aumento no uso dos piretróides, e com isso, a preocupação com seus possíveis efeitos ecológicos não-alvo aumentou também (Antwi e Peterson, 2009; Wetson e Lydy, 2010; Merivee et al., 2015). Os insetos aquáticos são suscetíveis a piretróides (Tang e Siegfried, 1995), embora esses produtos tenham baixa biodisponibilidade, mas alta toxicidade, características que carecem de informações no ambiente, como deltametrina (Friant e Henry, 1985).

Inseticidas do tipo neonicotinóide podem persistir em solos e entrar em ecossistemas aquáticos a partir da lixiviação trazendo sementes e solos contaminados e vegetação tratada com o inseticida (Jones et al., 2014; Main et al., 2015; Englert et al., 2017). Vários estudos identificaram concentrações residuais que caracterizam a contaminação de neonicotinóides em áreas úmidas (Main et al., 2016; Evelsizer e Skopec, 2017; Williams e Sweetman, 2018). Certas condições abióticas podem prolongar seu tempo de resistência (e.g. turbidez alta e pH baixo) (Guzsvany et al., 2006; Lu et al., 2015).

Clorantraniliprole (CAP) é uma nova classe química de inseticidas (rianóides), esse químico atua pela ativação dos receptores de rianodina, o que estimula a liberação de cálcio dos estoques internos, afetando diretamente na homeostase do cálcio e nos nervos ligados as células musculares. Logo, prejudica a contração muscular dos insetos, levando a inibição da alimentação e paralisia dos mesmos, o que causa sua morte (Cordova et al., 2006; Satelle et al., 2008; Casida, 2009; Li et al., 2011). Os rianóides estão sendo usados como substitutos de outros grupos, como, organofosforados, carbamatos, piretróides e neonicotinóides, pois possui baixa toxicidade em mamíferos (Sattelle et al., 2008; Casida, 2009; Jeanguenat, 2013).

Os inseticidas do grupo dos piriproxifeno, atuam no Hormônio Juvenil (HJ) como uma substância agonística, impedindo as larvas de se desenvolverem na fase adulta. Esse hormônio desempenha o papel de todo ciclo de vida dos insetos, como o desenvolvimento e produção de ovos pelas fêmeas, esse inseticida é um dos muitos que foram destinados a interferir com o Hormônio Juvenil (HJ) ou ecdsyteróides (Kropp et al., 2004; Oehlmann e Schulte-Oehlmann, 2003).

Com uma perspectiva menos agressiva ao ambiente, o mercado de agrotóxicos tem comercializado Bioinseticidas, tendo como agente o *Bacillus turingiensis*. Esta espécie de bactéria produz um esporângio contendo endósporo e inclusões cristalinas responsáveis por sua ação entomopatogênica. Essas inclusões cristalinas são proteicas e compostas por endotoxina, um polipeptídeo (Navon, 1993), que será ingerido pelo inseto em sua forma larval através da alimentação. Ao entrar no sistema digestório da larva, inicia-se uma série de ações que culminam com a morte desses insetos, o que se caracteriza como controle biológico (Mendonça, 2002). O uso do inseticida biológico originário de *B. turingiensis* é considerado atóxico aos seres humanos e é considerada uma estratégia para o controle de lagartas durante os primeiros ínstares, sendo considerado ineficaz para adultos (Pereira et al., 1998).

Uma vez no ambiente, esses produtos químicos atuam, não apenas na área da cultura de interesse, mas se dispersam facilmente pelos diferentes compartimentos naturais (i.e. solo e água). Assim, é de suma importância compreender os efeitos dos inseticidas, para que esses compostos possam ser usados com segurança e eficácia em áreas adjacentes a ambientes aquáticos (Antwi e Reddy, 2015). Dentre os diferentes grupos de produtos químicos, os inseticidas têm sido amplamente utilizados para controle das mais variadas espécies de insetos que causam danos às culturas agrícolas. Embora as indústrias que produzem esses produtos tenham se especializado para aperfeiçoar a ação dos inseticidas, é de conhecimento geral, que esses produtos afetam de maneira direta e indiretamente outras espécies de insetos, conhecidas como não-alvo.

Entre os animais não-alvo afetados pelo uso indiscriminado dos inseticidas, os insetos que vivem em ambientes aquáticos adjacentes a áreas agrícolas têm sido fortemente influenciados pelas concentrações residuais resultantes da aplicação nas culturas agrícolas. Os insetos aquáticos estão presentes na maioria dos ambientes aquáticos, especialmente em suas fases de desenvolvimento iniciais (Merritt e Cummins, 1996). A distribuição desses organismos é influenciada pelas características do sedimento, morfologia das margens, profundidade da coluna, vegetação ripária, competição entre as espécies, recursos alimentares e química da água (Queiroz et al., 2000). Os insetos aquáticos possuem papel fundamental na dinâmica e funcionamento dos ecossistemas, uma vez que participam de forma decisiva no processamento de detritos que ficam acumulados no leito do ecossistema, contribuindo para o fluxo de matéria e energia nesses sistemas (Dobson e Hildrew,

1992). Por essas razões, conhecer os efeitos dos inseticidas utilizados nas práticas agrícolas sobre grupos não-alvo, especificamente, sobre os insetos aquáticos, é importante para conhecer a dinâmica destes produtos no ambiente e seus efeitos sobre os padrões e processos ecossistêmicos.

Um exemplo da ação dos inseticidas em grupos não-alvo foi observado por Alexander et al. (2007), os quais observaram que a alimentação de anelídeos aquáticos foram inibidas, quando os animais foram expostos a baixas concentrações de imidaclopride (<10 µg/L), indicando efeitos negativos sobre as condições fisiológicas e comportamentais dos animais. Thompson et al. (2016) observaram a redução na abundância e biomassa de macroinvertebrados expostos a cloripirifós. Raven e George (1989), perceberam que *Oulimnius tuberculatus* (Coleoptera) e *Caenis moesta* (Ephemeroptera) não retornaram aos trechos com incidência de piretróides, concluindo que estes produtos reduzem a capacidade de migração dos organismos.

Considerando a ampla utilização de produtos químicos, em especial, de inseticidas, no manejo das culturas agrícolas no Brasil e a falta de maior conhecimento sobre os efeitos desses produtos em espécies não alvo, esta dissertação tem como objetivo geral realizar uma revisão sistemática da literatura para identificar o atual estado do conhecimento acerca do uso e efeitos de inseticidas organofosforados, piretróides e biológicos sobre insetos aquáticos (grupos não-alvo). Neste sentido, foi realizada uma meta-análise dos estudos publicados nas últimas quatro décadas (1990-2022) para verificar, de modo geral, os efeitos destes produtos químicos sobre a biodiversidade aquática.

Referências

Alexander, A. C., Culp, J. M., Liber, K., & Cessna, A. J. 2007. Effects of insecticide exposure on feeding inhibition in mayflies and oligochaetes. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, 26(8), 1726-1732.

Antwi F.B., Reddy G. V. P. 2015. Toxicological effects of pyrethroids on non-target aquatic insects. **Environmental Toxicology and Pharmacology.** 40:915-923.

Beketov, M. A., Kefford, B. J., Schäfer, R.B., Liess, M., 2013. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. **Proceedings of the National Academy of Science.** 110, 11039–11043

Casida, J. E., 2009. Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. **Chemical Research in Toxicology** 22. American Chemical Society, pp. 609–619.

Cavaliere, M. J., Calore, E. E., Perez, N. M., E Rodrigues Puga, F. 1996. Miotoxicidade por organofosforados. **Revista de Saúde Pública**, 30(3), 267–272.

Coats J. R., Symonik D. M., Bradbury S. P., Dyer S. D., Timson L. K., Atchison G. J. 1989. Toxicology of synthetic pyrethroids in aquatic organisms: An overview. **Environmental Toxicology and Chemistry** 8:671-679.

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 and Biochemistry and Physiology.** 84, 196–214.

Davies, J. H.1985. The Pyrethroids: na Historical Intoducion. In: The Pyrethroid Inseticides. Londres: Taylor & Francis. chap. 1, p. 1-31.

Dobson, M., Hildrew, A. G., Ibbotson, A., E Garthwaite, J. 1992. Enhancing litter retention in streams. **Freshwater Biology**. 28(1), 71–79.

Efsa. European Food Safety Authority. 2006. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance diazinon. **Summary of the EFSA Scientific Report**. 85(1–73). p. 1–4.

Englert, D., Zubrod, J.P., Link, M., Mertins, S., Schulz, R., Bundschuh, M., 2017. Does waterborne exposure explain effects caused by neonicotinoid-contaminated plant material in aquatic systems. **Environmental Science Technology.** 51 (10), 5793e5802.

Evelsizer, V., Skopec, M., 2017. Pesticides, including neonicotinoids, in drained wetlands of lowa's prairie pothole region. **Wetlands** 38 (2), 221e232.

Flores, L., Banjac, Z., Farré, M., Larrañaga, A., Mas-Martí, E., Muñoz, I., Elosegi, A. 2014. Effects of a fungicide (imazalil) and an insecticide (diazinon) on stream fungi and invertebrates associated with litter breakdown. **Science of The Total Environment**. 476-477, 532–541.

Friant, S.L., Henry, L., 1985. Relationships between toxicity of certain organic compounds and their concentrations in tissues of aquatic organisms: a perspective. **Chemosphere**. 14, 1897–1907.

Guzsvany, V., Csanadi, J., Gaal, F., 2006. NMR study of the influence of pH on the persistence of some neonicotinoids in water. **Acta Chimica Slovenica**. 53 (1), 52.

Güttinger, H., Stumm, W., 1992. Ecotoxicology an analysis of the Rhine pollution caused by the Sandoz chemical accident, 1986. **Interdisciplinary Science Reviews.** 17, 127–136.

Jones, A., Harrington, P., Turnbull, G. 2014. Neonicotinoid concentrations in arable soils after seed treatment applications in preceding years. **Pest Management Science.** 70 (12), 1780e1784.

Jeanguenat, A. 2013. The story of a new insecticidal chemistry class: the diamides. **Pest Management Science.** 69, 7–14.

Kropp R. K., Pinza M. R., Blanton M. L. 2004. Draft detailed review paper on aquatic arthropods in life cycle and two-generation toxicity tests. **EPA contract.** 68-W-01-023. Li, Y., Mao, M., Li, Y., Xiong, L., Li, Z., Xu, J. 2011. Modulations of high-voltage activated Ca2+ channels in the central neurones of Spodoptera exigua by chlorantraniliprole. **Physiological Entomology** . 36, 230–234.

Liess, M., Foit, K., Becker, A., Hassold, E., Dolciotti, I., Kattwinkel, M., et al., 2013. Culmination of low-dose pesticide effects. **Environmental Science and Technology.** 47, 8862–8868.

Liess, M., Ratte, T., Ebke, P., Hollert, H. 2019. 20 Years SETAC GLB: Increasing Realism of Pesticide Risk Assessment. **Environmental Sciences Europe**.

Lu, Z., Challis, J. K., Wong, C. S. 2015. Quantum yields for direct photolysis of neonicotinoid insecticides in water: implications for exposure to nontarget aquatic organisms. **Environmental Science and Technology**.

Main, A. R., Michel, N. L., Headley, J. V., Peru, K. M., Morrissey, C. A. 2015. Ecological and landscape drivers of neonicotinoid insecticide detections and concentrations in Canada's prairie wetlands. **Environmental Science and Technology.** 49 (14), 8367e8376.

Main, A. R., Michel, N. L., Cavallaro, M. C., Headley, J. V., Peru, K. M., Morrissey, C. A. 2016. Snowmelt transport of neonicotinoid insecticides to Canadian Prairie wetlands. **Agriculture, Ecosystems and Environment.** 215, 76e84.

Merivee, E., Tooming, E., Must, A., Sibul, I., Williams, I.H. 2015. Low doses of the common alpha-cypermethrin insecticide affect behavioural thermoregulation of the non-targeted, beneficial carabid beetle Platynus assimilis (Coleoptera: Carabidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety.** 120, 286–294.

Merritt, R.W. E Cummins, K.W. 1996. An Introduction to the Aquatic Insects of North

America. Kendall Hunt Publishing Company. Dubuque, 862.

Mendonça, P. C. 2002. Caracterização e sequenciamento dos plasmídeos pMC1 e pMC2 de Bacillus thuringiensis var. thuringiensis isolado T01 328. 53 f. **Dissertação** (**Mestrado em Agronomia/Genética Melhoramento de Plantas**) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Navon, A. Control of lepidopteran pests with Bacillus thuringiensis. In: ENTWISTLE, P. F.; CORY, J. S.; BAILEY, M. J.; HIGGS, S. 1993. Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice. Chichester: Wiley. 311 p.

Oehlmann J., Schulte-Oehlmann U. 2003. Endocrine disruption in invertebrates. **Pure and Applied Chemistry.** 75, 2207–2218.

Oliveira-Filho, J. C., Carmo, P. M. Pierezan, F., Tochetto, C., Lucena, R. B., Rissi, D. R., E Barros, C. S. 2010. Intoxicação por organofosforado em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** 30(10), 803–806. Pereira, R. M., Alves, S. B., Reis, P. R. 1998. **Segurança no emprego de entomopatógenos. In: ALVES, S B. (Ed.). Controle microbiano de insetos.**

Queiroz, J. F., Trivinho-Strixino, S. E Nascimento, V. M. C. 2000. Organismos bentônicos bioindicadores da qualidade das águas da Bacia do Médio São Francisco. **Comunicado Técnico – Embrapa Meio Ambiente.**

Raven, P., George, J. 1989. Recovery by riffle macroinvertebrates in a river after a major accidental spillage of chlorpyrifos. **Environmental Pollution.** 59, 55–70. Ruegg, E. F., Puga, F. R., Souza, M. C. M., Ungaro, M. T. S., Ferreira, M. S., Yokomizo, Y. et al., 1991. Impacto dos agrotóxicos sobre o ambiente, a saúde e a sociedade. 2. ed. São Paulo: **Editora Cone**. (Coleção Brasil Agrícola). Siegfried B. D. 1993. Comparative toxicity of pyrethroid insecticides to terrestrial and aquatic insects. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 12:1683-1689. Tang, J. X., Siegfried, B. D. 1995. Comparative uptake of a pyrethroid and organophosphate insecticide by selected aquatic insects. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.** 55, 130–135.

Thompson, M. S. A., Bankier, C., Bell, T., Dumbrell, A. J., Gray, C., Ledger, M. E., et al., 2016. Gene-to-ecosystem impacts of a catastrophic pesticide spill: testing a multilevel bioassessment approach in a river ecosystem. **Freshwater Biology.** 61, 2037–2050.

Wallace J. B., Whiles M. R., Eggert S., Cuffney T. F., Lugthart G. J., Chung K. 1995. Long term dynamics of coarse particulate organic matter in three Appalachian Mountain streams. **Journal of the North American Benthological Society.** 14: 217–3.2.

Lydy, M. J. 2010. Urban and agricultural sources of pyrethroid insecticides to the Sacramento-San Joaquin Delta of California. **Environmental science and technology.** 1;44(5):1833-40.

Williams, N., Sweetman, J. 2019. Distribution and Concentration of Neonicotinoid Insecticides on Waterfowl Production Areas in West Central Minnesota. **Wetlands.** 39, 311–319.

Zachary J. F. Nervous System, p.914-915. 2007. In: MCGAVIN M.D. E ZACHARY J.F. (Eds). Pathologic Basis of Veterinary Disease.

CAPÍTULO 1

Efeitos de inseticidas sobre grupos de insetos aquáticos não-alvo: uma revisão sistemática e meta-análise

Isadora Vasques da Luz & Luiz Ubiratan Hepp

RESUMO

O atual sistema de produção agrícola faz uso de produtos químicos estranhos as condições naturais, com a intenção de controlar plantas daninhas, desequilíbrio de insetos pragas e doenças. Porém, ao usar os agrotóxicos deve-se haver conhecimento dos possíveis danos ao meio ambiente, para ter uma utilização mais racional. A falta de conhecimento na utilização destes químicos, resulta na degradação lenta dos recursos naturais e morte de insetos não-alvo. Nesse estudo, realizamos uma revisão sistemática com posterior meta-análise para avaliar os efeitos dos inseticidas sobre espécies de insetos aquáticos não-alvo. Realizamos a pesquisa nas bases Web of Science e Scopus, sendo encontrados 681 artigos. Após a aplicação dos critérios de seleção, analisamos 44 artigos publicados entre os anos de 1970 e 2022. Observamos uma constância nas publicações sobre o tema ao longo dos anos, a partir de 2008 observamos um acréscimo na produção científica, sendo a maior quantidade de artigos publicados nos Estados Unidos da América (EUA).A maioria dos estudos traz como resposta alta mortalidade dos indivíduos através de testes agudos. Observamos uma lacuna no conhecimento sobre os efeitos de inseticidas sobre insetos não-alvo. Além disso, observamos uma alta taxa de mortalidade das espécies testadas frente a diferentes inseticidas. Através da metaanálise observamos um padrão claro de favorecimento da condição experimental (exposição do inseticida) em comparação ao tratamento controle (sem exposição ao inseticida) e uma heterogeneidade alta dos estudos.

Palavras-chave: Químicos; agrotóxicos; piretróides; insetos não-alvo; ecossistemas de água doce.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento tecnológico, apesar de causar benefícios, tem efeitos adversos ao meio ambiente, o atual sistema de produção agrícola faz uso de produtos químicos estranhos as condições naturais, na intenção de controlar plantas daninhas, desequilíbrio de insetos, doenças, etc. (Ruegg et al., 1991). No entanto, paralelamente à utilização dos agrotóxicos, deve haver conhecimento dos possíveis danos ao meio ambiente e ter uma utilização mais racional (Ruegg et al., 1991). A falta de informações precisas sobre a aplicação destes produtos predomina no meio rural, o que resulta na degradação dos recursos naturais: morte de animais silvestres; morte de insetos não-alvo; morte de peixes; contaminação dos alimentos e dos solos (Ruegg et al., 1991). No Brasil, a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde e a Secretaria de Defesa Vegetal do Ministério da Agricultura, regulamentam a distribuição dos inseticidas, perante a sua classificação toxicológica, dados de carência e residuais de cada produto.

Existem inúmeros inseticidas no mercado, caracterizados por diferentes aspectos químicos, os quais atuam de forma diferente sobre os organismos alvo. Dentre os inseticidas comercializados, os principais são os piretróides, organofosforados e os neonicotinóides, de modo geral, estes inseticidas atuam sobre o sistema bioquímico dos organismos, inibindo rotas metabólicas importantes, o que leva os animais a terem ruídos de desenvolvimento e situações de letalidade (Cavaliere et al., 1996; Weston e Lydy, 2010; Lu et al., 2015).

Nas últimas décadas, vários acidentes envolvendo inseticidas aconteceram em ambientes de água doce. Capel et al., (1988) descreveram um dos maiores acidentes da história, conhecido como o acidente da Sandoz em 1986, o qual resultou na entrada de pelo menos noventa produtos químicos diferentes no rio Reno, causando efeitos negativos a inúmeras espécies animais ao longo de centenas de quilômetros a jusante. A recolonização da população de enguias levou muito mais tempo que a dos Macroinvertebrados, possivelmente porque a comunidade bentônica já havia mostrado falta de sensibilidade, devido a contaminação crônica do rio (Güttinger e Stumm, 1992). Autores como Liess et al., (2019) denominam essa ameaça de pulsos repetidos em baixas concentrações de toxicidade de "paradoxo do efeito", o que causa a substituição de táxons sensíveis por táxons insensíveis (Liess et al., 2013). É de suma importância compreender os efeitos dos inseticidas, para que esses compostos

possam ser usados com segurança e eficácia em áreas adjacentes a ambientes aquáticos (Antwi e Reddy, 2015). Outro exemplo é o acidente no qual uma comunidade de macroinvertebrados foram expostos a um derramamento de cloripirifós em um rio, detectado durante um biomonitoramento de rotina (Thompson et al., 2016). O monitoramento foi mantido até dois meses após o evento e vários táxons mostraram fortes efeitos ao longo de 15km a jusante que incluíam declínio da biomassa e abundância do táxon *Gammarus pulex* (Boreham e Birch, 1987). Raven e George (1989), estudaram os efeitos ao longo de 18 km até dois anos depois e perceberam que o besouro (*Oulimnius tuberculatus*) e o efêmero *Caenis moes*ta não retornaram aos trechos mais a jusante durante esse período de estudos e explicaram isso pela ausência dos táxons em quase todos afluentes a montante, e uma baixa capacidade de migração (Knillmann et al., 2018; Orlinskiy et al., 2015; Liess e von der Ohe 2005 e Downson et al., 1996).

Neste estudo, realizamos uma revisão sistemática numa escala temporal dos últimos 32 anos sobre estudos publicados relacionando o uso de inseticidas em áreas adjacentes à ambientes aquáticos sobre insetos. Além disso, realizamos uma meta-análise considerando estudos que apresentaram efeitos de diferentes inseticidas sobre insetos aquáticos. Nossos objetivos foram: (i) avaliar o estado da arte sobre as relações entre uso de inseticidas e insetos aquáticos não-alvo, (ii) identificar focos de interesse científico sobre os efeitos de inseticidas em espécies não-alvo e (iii) avaliar, a partir de uma meta-análise, os efeitos dos inseticidas sobre a sobrevivência de insetos aquáticos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado uma pesquisa bibliográfica nas bases Web of Science (Clarivate Analytics) e Scopus (Elsevier). Buscamos as combinações dos termos nos títulos, resumos e palavras-chave dos artigos utilizando os seguintes termos e operadores: pyrethroid AND aquatic insects; organophosphate AND aquatic insects; biopesticide AND aquatic insects; biological pesticide AND aquatic insecs. Definimos como período de pesquisa, o intervalo entre os anos 1990 a julho de 2022. Nós acessamos estas CAPES" bases de dados а partir do uso do portal "Periódicos

(https://www.periodicos.capes.gov.br/) disponibilizado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

Obtivemos um total de 681 artigos nas duas bases (440 no Scopus e 241 no Web of Science). Para definição da listagem final de artigos que foram analisados, aplicamos os critérios para Revisões Sistemáticas e Meta-Análise propostos pelo Protocolo PRISMA (Moher et al., 2009). Dentre os critérios principais de seleção, observamos os artigos relacionados ao uso de inseticidas, com descrição clara sobre os efeitos em insetos não-alvo em ambientes aquáticos. Além disso, foram excluídos artigos duplicados e fora do tema da pesquisa. Consideramos todos os países, habitats aquáticos e grupos de inseticidas.

Após a aplicação dos critérios de exclusão, a listagem resultou em 44 artigos (Figura 1; Anexo 1). Analisamos individualmente cada publicação e extraímos, (1) ano da pesquisa, (2) assunto (inseticida utilizado), (3) abordagem de estudo, (4) efeitos agudos ou crônicos sob o inseto, (5) efeitos sobre as populações e comunidades, espécie, comportamento e funcionamento dos ecossistemas; (6) efeito direto sob o inseto (Sistema Nervoso, reprodução, morfologia, comportamento alimentar, mortalidade, comportamento e efeitos nos componentes fisiológicos); e (7) países dos autores e periódicos científicos onde os estudos foram publicados.

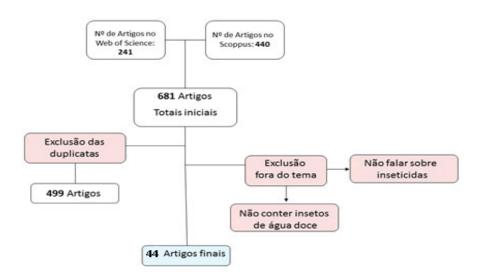


Figura 1. Organograma dos procedimentos de pesquisa e seleção dos artigos utilizados no estudo tendo como base os critérios do Protocolo PRISMA.

Avaliamos individualmente cada artigo selecionado e extraímos as seguintes informações: (1) ano da pesquisa, (2) inseticida utilizado, (3) abordagem de estudo, (4) efeitos agudos ou crônicos sob o inseto, (5) efeitos sobre as populações e comunidades, espécie, comportamento e funcionamento dos ecossistemas; (6) efeito direto sob o inseto (Sistema Nervoso, Reprodução, Morfologia, Comportamento Alimentar, Mortalidade, Comportamento e efeitos nos Componentes Fisiológicos); e (7) Países dos autores e periódicos científicos onde os estudos foram publicados.

A partir do total de publicações selecionadas, realizamos uma nova triagem para separar estudos com potencialidade de ser comparados em uma meta-análise. Para esta triagem, voltamos a avaliar individualmente cada publicação buscando informações referente às taxas de sobrevivência dos organismos teste (ou estudados) quando expostos a concentrações de inseticidas. Selecionamos estudos realizados em campo ou laboratório (em micro ou mesocosmos), com aplicação de concentrações conhecidas dos inseticidas e com informações sobre as taxas de sobrevivência dos organismos nos tratamentos controle e com adição de inseticida. Não discriminamos as espécies de insetos utilizadas e os tipos de inseticidas, devido ao amplo número de espécies utilizadas e ampla variedade de produtos químicos testados. Após esta triagem, construímos uma nova planilha de dados com nove artigos (20% do total).

A partir da seleção dos artigos, utilizamos as informações sobre a proporção de organismos sobreviventes aos testes no controle e nas manipulações (uso dos inseticidas). Utilizamos os dados de proporções, pois a maioria dos artigos selecionados (nove artigos) não apresentavam detalhes sobre o tamanho amostral utilizado nos experimentos. Diante disso, calculamos os valores de RR e Odds Ratio (OR) para os nove artigos, utilizando um modelo de análise aleatório devido à heterogeneidade metodológica dos estudos meta-analisados. Para realizar as comparações entre os dados, utilizamos o método Mantel-Haenszel. As análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2022) utilizando o pacote *meta* (Balduzzi et al., 2019).

RESULTADOS

Ao longo do período considerado neste estudo, observamos um padrão relativamente constante de publicações ao longo dos anos (Figura 2). A partir da

quantidade de publicações acumuladas, observamos um crescimento mais acelerado a partir de 2008 (Figura 2). Dentre os artigos analisados, 64% do total avaliaram os efeitos de piteróides sobre os insetos aquáticos, 18% dos artigos avaliaram os efeitos de organofosforados e 15% os efeitos de neonicotinóides. A maior quantidade de artigos publicados foi observada nos Estados Unidos, sendo que estes estudos focaram em compreender os efeitos de piretróides e organofosforados sobre insetos aquáticos.

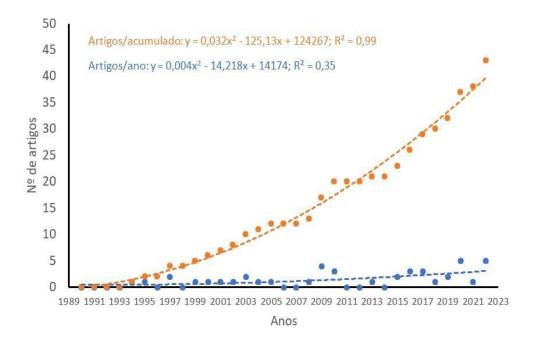


Figura 2. Número de artigos por ano (azul) e acumulado (laranja) durante o período de 1990 e 2022. Tendência dos dados: modelo polinomial.

Nas publicações avaliadas, observamos que os autores testaram inúmeros efeitos agudos e crônicos sobre várias condições nos organismos testados. Dentre as 44 publicações analisadas 71% avaliaram efeitos agudos sobre os organismos, enquanto 11% avaliaram efeitos crônicos e 18% avaliaram ambos os efeitos do inseticida sobre os organismos teste (Figura 3). Os estudos em laboratório foram realizados em maior número (80%), enquanto que estudos em condições de campo totalizaram apenas 9% (Figura 3). Estudo com ambas as abordagens (laboratório e campo) totalizaram 11% (Figura 3).

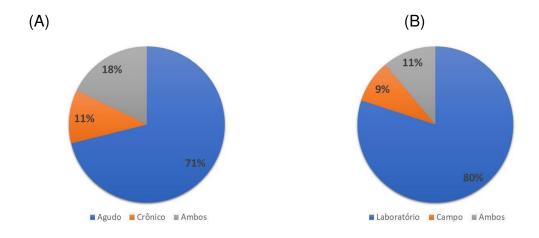


Figura 3. Percentual de estudos realizados com (A) abordagem aguda, crônica e em (B) laboratório e campo para avaliar os efeitos de inseticidas sobre insetos aquáticos.

O efeito dos inseticidas testados sobre a mortalidade dos insetos foi observado em 57% dos artigos avaliados (Figura 4). Considerando apenas os estudos que testaram os efeitos de piretróides, observamos respostas sobre a mortalidade dos organismos, alterações no comportamento alimentar, alterações em componentes fisiológicos (e.g. enzimas de estresse oxidativo), alterações na morfologia e no funcionamento do sistema nervoso. Nos estudos com organofosforados, observamos testes para avaliar os efeitos do inseticida sobre a mortalidade, comportamento alimentar e componentes fisiológicos. Os estudos que avaliaram os efeitos de outros grupos de inseticidas (e.g. Neonicotinóides, Carbamato, Fipronil, Rianóides e Piriproxifeno) testaram, especialmente os efeitos sobre a mortalidade dos organismos e alterações sobre componentes fisiológicos. Entre os estudos que avaliaram efeitos indiretos dos inseticidas sobre os insetos, observamos cerca de 15% do total de publicações analisadas, sendo o foco destes estudos, abordagens sobre comunidades de insetos aquáticos (efeitos sobre a abundância e riqueza de espécies) e funcionamento dos ecossistemas (alterações na estrutura trófica) (representando 15% cada).

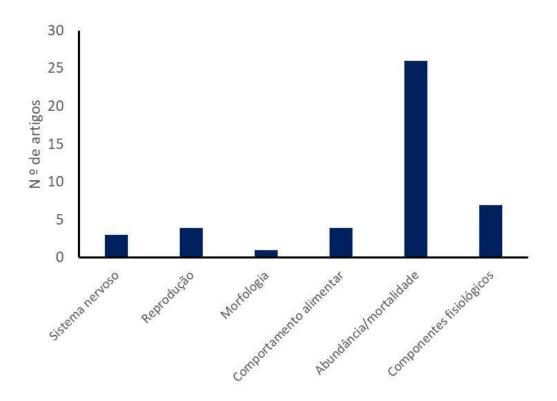


Figura 4. Quantidade de artigos publicados durante o período de 1990 a 2022 em que avaliaram diferentes respostas sobre os insetos aquáticos.

Dentre o total de estudos analisados, comparamos a partir de uma meta-análise os efeitos dos inseticidas sobre as taxas de sobrevivência dos insetos em nove artigos (20% do total) (Figura 5). Nestes estudos, observamos uma taxa de sobrevivência média de 86,1% (60-99) nos tratamentos controle e uma taxa média de 37,8% (5-75) no tratamento com exposição ao inseticida. Após a aplicação da meta-análise, observamos um padrão claro de favorecimento da condição experimental (exposição do inseticida) em comparação ao tratamento controle (sem exposição ao inseticida) ($z=-5,9,\,p<0,01;\,Figura\,5$). A heterogeneidade dos estudos, considerando suas abordagens metodológicas foi alta, justificando o uso do modelo aleatório. Os estudos meta-analisados possuem resultados significativos (Risk Ratio, RR < 1) quanto ao efeito da exposição aos inseticidas sobre a sobrevivência dos insetos estudados (Figura 5).

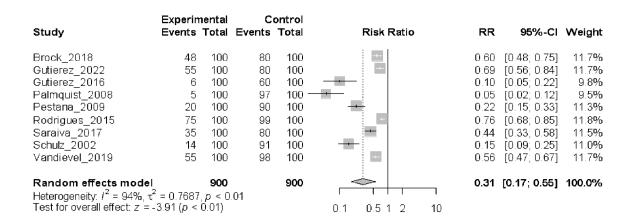


Figura 5. Gráfico Forest para representação dos resultados da meta-análise com artigos publicados durante o período de 1990 e 2022 sobre os efeitos de inseticidas nas taxas de sobrevivência de insetos aquáticos. No gráfico são informados os Índices de Heterogeneidade, Efeito geral, Risk Ratio (RR), Intervalo de Confiança (CI) para os eventos experimentais e controle.

DISCUSSÃO

Neste estudo realizamos uma revisão sistemática, seguida de uma metaanálise para avaliar o estado da arte referente ao conhecimento existente sobre os
efeitos de inseticidas sobre espécies não-alvo, mas especificamente sobre insetos
aquáticos. Durante o período de pesquisa (1990-2022) encontramos 44 artigos, os
quais foram publicados de maneira similar ao longo do tempo, sendo que foi possível
observar um acréscimo a partir de 2008, considerando o número de publicações
acumuladas. Os inseticidas mais utilizados nestes estudos foram os piretróides e
organofosforados. Acreditamos que esses inseticidas são os mais usados por sua
meia-vida ser mais elevada em comparação aos demais, resultando em baixas
concentrações de aplicação para se obter a eliminação dos organismos praga (EFSA,
2006).

A busca inicial, a partir do uso dos termos selecionados, resultou em 681 artigos, porém, consideramos apenas 44 artigos para a realização deste estudo (6,6%). A quantidade baixa de publicações sobre os efeitos de inseticidas sobre organismos não-alvo é expressiva, considerando o potencial nocivo desses produtos químicos. Além disso, o baixo número de publicações sobre o tema, reflete o

desconhecimento que temos sobre os efeitos negativos do uso dos inseticidas sobre os ambientes adjacentes às áreas de aplicação dos mesmos.

Observamos maior quantidade de estudos que avaliaram os efeitos dos inseticidas do tipo Piteróides. Esses inseticidas têm sido os mais usados no mundo desde os anos 1990, principalmente nos Estados Unidos. Os piretróides são inseticidas que possuem alta atividade biológica e baixas taxas de aplicação de dose, e são caracterizados por possuir baixa biodisponibilidade em ambientes naturais devido a sua baixa solubilidade e forte propriedade de absorção (Davies, 1985). Essa classe de inseticidas atua mantendo os canais de sódio das membranas dos neurônios abertos, com isso, afetam o sistema nervoso periférico e central do inseto, estimulando as células nervosas a produzir descargas repetitivas, o que eventualmente causa paralisia no inseto. Existe dois tipos de piretróides o tipo 1 que tem um coeficiente de temperatura negativo e os do tipo 2 que apresentam coeficiente de temperatura positivo. Logo, a mortalidade dos insetos que são expostos a esse químico varia diretamente com o aumento de temperatura (Braga, I.A., Valle, D. et al., 2007). Isso explica a maior quantidade de estudos realizados em laboratório, observando efeitos agudos, os quais resultaram em alta mortalidade dos organismos testados.

A realização da meta-análise demonstrou outro aspecto importante dentre os artigos avaliados neste estudo: a heterogeinidade metodológica. Mesmo quando comparamos os estudos realizados em laboratório, não há um padrão metodológico similar entre eles. Observamos que não há um número específico para definir o tamanho amostral, sendo este definido, muitas vezes, pelo sucesso de coleta dos organismos ou pela taxa de sobrevivência dos organismos durante o período préexperimental. Desta forma, considerando nossa proposta de meta-analisar os dados dos artigos, para obtenção de um padrão mais global sobre os efeitos dos inseticidas sobre os insetos aquáticos, foi dificultado por esta divergência entre as metodologias utilizadas. Esta heterogeinidade dos estudos foi corroborada pelos nossos resultados (I² = 90%), onde valores de I² > 50% indicam alta heterogeinidade nos artigos avaliados. Independente disso, a meta-análise demonstrou que os inseticidas causam efeitos significativos sobre a sobrevivência dos insetos aquáticos.

As taxas de sobrevivência dos insetos aquáticos expostos aos inseticidas foram, em média, 2,3 vezes menores que as taxas do tratamento controle. A amplitude observada nos dados pode ter ocorrido por dois aspectos fundamentais: (i)

variabilidade metodológica e (ii) variação entre os produtos testados e as espécies utilizadas. De modo geral, considerando os dois aspectos citados, a variação dos resultados de taxas de sobrevivência era esperada. Por outro lado, a opção por um modelo de meta-análise aleatório auxiliou na comparação destes resultados, o que foi corroborado pelo resultado da meta-analise.

A metodologia observada nos estudos variou entre espécies-teste e produto testado (como comentado anteriormente). No entanto, as metodologias dos estudos avaliados mostraram particularidades entre a concentração testada (variação de concentrações subletais a letais), o tempo de exposição (1h a 72h de exposição) (Harwood et al., 2014; Gutierrez et al., 2016; Saraiva et al., 2017). As espécies mais utilizadas nos estudos são da ordem Ephemeroptera (e.g. Caenis, Baetidae), no entanto há registro de uso de Trichoptera (e.g. Sericostoma), Diptera (e.g. Chironomus) e Odonata (e.g. Lestes) (Beketov, 2004; Palmquist et al., 2008; Gutierrez et al., 2016; Brock et a., 2018). Em estudos que avaliam os efeitos de produtos químicos (e.g. agrotóxicos, metais pesados, etc.) sobre insetos aquáticos, em laboratório ou campo, é muito comum o uso de espécies de Ephemeroptera (Palmquist et al., 2008), de Trichoptera (Beketov, 2004) e mais amplamente de gêneros de Chironomidae (Brock et al., 2018). Os autores citam, entre outras justificativas pelo uso desses organismos, que esses grupos possuem importante papel ambiental, seja pela sua participação em processos ecológicos ou seja pela sua tolerância à poluição.

Considerações Finais

De modo geral, nossa revisão sistemática e a meta-análise demonstrou que há uma grande lacuna no conhecimento acerca dos efeitos de inseticidas em espécies não-alvo, sobretudo sobre insetos aquáticos. Observamos que há uma variedade de abordagens metodológicas que poderiam ser padronizadas, no entanto, entendemos que a ampla variedade de inseticidas no mercado, com várias características químicas, dificulta o estabelecimento de um protocolo padrão. Ainda, observamos claramente, a partir da meta-análise, que os inseticidas, independente das características químicas e abordagens metodológicas, reduzem significativamente as taxas de sobrevivência de inúmeras espécies de insetos aquáticos que não são alvo do produto utilizado.

Referências

Antwi F. B., Reddy G. V. P. 2015. Toxicological effects of pyrethroids on non-target aquatic insects. **Environmental Toxicology and Pharmacology.** 40:915-923. Balduzzi S., Rücker G., Schwarzer G. 2019. How to perform a meta-analysis with R: a practical tutorial. **Evidence-Based Mental Health**. 40(3):915-23. Beketov, M. A. 2004. Comparative Sensitivity to the Insecticides Deltamethrin and Esfenvalerate of Some Aquatic Insect Larvae (Ephemeroptera and Odonata) and Daphnia magna. **Russian Journal of Ecology.** 35(3), 200–204.

Braga, I. A., VALLE, D. 2007. Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde.** Boreham, S., Birch, P. 1987. The use of indicator organisms to assess aquatic pollution following a motorway insecticide spill. **Science of The Total Environment.** 59, 477–480.

Brock, T. C. M., Belgers, J. D. M., Boerwinkel, M. C., Jollie, L., Kraak, M. H. S., Papo, M. J., Roessink, I. 2018. Toxicity of sediment-bound lufenuron to benthic arthropods in laboratory bioassays. **Aquatic Toxicology.** 198, 118–128.

Capel, P., Giger, W., Reichert, P., 1988. Accidental input of pesticides into the Rhine river. **Environmental Science and Technology.** 22, 992–996. Cavaliere, M. J., Calore, E. E., Perez, N. M., E Rodrigues Puga, F. 1996. Miotoxicidade por organofosforados. **Revista de Saúde Pública.** 30(3), 267–272.

Dowson, P., Scrimshaw, M., Nasir, J., Bubb, J., Lester, J. 1996. The environmental impact of a chemical spill from a timber-treatment works on a Lowland River system.

Water and Environment Journal. 10. 235–244.

Efsa. European Food Safety Authority. 2006. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance diazinon. **Summary of the EFSA Scientific Report**. 85(1–73). p. 1–4.

Gutiérrez, Y., Tomé, H. V. V., Guedes, R. N. C., E Oliveira, E. E. 2016. Deltamethrin toxicity and impaired swimming behavior of two backswimmer species. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 36(5), 1235–1242.

Gutiérrez Y., Santos H. P., Serrão J. E., Oliveira E. E. 2016. Deltamethrin-Mediated Toxicity and Cytomorphological Changes in the Midgut and Nervous System of the Mayfly Callibaetis radiatus. **PLOS ONE.** 11(3): e0152383.

Güttinger, H., Stumm, W. 1992. Ecotoxicology an analysis of the Rhine pollution caused by the Sandoz chemical accident, 1986. **Interdisciplinary Science Reviews.** 17, 127–136.

Liess, M., Foit, K., Becker, A., Hassold, E., Dolciotti, I., Kattwinkel, M., et al., 2013. Culmination of low-dose pesticide effects. **Environmental Science & Technology.** 47, 8862–8868.

Liess, M., Ratte, T., Ebke, P., Hollert, H., 2019. 20 Years SETAC GLB: Increasing Realism of Pesticide Risk Assessment. **Environmental Sciences Europe.** 31, 13. Liess, M., Von der Ohe, P.C. 2005. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 24, 954–965. Lu, Z., Challis, J. K., Wong, C. S. 2015. Quantum yields for direct photolysis of neonicotinoid insecticides in water: implications for exposure to nontarget aquatic organisms. **Environmental Science and Technology Letters.** 2(7), 188e192. Knillmann, S., Orlinskiy, P., Kaske, O., Foit, K., Liess, M. 2018. Indication of pesticide effects and recolonization in streams. **Science of The Total Environment.** 630, 1619–1627.

Mendonça, P. C. 2002. Caracterização e sequenciamento dos plasmídeos pMC1 e pMC2 de Bacillus thuringiensis var. thuringiensis isolado T01 328. 53 f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia/Genética Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Moher D., Liberati A., Tetzlaff J., Altman D. G. 2009. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA Statement. **THE BMJ.** 2021;372:71.

Orlinskiy, P., Münze, R., Beketov, M., Gunold, R., Paschke, A., Knillmann, S., et al., 2015. Forested headwaters mitigate pesticide effects on macroinvertebrate communities in streams: mechanisms and quantification. **Science of The Total Environment.** 524, 115–123.

Palmquist, K. R., Jenkins, J. J., E Jepson, P. C. 2008. Effects of dietary esfenvalerate exposures on three aquatic insect species representing different functional feeding groups. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 27(8), 1721.

Raven, P., George, J. 1989. Recovery by riffle macroinvertebrates in a river after a major accidental spillage of chlorpyrifos. **Environmental Pollution.** 59, 55–70. Ruegg, E. F., Puga, F. R., Souza, M. C. M., Ungaro, M. T. S., Ferreira, M. S., Yokomizo, Y. et al. 1991. **Impacto dos agrotóxicos sobre o ambiente, a saúde e a sociedade**. 2. ed. São Paulo: Editora Cone. (Coleção Brasil Agrícola). Saraiva, A. S., Sarmento, R. A., Rodrigues, A. C. M., Campos, D., Fedorova, G., Žlábek, V., Soares, A. M. V. M. 2017. Assessment of thiamethoxam toxicity to Chironomus riparius. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** 137, 240–246. Thompson, M. S. A., Bankier, C., Bell, T., Dumbrell, A. J., Gray, C., Ledger, M. E., et al., 2016. Gene-to-ecosystem impacts of a catastrophic pesticide spill: testing a multilevel bioassessment approach in a river ecosystem. **Freshwater Biology.** 61, 2037–2050.

Weston, D. P., Lydy, M. J. 2010. Urban and agricultural sources of pyrethroid insecticides to the Sacramento-San Joaquin Delta of California. **Environmental Science and Technology.** 1;44(5):1833-40.

CONCLUSÃO GERAL

Nesta dissertação foi realizada uma revisão sistemática e uma meta-análise para identificar o atual estado do conhecimento acerca do uso e efeitos de inseticidas sobre insetos aquáticos (grupos não-alvo). Observamos que houve um acumulado de estudos sobre os inseticidas ao longo dos anos, e que o inseticida mais utilizado tem sido o do tipo Piretróide. Este inseticida possui alta atividade biológica e baixas taxas de aplicação de dose, e, alinhado a isso, houve um crescente na preocupação do uso indiscriminado dos inseticidas, os trabalhos buscam trazer informações sobre como o ecossistema pode ser afetado quando mal utilizados.

Acreditamos que possíveis trabalhos a serem realizados seriam com insetos não-alvo dos inseticidas, pois há uma grande linha na qual abrange insetos-alvo, como moscas e mosquitos; pragas em geral, outros artrópodes e peixes. Visto que mariscos e peixes são alimentos, e moscas e mosquitos são pragas, faz sentido a grande área de estudo sob os mesmos, entretanto, sabemos que insetos como fragmentadores são importantes na ciclagem de nitrogênio, pois fazem parte da decomposição foliar, o que é de extrema importância para o ecossistema.

ANEXOS

Relação de artigos avaliados na revisão sistemática e meta-análise.

Antwi, F. B., E Reddy, G. V. P. 2015. Toxicological effects of pyrethroids on non-target aquatic insects. **Environmental Toxicology and Pharmacology.** 40(3), 915–923.

Breneman, D. H., E Pontasch, K. W. 1994. Stream microcosm toxicity tests: Predicting the effects of fenvalerate on riffle insect communities. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 13(3), 381–387.

Beketov, M. A. 2004. Comparative Sensitivity to the Insecticides Deltamethrin and Esfenvalerate of Some Aquatic Insect Larvae (Ephemeroptera and Odonata) and Daphnia magna. **Russian Journal of Ecology.** 35(3), 200–204.

Bakonyi, G., Vásárhelyi, T. E Szabó, B. 2022. Pollution impacts on water bugs (Nepomorpha, Gerromorpha): state of the art and their biomonitoring potential. **Environmental Monitoring and Assessment.** 194, 301.

Bray, J., Miranda, A., Keely-Smith, A., Kaserzon, S., Elisei, G., Chou, A., Kefford, B. J. 2021. Sub-organism (acetylcholinesterase activity), population (survival) and chemical concentration responses reinforce mechanisms of antagonism associated with malathion toxicity. **Science of The Total Environment.** 15;778:146087.

Brock, T. C. M., Belgers, J. D. M., Boerwinkel, M.-C., Jollie, L., Kraak, M. H. S., Papo, M. J., ... Roessink, I. 2018. Toxicity of sediment-bound lufenuron to benthic arthropods in laboratory bioassays. **Aquatic Toxicology.** 198, 118–128.

Chaton, P. F., Ravanel, P., Tissut, M., E Meyran, J. C. 2002. Toxicity and Bioaccumulation of Fipronil in the Nontarget Arthropodan Fauna Associated with Subalpine Mosquito Breeding Sites. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** 52(1), 8–12.

Crosa, G., Yaméogo, L., Calamari, D., Diop, M., Nabé, K., E Kondé, F. 2001. Analysis of the effects of rotational larviciding on aquatic fauna of two Guinean rivers: the case of permethrin. **Chemosphere.** 44(3), 501–510.

Domingues, I., Agra, A. R., Monaghan, K., Soares, A. M. V. M., E Nogueira, A. J. A. 2010. Cholinesterase and glutathione-S-transferase activities in freshwater invertebrates as biomarkers to assess pesticide contamination. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 29(1), 5–18.

Gutiérrez, Y., Tomé, H. V. V., Guedes, R. N. C., E Oliveira, E. E. 2016. Deltamethrin toxicity and impaired swimming behavior of two backswimmer species. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 36(5), 1235–1242.

Gutiérrez Y, Santos HP, Serrão J. E., Oliveira E. E. 2016. Deltamethrin-Mediated Toxicity and Cytomorphological Changes in the Midgut and Nervous System of the Mayfly Callibaetis radiatus. **PLOS ONE.** 11(3): e0152383.

Harwood, A. D., Rothert, A. K., E Lydy, M. J. 2014. Using Hexageniain sediment bioassays: Methods, applicability, and relative sensitivity. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 33(4), 868–874.

Katagi, T., E Tanaka, H. 2016. Metabolism, bioaccumulation, and toxicity of pesticides in aquatic insect larvae. **Journal of Pesticide Science.** 41(2), 25–37.

Liess, M., Liebmann, L., Vormeier, P., Weisner, O., Altenburger, R., Borchardt, D., Reemtsma, T. 2021. Pesticides are the dominant stressors for vulnerable insects in lowland streams. **Water Research.** 201, 117262.

Maund, S., Biggs, J., Williams, P., Whitfield, M., Sherratt, T., Powley, W., Shillabeer, N. 2009. The influence of simulated immigration and chemical persistence on recovery of macroinvertebrates from cypermethrin and 3,4-dichloroaniline exposure in aquatic microcosms. **Pest Management Science.** 65(6), 678–687.

Michael C. Cavallaro, Anson R. Main, Karsten Liber, Iain D. Phillips, John V. Headley, Kerry M. Peru, Christy A. Morrissey. 2019. Neonicotinoids and other agricultural stressors collectively modify aquatic insect communities. **Chemosphere.** 226:945-955.

Milton L. Montaño-Campaz, Lucimar G. Dias, Tito Bacca, Beatriz Toro-Restrepo, Eugênio E. Oliveira. 2022. Exposures to deltamethrin on immature Chironomus columbiensis drive sublethal and transgenerational effects on their reproduction and wing morphology. **Chemosphere.** 296:134042.

Monteiro, H. R., Pestana, J. L. T., Novais, S. C., Leston, S., Ramos, F., Soares, A. M. V. M., Lemos, M. F. L. 2019. Assessment of fipronil toxicity to the freshwater midge Chironomus riparius: molecular, biochemical, and organismal responses. **Aquatic Toxicology.** 216:105292.

Nakanishi, K., Yokomizo, H., E Hayashi, T. I. 2018. Were the sharp declines of dragonfly populations in the 1990s in Japan caused by fipronil and imidacloprid? An analysis of Hill's causality for the case of Sympetrum frequens. **Environmental Science and Pollution Research.** 25(35), 35352–35364.

Pablo, F., Krassoi, F. R., Jones, P. R. F., Colville, A. E., Hose, G. C., & Lim, R. P. 2008. Comparison of the fate and toxicity of chlorpyrifos—Laboratory versus a coastal mesocosm system. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** 71(1), 219–229.

Palmquist, K. R., Jenkins, J. J., E Jepson, P. C. 2008. Clutch morphology and the timing of exposure impact the susceptibility of aquatic insect eggs to esfenvalerate. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 27(8):1713-20.

Palmquist, K. R., Jenkins, J. J., E Jepson, P. C. 2008. Effects of dietary esfenvalerate exposures on three aquatic insect species representing different functional feeding groups. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 27(8):1721-7.

Pestana, J. L. T., Loureiro, S., Baird, D. J., E Soares, A. M. V. M. 2009. Fear and loathing in the benthos: Responses of aquatic insect larvae to the pesticide imidacloprid in the presence of chemical signals of predation risk. **Aquatic Toxicology.** 93(2-3), 138–149.

Pisa, L. W., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Downs, C. A., Goulson, D., Wiemers, M. 2014. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science and Pollution Research.** 22(1), 68–102.

Rahman, M. S., Sumon, K. A., Uddin, M. J., E Shahjahan, M. 2020. Toxic effects of fenitrothion on freshwater microcosms in Bangladesh. **Toxicology Reports.** 7, 1622–1628.

Reiber, L., Knillmann, S., Kaske, O., Atencio, L. C., Bittner, L., Albrecht, J. E., Liess, M. 2021. Long-term effects of a catastrophic insecticide spill on stream invertebrates. **Science of The Total Environment.** 10;768:144456.

Rodrigues, A. C. M., Gravato, C., Quintaneiro, C., Golovko, O., Žlábek, V., Barata, C., Pestana, J. L. T. 2015. Life history and biochemical effects of chlorantraniliprole on Chironomus riparius. **Science of The Total Environment.** 508, 506–513.

Rogers, H. A., Schmidt, T. S., Dabney, B. L., Hladik, M. L., Mahler, B. J., E Van Metre, P. C. 2016. Bifenthrin Causes Trophic Cascade and Altered Insect Emergence in Mesocosms: Implications for Small Streams. **Environmental Science & Technology.** 50(21), 11974–11983.

Saha, S., E Kaviraj, A. 2007. Acute Toxicity of Synthetic Pyrethroid Cypermethrin to Some Freshwater Organisms. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.** 80(1), 49–52.

Saraiva, A. S., Sarmento, R. A., Rodrigues, A. C. M., Campos, D., Fedorova, G., Žlábek, V., ... Soares, A. M. V. M. 2017. Assessment of thiamethoxam toxicity to Chironomus riparius. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** 137, 240–246.

Schroer, A. F. W., Belgers, J. D. M., Brock, C. M., Matser, A. M., Maund, S. J., E Van den Brink, P. J. 2004. Comparison of Laboratory Single Species and Field Population-Level Effects of the Pyrethroid Insecticide λ-Cyhalothrin on Freshwater Invertebrates. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology.** 46(3), 324–335.

Schulz, R., E Liess, M. 1999. A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. **Aquatic Toxicology.** 46(3-4), 155–176.

Schulz, R., E Liess, M. 2000. Toxicity of fenvalerate to caddisfly larvae: chronic effects of 1- vs 10-h pulse-exposure with constant doses. **Chemosphere.** 41(10), 1511–1517.

Schulz, R., Thiere, G., E Dabrowski, J. M. 2002. A combined microcosm and field approach to evaluate the aquatic toxicity of azinphosmethyl to stream communities. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 21(10), 2172–2178.

Siegfried, B. D. 1993. Comparative toxicity of pyrethroid insecticides to terrestrial and aquatic insects. **Environmental Toxicology and Chemistry.** 12(9), 1683–1689.

Tang, J. X., E Siegfried, B. D. 1996. Bioconcentration and Uptake of a Pyrethroid and Organophosphate Insecticide by Selected Aquatic Insects. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.** 57(6), 993–998.

Tassou, K. T., E Schulz, R. 2012. Combined effects of temperature and pyriproxyfen stress in a full life-cycle test with Chironomus riparius (Insecta). **Environmental Toxicology and Chemistry.** 31(10), 2384–2390.

Touaylia, S., Ali, M., Abdellhafidh, K., E Bejaoui, M. 2019. Permethrin induced oxidative stress and neurotoxicity on the freshwater beetle Laccophilus minutus. Chemistry and Ecology. 1–13.

Van Dievel, M., Janssens, L., E Stoks, R. 2019. Additive bioenergetic responses to a pesticide and predation risk in an aquatic insect. **Aquatic Toxicology.** 212:205-213. Van Wijngaarden, R. P. A., Barber, I., E Brock, T. C. M. 2008. Effects of the pyrethroid insecticide gamma-cyhalothrin on aquatic invertebrates in laboratory and outdoor microcosm tests. **Ecotoxicology.** 18(2), 211–224.

Varg, J. E., Kunce, W., Outomuro, D., Svanbäck, R., E Johansson, F. 2021. Single and combined effects of microplastics, pyrethroid and food resources on the life-history traits and microbiome of Chironomus riparius. **Environmental Pollution.** 15;289:117848.

Werner, I., E Moran, K. 2008. Effects of Pyrethroid Insecticides on Aquatic Organisms. **Synthetic Pyrethroids.** 991:310-334.

Woin, P. 1998. Short- and Long-Term Effects of the Pyrethroid Insecticide Fenvalerate on an Invertebrate Pond Community. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** 41(2), 137–146.

Yokoyama, A. 2019. Assessing Impacts of Insecticides on Different Embryonic Stages of the Non-target Aquatic Insect Cheumatopsyche brevilineata (Trichoptera: Hydropsychidae). **Environmental Toxicology and Chemistry.** 38 (7).