

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

ADRIANA BARBOSA DOS SANTOS

**CONTROLE DO ESCORPIÃO *Tityus stigmurus* (Thorell 1876) (SCORPIONES:
BUTHIDAE): REAÇÕES A LOCAIS TRATADOS COM INSETICIDA**

Recife

2017

ADRIANA BARBOSA DOS SANTOS

**CONTROLE DO ESCORPIÃO *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (SCORPIONES:
BUTHIDAE): REAÇÕES A LOCAIS TRATADOS COM INSETICIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração Biologia Animal, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Animal.

Orientador (a) – Dra. Cleide Maria Ribeiro de Albuquerque

Área de concentração – Biologia animal

Recife
2017

Catálogo na fonte

Bibliotecária Elaine Barroso, CRB-1728

Santos, Adriana Barbosa dos

Controle do escorpião *Tityus stigmurus* (Thorell 1876) (Scorpiones: Buthidae): reações a locais tratados com inseticida / Adriana Barbosa dos Santos. - 2017.

77 folhas: il, fig., tab.

Orientadora: Cleide Maria Ribeiro de Albuquerque

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Recife, 2017.

Inclui referências e anexos.

1. Escorpião 2. Inseticidas 3. Intoxicação I. Albuquerque, Cleide Maria Ribeiro de (orient.) II. Título

595.46

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017- 581

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

ADRIANA BARBOSA DOS SANTOS

**CONTROLE DO ESCORPIÃO *TITYUS STIGMURUS* (THORELL,
1876) (SCORPIONES: BUTHIDAE): REAÇÕES A LOCAIS TRATADOS COM
INSETICIDA**

Aprovada em: 31/07/2017

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração Biologia Animal, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Animal.

Orientador (a) – Dra. Cleide Maria Ribeiro de Albuquerque

Área de concentração – Biologia Animal

COMISSÃO EXAMINADORA

Titulares

Dra. Luciana Iannuzzi
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Artur Campos Dália Maia
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Roberta Jeane Bezerra Jorge
Universidade Federal de Pernambuco /CAV

AGRADECIMENTOS

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro recebido durante todo o projeto.

A Universidade Federal de Pernambuco e ao Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, pelos conhecimentos proporcionados.

A minha orientadora, Profa. Cleide Ribeiro por me dar esta oportunidade, pela sua dedicação, paciência e disponibilidade em me orientar.

A toda equipe do LIT (Laboratório de Invertebrados Terrestre), que é na verdade uma grande família (André, Laís, Gabi, Hugo, Jonathas e Welton), e também aos novos integrantes dessa família (Hugo 2, Kamila e Victória). Tenho um carinho imenso por todos, mas em especial por André Lira por sempre me ouvir mesmo me chamando de “dramática”, Laís por me ajudar sempre que precisei e também por nossas boas conversas, a Welton por me ajudar com os dados e também por me proporcionar participar de seus campos inesquecíveis.

Agradeço ao coveiro Nilton e seu Avô Miro do cemitério São Sebastião em Vitória de Santo Antão, por terem me ajudado a conseguir animais para as amostras desse trabalho, sem as suas colaborações teria sido muito difícil obter animais e realizar todos os experimentos.

Ao professor Dr. René Duarte e MS. Nathalia Alves, pois foi através de deles que tudo começou. A todos minha eterna gratidão.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todo mundo vê.”

(SCHOPENHAUER, A. 1813 p. 25)

RESUMO

O registro de acidentes causados por escorpiões tem aumentado anualmente no Brasil, sendo grande parte destes de ocorrência para o estado de Pernambuco. O controle químico se constitui no principal meio de combate a esses aracnídeos, embora a eficiência desse método não esteja efetivamente comprovada. Nesse trabalho, avaliou-se o efeito da exposição de *Tityus stigmurus* a ambientes tratados com piretróide a base de Bifentrina (BIFENTOL 200 SC®), um dos produtos usados no combate a escorpiões na Região Metropolitana de Recife. Foram avaliados aspectos relacionados à seleção de refúgio, taxa de mortalidade, resposta comportamental de toxicidade e dispersão, comparando-se as reações entre jovens e adultos. Além disso, após os tratamentos investigou-se a manutenção da eficácia com avaliações aos sete e 15 dias de tratamento. Os animais foram liberados no centro de uma arena cilíndrica de tamanho (62cm/30cm), contendo abrigos pulverizados com inseticida diluído de acordo com a recomendação do fabricante (4ml/L, 0,06 % de ingrediente ativo) e tratados apenas com água, solvente da diluição do produto. Os jovens foram mais sensíveis ao inseticida, apresentando maior rejeição a permanência em locais tratados (70%) e maior taxa de mortalidade (57%), quando comparados aos adultos (36% e 43%, respectivamente) após 24h do tratamento. As reações comportamentais seguidas ao contato com o inseticida foram caracterizadas como pré-intoxicação (limpeza dos pedipalpos, elevação das pernas), intoxicação (espasmos, perda dos movimentos, decúbito dorsal) e reversão (volta aos hábitos normais). Animais não expostos ao inseticida, durante o experimento, permaneceram em posição de descanso, se mantendo imóveis com pedipalpos e pernas retraídos. Essas reações foram observadas em animais expostos a superfícies tratadas até sete dias. Não houve registros de fuga quando o local foi pulverizado após a instalação do animal no abrigo. As baixas taxas de mortalidade e de aceitação de locais tratados como abrigo além da reversão dos sintomas de toxicidade sugerem que o BIFENTOL tem baixa efetividade no controle de *T. stigmurus*.

Palavras-chave: Arachnida. Comportamento. Intoxicação. Piretróide.

ABSTRACT

The record of accidents caused by scorpions has increased annually in Brazil, with a large part of them occurring in the state of Pernambuco. Chemical control is the main means of fighting these arachnids, although the effectiveness of this method is not effectively proven. In this work, the effect of exposure of *Tityus stigmurus* to environments treated with Bifenthrin-based pyrethroid (BIFENTOL 200 SC®), one of the products used to combat scorpions in the Metropolitan Region of Recife, was evaluated. Aspects related to refuge selection, mortality rate, behavioral toxicity and dispersal response were evaluated, comparing the reactions juvenils and adults. In addition, after the treatments, maintenance of efficacy with evaluations at 7 and 15 days of treatment was investigated. The animals were released in the center of a cylindrical arena of size (62cm / 30cm) containing shelters sprayed with insecticide diluted according to the manufacturer's recommendation (4ml / L, 0.06% active ingredient) and treated with water only, product dilution solvent. Juvenils were more sensitive to insecticide, with a higher rejection of stay in treated sites (70%) and higher mortality rate (57%), when compared to adults (36% and 43%, respectively) after 24 hours of treatment. Behavioral reactions following contact with the insecticide were characterized as pre-intoxication (cleansing pedipalpos, elevation of legs), intoxication (spasms, loss of movement, dorsal decubitus) and reversion (return to normal habits). Animals not exposed to the insecticide, during the experiment, remained in a resting position, remaining immobile with pedipalpos and retracted legs. These reactions were observed in animals exposed to surfaces treated for up to seven days. There were no records of leakage when the site was sprayed after the animal was installed in the shelter. Low mortality rates and acceptance of shelter-treated sites beyond the reversal of toxicity symptoms suggest that BIFENTOL has low effectiveness in controlling *T. stigmurus*

Keywords: Arachnida. Behavior. Intoxication. Pyrethroid.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TÉORICO

FIGURA 1- Principais características morfológicas de *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876). (A) mancha escura em forma de triângulo no prossoma; (B) uma faixa negra longitudinal no dorso (setas)..... 14

FIGURA 2- Fêmea de *Tityus. Stigmurus* com filhotes no dorso 15

ARTIGO 1

FIGURA1- Desenho esquemático representativo da arena usada nos testes experimentais, mostrando a localização da câmara de aclimação dos animais (centro) e os substratos tratados com inseticida (A) e sem tratamento (B)..... 29

FIGURA 2- Reconhecimento e evasão de locais tratados com o inseticida BIFENTOL 200 SC®, pelo escorpião *Tityus stigmurus*. Reconhecimento foi considerado como o percentual de animais que se direcionam para área tratada até 60 min após a liberação no centro da arena. Evasão refere-se a não permanência no local com inseticida (em observação de 24h)..... 31

FIGURA 3- Padrões comportamentais de Pré-intoxicação, intoxicação e reversão observados em *Tityus stigmurus* após exposição a superfícies pulverizados com inseticida Bifentol 200 SC® seguindo as instruções do fabricante. A – Elevação das pernas evitando contato com a superfície tratada; B- limpeza de pinças e quelíceras; C- Parado com o corpo em posição de descanso; D- Decúbito ventral e E- Animal segurando a presa com as pinças para alimentação..... 33

FIGURA 4- Fluxograma apresentando a sequência de comportamentos em jovens e adultos de *Tityus stigmurus*, durante as fases de pré intoxicação, intoxicação e reversão após exposição a superfície pulverizada com o piretróide BIFENTOL 200 SC® . (A) = adulto, (J)=jovem..... 37

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

TABELA 1 - Padrão comportamental do escorpião <i>Tityus stigmurus</i> exposto a superfícies tratadas com o piretróide Bifentol 200 SC® em laboratório, indicando as fases (caixa alta), categoria (itálico e negrito) e atos (romana).....	33
--	----

ARTIGO 2

TABELA 1- Reação de <i>Tityus stigmurus</i> exposto ao inseticida piretróide Bifentol. Dados apresentados em termos percentuais.....	53
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
2.1 O escorpião <i>Tityus stigmurus</i> (Thorell, 1876).....	13
2.2 Controle químico.....	16
2.3 Comportamento de intoxicação em escorpiões.....	18
3 OBJETIVO.....	22
3.1 Geral.....	22
3.2 Específicos.....	22
4 ARTIGO 1 Alterações comportamentais do escorpião <i>Tityus stigmurus</i> (Thorell, 1876) (SCORPIONES: BUTHIDAE) expostos a inseticida piretróide.....	23
5 ARTIGO 2 Shot Communication- Letalidade ou dispersão - como reage o escorpião urbano <i>Tityus stigmurus</i> (Scorpiones: Buthidae) a locais pulverizados com Bifentrina.....	47
6 CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS	57
ANEXO A Normas da revista Ethology para a submissão do artigo 1. Alterações comportamentais do escorpião <i>Tityus stigmurus</i> (Thorell, 1876) (SCORPIONES: BUTHIDAE) expostos a inseticida piretróide.....	62
ANEXO B Normas da revista acta ethológica para a submissão do Shot Communication- Letalidade ou dispersão - como reage o escorpião urbano <i>Tityus stigmurus</i> (Scorpiones: Buthidae) a locais pulverizados com Bifentrina.....	69

1 INTRODUÇÃO

Tityus stigmurus é uma espécie de caráter sinantrópico, que pode ser encontrada vivendo junto a entulhos em quintais e jardins. Esta espécie está distribuída por vários estados do Nordeste do Brasil, podendo também ser encontrada na região Sudeste no estado de Minas Gerais. É sempre referida como o principal agente etiológico dos acidentes escorpiônicos na região Nordeste, sendo notificados no ano de 2015, 22.336 acidentes, sendo destes, 4.805 para o estado de Pernambuco. O elevado número de acidentes com escorpiões requer medidas que tentem controlar as infestações, particularmente em ambientes domiciliares. Atualmente, o controle químico, que envolve a aplicação de inseticida no ambiente tem sido a principal medida de combate a esses artrópodes, embora seja questionada devido à falta de um produto específico para sua eliminação e as consequências do uso de inseticidas em organismos não alvo e no ambiente.

Nos programas de Saúde Pública, produtos do grupo químico piretróide estão entre os inseticidas mais usados no controle de escorpiões. No entanto, a escassez de trabalhos científicos que comprovem a eficiência dos produtos, além dos resultados controversos observados na literatura sugerem necessidade de estudos criteriosos sobre o tema. Nesse sentido, o presente estudo analisa a resposta de jovens e adultos de *T. stigmurus* expostos a ambientes tratados com o inseticida Bifentol 200 SC®, avaliando a capacidade de reconhecer e evadir-se dos locais tratados, possíveis reações de intoxicação, dispersão, poder residual do produto e mortalidade. Testa-se a hipótese de que esses animais após contato com o produto são capazes de identificar áreas com inseticidas, preferindo se alojar em ambientes livres desse químico e que, por ser um inseticida microencapsulado com maior potencial de aderência à cutícula, Bifentol 200 SC®, apresenta um elevado efeito letal sobre os escorpiões. Além disso, por ter efeito neurotóxico o contato com piretróide resultará em alterações comportamentais indicativas de intoxicação.

Esta dissertação está estruturada na forma de seções que seguem as normas da ABNT no que se refere aos elementos pré-textuais e textuais (Introdução e Referencial Teórico). O desenvolvimento está apresentado nos capítulos I e II, apresentados na forma de manuscrito a ser submetido para publicação em periódico científico. O capítulo I caracteriza a resposta comportamental do escorpião *T. stigmurus* ao contato com inseticida piretróide (Bifentol 200 SC®) comparando essas respostas entre indivíduos adultos e juvenis. O capítulo II, avalia o

possível efeito letal, residual e dispersor do inseticida Bifentol sobre *T. stigmurus* a ambiente pulverizado com inseticida, na tentativa de avaliar a contribuição relativa desse método como controle contra escorpiões.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O escorpião *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876)

Popularmente conhecido como escorpião amarelo do Nordeste, a espécie *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones : Buthidae) foi descrita originalmente em Pernambuco (THORELL, 1876), onde se distribui por todas as mesorregiões do estado (ANDRADE, 2015), além da ilha de Fernando de Noronha (FREITAS E VASCONCELOS, 2008). Também há registro de sua ocorrência nos estados da Bahia, Ceará, Piauí, Paraíba, Alagoas, Rio Grande do Norte e Sergipe (BRASIL, 2009), sendo registrada também na região sudeste no norte de Minas Gerais (BRAZIL e PORTO, 2010).

T. stigmurus pertence à família Buthidae tendo como características morfológicas principais o esterno triangular (ou subtriangular) e ausência de tricobótrias ventrais na patela do pedipalpo (THORELL, 1877; POLIS, 1990; LOURENÇO, 2000, SOUZA et al., 2009). No dorso do prossoma, essa espécie apresenta uma mancha escura em forma de triângulo e possui uma faixa negra longitudinal no dorso do mesossoma (BRAZIL & PORTO et al., 2010; MARCUSSI et al., 2011) (Figura 1 A). Em média os adultos medem cerca de sete centímetros, podendo ser considerada uma espécie de tamanho mediano em relação aos demais butideos cujo comprimento varia de 20 a 120 mm (REIN, 2017).

Além de *T. stigmurus* todas as demais espécies de escorpiões de importância médica do Brasil pertencem à família Buthidae, como *Tityus serrulatus* (Lutz & Melo, 1922), *Tityus bahiensis* (PERTY, 1833) e *Tityus obscurus* (GERVAIS, 1843) (BRASIL, 2009). O primeiro caso clínico fatal causado por *T. stigmurus* com o registro de óbito de uma criança, ocorreu na cidade de Recife no ano de 1983 (EICKSTEDT, 1983,1984; LIRA- DA-SILVA, 2000). Desde então, o número de acidentes causados por essa espécie vem crescendo a cada ano. O último dado disponibilizado pelo SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) para o Estado de Pernambuco refere-se ao ano de 2015 com a ocorrência de 4.733 acidentes. É principalmente na estação chuvosa onde ocorrem esses acidentes ocorrem, provavelmente devido à procura de novo refúgio em decorrência de alagamento do abrigo em que se encontrava (ALBUQUERQUE et al., 2013). Além desse outros gêneros são considerados de importância médica, sendo estes: *Androctonu* Ehrenberg, 1828, *Leiurus* Ehrenberg, 1828,

Centruroides Marx, 1890, *Buthus* Leach, 1815, *Hottetotta* Birula, 1908, *Parabuthus* Pocock, 1890 e *Mesobuthus* Vachon, 1950 (BRAZIL e PORTO, 2010).

Os acidentes causados pelos escorpiões decorrem de uma mistura complexa de compostos biologicamente ativos presentes na peçonha (POSSANI et al., 1999) e que são produzidos para imobilizar e matar presas ou como mecanismo de defesa contra predadores. (HAMMOCK, et al 2003; PEDROSA, et al 2015; VILCINSKAS, et al 2017). A nível de toxicidade, esses compostos variam entre as diferentes espécies de escorpiões tornando os efeitos dos acidentes com intensidade diferenciada. A peçonha de *T. stigmurus* possui componentes tóxicos semelhantes a de outras espécies como *T. bahiensis* e *T. serrulatus*, no entanto sua peçonha é mais tóxica com dose letal (DL) 50= 0.773mg/kg) quando comparada a *T. bahiensis* (DL₅₀= 1,062mg/kg) e *T. serrulatus* (DL₅₀ - 1,160mg/kg) (NISHIKAWA et al., 1994).

Figura 1. Principais características morfológicas de *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876). (A) mancha escura em forma de triângulo no prossoma; (B) uma faixa negra longitudinal no dorso (setas)



Fonte: Foto A – Laís Pordeus, Foto B – O autor

Adaptada ao ambiente urbano, *T. stigmurus* (Thorell, 1876) encontra abrigo em restos de materiais de construção e entulhos deixados em ambientes domésticos e seus arredores, utilizando baratas como sua principal fonte de alimento (LIRA-DA-SILVA et al., 2000).

A partenogênese tem sido indicada como principal tipo de reprodução de *T. stigmurus*, tendo sido descrita por vários autores (LOURENCO; CLOUDSLEY-THOMPSON, 1999; ROSS, 2010). No entanto em 2009, houve registro de machos na natureza, sugerindo que esta espécie também possui uma reprodução sexuada. A ocorrência desses machos é rara e o difere das fêmeas por apresentar um metassoma ligeiramente mais alargado e segmentos dos pedipalpos mais curtos (SOUZA et al., 2009). Segundo LOURENÇO (2008) populações sexuais de *T. stigmurus*, apresentam uma distribuição geográfica mais restrita comparada a populações partenogenéticas (assexuadas) dessa espécie que tem uma ampla distribuição geográfica, ocupando áreas urbanas em toda a região nordeste.

Em média as fêmeas geram por cria 10-18 filhotes (AGUIAR et al., 2008) (Figura 2). Após nascerem os filhotes permanecem cerca de 3 a 5 dias no dorso da mãe até a primeira ecdise, descendo posteriormente e espalhando-se pelo ambiente, tornando-se independente da mãe. O tempo de maturidade desses animais varia de 300 até 871 dias, após 5-6 ecdises (ROSS, 2010; DeSOUZA et al., 2016).

Figura 2. Fêmea de *Tityus Stigmurus* com filhotes no dorso



Fonte: O autor

2.2 Controle Químico de Escorpiões

Os riscos representados pelo escorpionismo implicam na necessidade de ações de controle das espécies de escorpiões cuja peçonha causa danos à saúde humana. Essas ações visam reduzir a proliferação desses animais e, conseqüentemente, o número de acidentes que podem levar a morbi-mortalidade (RAMIRES et al., 2011). Apesar dessa necessidade, o controle de escorpiões representa um grande desafio devido ao fato de não existir uma metodologia ou um produto específico no combate a esses aracnídeos. Assim, captura (busca ativa), manejo ambiental, participação da população e o controle químico através da pulverização com inseticida de ambientes infestados por escorpiões, tem sido os meios mais utilizados no controle desses animais (BRASIL, 2009). Embora vários animais possam se alimentar de escorpiões como sapos, lagartos, corujas, galinhas dentre outros não existem estudos sobre o uso desses predadores como medida de controle. Com relação ao controle químico, os produtos usados no combate aos escorpiões são frequentemente os mesmos empregados no controle de insetos praga, tanto vetores de doenças como mosquitos (BRAGA E VALLE, 2007) (como pragas da agricultura, p.ex traça-do-tomateiro e traça-dascrucíferas) (CASTELLO BRANCO et al., 2001). Segundo Magalhães (1946), o Brasil foi o primeiro país a realizar uma campanha sistemática para controle de escorpiões no mundo. Isso ocorreu em 1924, no estado de Minas Gerais para redução da infestação de *T. bahiensis* e *T. serrulatus*. O referido autor, também realizou diversos testes em laboratório com várias fórmulas do organoclorado dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) para avaliar a letalidade do produto visando seu uso em campo. Esse foi o primeiro inseticida de efeito prolongado ou com propriedade residual conhecido para controle de pragas, tendo sido desenvolvido durante a Segunda Guerra Mundial (BRAGA E VALLE, 2007).

O sucesso dos organoclorados foi tão intenso que incentivou a busca pelo desenvolvimento de novos produtos com preços mais acessíveis e eficientes surgindo inúmeros organoclorados como o BHC® (De SOUZA 1954), CHLORDANE® (SCOTT & PRATT, 1959; MCGREGOR; FLANIGAN, 1962) e LINDANE® (SSA, 1996). Todavia, por não ser biodegradável, ter efeito residual persistente que mantém sua ação no ambiente por muitos anos e apresentar alta toxicidade em mamíferos, o uso dos organoclorados no Brasil, para controle de pragas agrícolas foi proibido desde 1985. No entanto, seu uso permaneceu autorizado em casos emergenciais em campanhas de saúde pública (Portaria no . 329 de 02/09/85 do Ministério da Agricultura).

Carbamatos e organofosforados foram outros grupos de inseticidas usados no controle de pragas, incluindo escorpiões, mas que também se apresentavam muito tóxicos e persistentes no ambiente. Como alternativa ao uso desses inseticidas surgiram os piretróides (SANTOS et al., 2007) que são compostos químicos sintéticos, originados da piretrina (éster de ácido crisantêmico) produzidas pelas plantas do gênero *Crysanthemum* (VIEGAS, 2003; PALMQUIST, 2012). O primeiro piretróide sintético produzido foi a aletrina, sintetizado em 1949, e comercializado em 1952 para o controle de insetos domésticos (ELLIOT, 1977; 1980).

Atualmente produtos à base de piretróides são mais utilizados devido às vantagens de serem biodegradáveis; não acumulativos, além de possuírem baixa toxicidade em aves e mamíferos (RODRIGUEZ et al, 2005; PALMQUIST, 2012). No entanto, o uso desses produtos no combate a escorpiões tem sido bastante questionado por induzirem agitação e irritação nos animais, podendo aumentar o número de acidentes, além de estimular o animal a se dispersar para novos abrigos, podendo iniciar a infestação em áreas previamente livres desse animal (RAMSEY et al,1999, ALBUQUERQUE et al., 2009, RAMIRES et al., 2011).

A formulação microencapsulada de vários produtos inseticidas, em que o ingrediente ativo permanece no interior de microcápsulas de um polímero semelhante ao nylon, surgiu na década de 90 e deu nova perspectiva ao combate químico dos escorpiões (HIGIENE ATUAL, 2010). Em estudo realizado no município de Aparecida do Norte, em São Paulo, utilizando DIAZINON microencapsulado para controle de *T. serrulatus*, foi registrado uma mortalidade total dos espécimes coletados através de busca ativa após contato com o inseticida (CARVALHO et al., 1994). Por não serem capazes de perceber o produto nos locais tratados, os animais se expõem mais frequentemente aos produtos cujas cápsulas se aderem ao corpo, rompendo-se e espalhando o inseticida. Assim, a intoxicação e morte do animal ocorre devido a penetração do princípio ativo no corpo do escorpião ou ingestão levados pelos pedipalpos. Contudo, há controvérsias sobre a eficiência dos produtos microencapsulados, uma vez que um dos problemas desse tipo de formulação é a possibilidade de rompimento das microcápsulas durante a manipulação do produto, reduzindo a eficiência no controle. O efeito dispersor do inseticida piretróide microencapsulado DEMAND 2,5CS (lambda-cialotrina) em *T. stigmurus* foi sugerido após aplicação em campo para controle dessa espécie pelos agentes de saúde em Recife (ALBUQUERQUE et al., 2009). Esses autores registraram baixa mortalidade dos animais em até 30 dias após a pulverização das áreas afetadas.

A eficiência dos inseticidas em controlar escorpiões também tem sido influenciada pelo hábito desses animais se abrigarem em frestas de paredes, embaixo de caixas, papelões, pilhas de tijolos, telhas, madeiras, fendas e rachaduras do solo (BRASIL, 2009), que impedem a penetração do produto. Em áreas peridomiciliares, estima-se que 80% dos escorpiões se instalam nas residências através das tubulações da rede de esgoto (MARCUSSEI et al., 2011) o que atrapalha a ação dos inseticidas. Além disso, os escorpiões possuem a capacidade de permanecer meses nesses abrigos, sem se movimentar, dificultando o contato com o produto químico (BRASIL, 2009).

Embora o uso de inseticidas para eliminar escorpiões nos domicílios seja bastante comum, não existem estudos que comprovem a efetiva ação desse tipo de produto no combate a esses aracnídeos. Associado a esse fato, o risco ambiental e a saúde humana causados pela aplicação de inseticidas no ambiente evidencia a necessidade da realização de estudos que possam contribuir para o conhecimento da eficácia desse método como controle de escorpiões.

2.3 Comportamento de Intoxicação em Escorpiões

Estudos sobre as reações comportamentais de intoxicação causadas por inseticidas em escorpiões são raros, assim o conhecimento dos efeitos toxicológicos nesses organismos são limitados pela falta de informações nessa área. Dentre os artrópodes, a maior parte do conhecimento relacionado ao tema está voltada para os insetos, uma vez que esse grupo abrange a maioria das pragas de importância médica e agrícola, onde são usados os inseticidas. Em aracnídeos os efeitos neurotóxicos de inseticidas piretróides tem sido estudado particularmente em aranhas.

Nos taxa em que os efeitos neurotóxicos têm sido avaliados, a maior parte do conhecimento advém de estudos com piretróides. Esses são conhecidos pela ação direta sobre o aparelho locomotor induzindo vários graus de paresia e mudanças na atividade locomotora, dependendo das concentrações usadas (DESNEUX et al., 2007, BAATRUP & BAYLEY 1993, SFARA et al., 2013, TOOMING et al., 2014). É importante lembrar que as atividades motoras gerais e de locomoção são atuações fundamentais em vários padrões comportamentais e processos vitais, como procura de presas, fuga de predadores, busca por parceiros para reprodução, saída da exúvia no momento da muda. Desse modo, os efeitos neurotóxico dos inseticidas podem afetar a migração, (BAATRUP & BAYLEY 1993), predação, fuga (SHAW et al., 2006) e reprodução (BRITO et al., 2013), dentre outros.

Os efeitos da intoxicação por piretróides estão relacionados à sua atuação sobre o sistema nervoso através da interação com os canais de sódio, alterando sua transição de ativado para não ativado (DAVIES et al., 2007). A intensidade desses efeitos depende da estrutura química do produto usado, assim, os piretróides sintéticos são estruturalmente divididos em dois grupos segundo a ausência (tipo I - ex. permetrina e aletrina) ou presença (tipo II - ex. Cipermetrina e deltametrina) de um grupo ciano (CN) na porção fenoxibenzil (LATUSZYNSKA, et al., 2003). Os sintomas de intoxicação por piretróides acontecem rapidamente, decorrentes da transmissão de impulsos repetitivos e descontrolados que geram hiperexcitabilidade, alterações locomotoras (“knockdown”), paralisia e morte (SODERLUND & BLOOMQUIST, 1989).

Baatrup e Bayley (1993) observaram que a aranha *Pardosa amentata* apresentou uma paralisia quase instantânea das patas traseiras e uma falta de coordenação nos movimentos, após aplicação tópica do inseticida Cipermetrina (4,6 ng). Esses sintomas resultaram numa interrupção total de movimentos, com duração de aproximadamente 12 h nos machos e de 24-48 h nas fêmeas. Após esse período, os efeitos da Cipermetrina foram evidenciados pela redução na capacidade da distância percorrida, na velocidade média e velocidade máxima desenvolvidas e aumento do tempo gasto em paresia. Isso pode estar relacionado ao fato da Cipermetrina ter efeito direto sobre o aparelho locomotor, porém algumas aranhas se recuperaram totalmente após nove dias. Comportamentos de ataxia e paralisia das patas traseiras também foram registrados na aranha *Pardosa amentata* (Clerck, 1757) exposta a cipermetrina com reversão dos sintomas em tempo máximo de 3 e 6 dias (SHAW et al 2006). Essas reversões no processo de intoxicação provavelmente se devem a eliminação ou redução da atividade do inseticida, podendo estar associada ao mecanismo de destoxificação metabólica do piretróide. A destoxificação geralmente é causada pela ligação um grupo polar reativo (ex. -OH, -SH, -NH₂, -COOH) na molécula do composto químico, tornando-a mais solúvel em água. Em seguida ocorrem reações de hidroxilação mediadas por enzimas através do sistema enzimático (monoxigenases dependentes de citocromo P-450, esterases e glutatona s-transferases) e reações de conjugação (XIANCHUN et al., 2007, HEMINGWAY & RANSON, 2000).

Movimentos reduzidos também foram registrados em aranhas das espécies *Salticus scenicus* (Salticide) (Clerck, 1757) e *Rabidosia rabida* (Lycosidae) (Walckenaer, 1837) (Lycosidae), após exposição ao inseticida organofosforado malation (TIETJEN & CADY, 2007). A

locomoção na aranha *Plexippus paykulli* (Audouin, 1826) (Salticidae), também foi afetada após exposição ao inseticida organoclorado endossulfan (TAHIR et al., 2014).

Em escorpiões, os estudos sobre a ação de inseticidas focam principalmente a taxa de mortalidade ou eventos de controle sem descrição sobre o comportamento de intoxicação (ALBUQUERQUE et al., 2009, BRITES-NETO & BRASIL, 2012, RAMIRES et al., 2011). Por exemplo, Darrow (1977) indicou apenas a ocorrência de sintomas tóxicos, sem a definição dos mesmos, em seu estudo sobre o efeito de 12 inseticidas no escorpião *Centruroides vittatus* (Say, 1821). Em estudo mais detalhado Amorim (2007) mencionou um padrão de intoxicação do escorpião *T. stigmurus* exposto ao inseticida TERMIDOR 25CS de princípio ativo fipronil, similar ao de outros artrópodes, com alterações nos movimentos em geral e na locomoção. A autora observou alterações de comportamento limitadas aos efeitos tóxicos como: caminhar lentamente; tremores nas pernas quando intoxicados; alterações na posição de postura, com o dorso voltado para a base do aquário, além de espasmos nas patas, pedipalpos e telson, quando fortemente intoxicados. Essas reações variaram com o peso do animal. Além de sinais de intoxicação, Shutz et al, (1998) registraram reversão dos efeitos tóxicos após 30 dias em *T. serrulatus* exposto aos inseticidas carbamato Fican 80%W, (Bendiocarbe), e os piretroídes K-othrine 50% CS (deltametrina em pó) e Demand (lambdacialotrina) nas doses recomendadas pelos fabricantes.

Vale salientar que no Brasil, a primeira descrição de sintomas de intoxicação em escorpiões foi feito por Dias et al (1924), em estudo de laboratório, usando as espécies *T. bahiensis*, *T. serrulatus* e *T. dorsomaculatus*. Nas observações realizadas, além de escorpiões, foram usados camundongo, aranha, formiga e percevejo. Esses autores utilizaram xilol (descrito como inseticida), clorofórmio, ácido cianídrico, gasolina, dentre outros. Nos testes realizados foi usado um espécime de cada representante animal e nunca todos os representantes no mesmo teste. Embora os resultados tenham sido variados, de um modo geral foram descritas reações de excitação, contrações, perda de movimentos, decúbito dorsal e morte, dependendo do agente químico usado. Em 1946 Magalhães realizou vários experimentos avaliando o efeito do inseticida neocide (Carbaril 4,91%) sobre *Tityus bahiensis*, evidenciando paralisia e morte.

Além dos efeitos neurotóxicos diretos (tremores, convulsões), implicações indiretas como a repelência e dispersão, também podem ser observados em decorrência do efeito irritante, geralmente causado por inseticidas (CARVALHO-NETO et al,1994; RAMSEY et al,1999,

ALBUQUERQUE et al., 2009). Em um estudo realizado em um cemitério no município de Aparecida do Norte, em São Paulo, com infestação de *T. serrulatus* a pulverização de Diazinon-ME (30%) (6 g / m²) em conjunto com Diclorvós (1%) causou um efeito repelente e seu uso foi interrompido devido à intensa migração dos escorpiões para as áreas vizinhas, alarmando a população (CARVALHO-NETO et al., 1994). No entanto, a ocorrência do efeito irritante ainda é controverso. RAMSEY et al. (2002), expuseram os escorpiões *Centruroides limpidus limpidus* (Karsch, 1879) ou *Vaejovis mexicanus smithi* (Pocock, 1902) a doses letais de 4 formulações de piretróide, sem registro de aumento significativo de excitação. Resultado similar foi registrado por Amorim (2009) usando TERMIDOR 25CS na espécie *T. stigmurus*. O efeito dispersor do Inseticida piretróide microencapsulado DEMAND 2,5CS em *T. stigmurus* foi sugerido após aplicação em campo para controle dessa espécie pelos agentes de saúde em Recife (ALBUQUERQUE et al., 2009). Esses autores registraram baixa mortalidade dos animais em até 30 dias após a pulverização das áreas afetadas.

A importância do controle de escorpiões, o pouco conhecimento sobre os efeitos dos inseticidas sobre esses animais e ainda as variações e incertezas encontradas nos trabalhos realizados, indicam a necessidade de mais estudos nessa área

3 OBJETIVOS

3.1 Geral:

Analisar a resposta comportamental e a taxa de mortalidade do escorpião *Tityus stigmurus* exposto a ambiente pulverizado com o inseticida piretróide BIFENTOL 200 SC® indicado para o controle de escorpiões.

3.2 Específicos

Estão abordados nos artigos que compõem os Artigos 1 e 2. Assim, os objetivos específicos do Artigo 1 foram:

- 1- Investigar a capacidade de reconhecimento e evasão do local tratado com inseticida por indivíduos adultos e imaturos da espécie *T. stigmurus*;
- 2- Descrever a sequência comportamental dos animais que indiquem sintomas de intoxicação, após contato com superfícies tratadas com o produto;
- 3- Avaliar possível reversão das reações observadas;
- 4- Comparar essas respostas entre jovens e adultos.

O Artigo 2 teve como objetivos específicos :

- 1- Determinar a taxa de mortalidade de *T.stigmurus* exposto a ambiente tratado com Bifentol;
- 2- Avaliar o efeito residual do produto analisado;
- 3- Analisar se a aplicação do inseticida no abrigo causa a dispersão dos escorpiões;
- 4- Comparar essas respostas entre jovens e adultos.

4 ARTIGO 1 Alterações comportamentais de escorpiões adultos e imaturos de *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (SCORPIONES: BUTHIDAE) expostos a inseticida piretróide

Manuscrito a ser submetido a revista Ethology – Qualis A2 Fator - 1.398

Adriana Barbosa dos Santos¹, Cleide Maria Ribeiro de Albuquerque¹

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, 50670-901. Brazil.

Short running: Comportamento do escorpião exposto a inseticida

Autor para correspondência: SANTOS, A.B. E-mail: adrianasantos123@hotmail.com

Abstract: Chemical control remains a major management tool in limiting indoor infestations by scorpions' in urban areas, despite its unclear effectiveness. This study aimed

to describe a set of stereotyped behaviors of adult and juvenile *Tityus stigmurus* following exposition to Bifentol 200 SC®, pyrethroid insecticide. The ability of scorpions to recognize and avoid the treated area was also investigated. Animals were exposed to environment and shelter with and without pyrethroid spraying and then, general behaviour, locomotion and motor activity were observed. Recorded behavioral alterations registered were considered representation of pre-intoxication, intoxication and reversal reaction. The most frequent behavior categories were: immobility, spasms and ventral turnover. A great proportion of animals showed reversion of the intoxication symptoms, even when subjected to the lethal dose recommended by the manufacturer for scorpions control. The absence of escapes from the sites at the first contact indicate a non-repellent effect of the product. However, the presence of adult animals, but not juveniles, in treated shelters after 24 hours in treated shelters suggests that they have a different perception of pesticide. These results show changes in the motor activity of *T. stigmurus*, possibly due the toxic effects of the pyrethroid, although these alterations are mostly reverseble. Since there were no fleeing movements of the insecticide treated sites, we suggest that the product exhibitsc no repellent effect of the product, but there is an irritant effect for the young as long the animals do not remain in shelter with the product.

Keywords :Reversal. Bifentrina. motor activity. locomotion

Resumo: O controle químico continua a ser uma importante ferramenta de gerenciamento no combate à escorpiões em áreas urbanas, apesar de ser questionada a eficacia deste método de controle. Este estudo teve como objetivo descrever um conjunto de comportamentos estereotipados do escorpião *Tityus stigmurus* após exposição ao Bifentol 200 SC®, um piretróide inseticida. A capacidade dos escorpiões para reconhecer e evitar a área tratada também foi investigada. Adultos e juvenis foram expostos ao meio ambiente e abrigo com e sem pulverização piretróide e, em seguida, comportamento geral, locomoção e atividade motora foram observados. As alterações comportamentais registradas foram consideradas como representação da pré-intoxicação, intoxicação e reação de reversão. As categorias de comportamento mais frequentes foram: imobilidade, espasmos e volume de vendas ventral. Uma grande proporção de animais apresentou reversão dos sintomas de intoxicação, mesmo usando a dose letal recomendada pelo fabricante para controle de escorpiões. A ausência de fugas dos sites no primeiro contato indica um efeito não repelente do produto. No entanto, a presença de animais adultos, mas não juvenis, após 24 horas em abrigos tratados sugere que adultos e juvenis tenham uma percepção diferente do pesticida. Estes resultados mostram

alterações na atividade motora de *T. stigmurus*, possivelmente devido aos efeitos tóxicos do piretróide, embora essas alterações sejam principalmente revertidas. Uma vez que não houve movimentos de fuga dos locais tratados com inseticida, sugerimos que não há efeito repelente do produto, mas há um efeito irritante para os jovens, desde que os animais não permaneçam protegidos com o produto.

Palavras-chaves: Reversão. Bifetrina. atividade motora. locomoção

Introdução

Envenenamentos causados por picada de escorpiões são a principal causa de intoxicação ocasionada por aracnídeos, sendo responsáveis por significativo número de casos de mortalidade infantil e morbidade em muitas partes do mundo (Chippaux e Goyffon, 2008, Bawaskar e Bawaskar, 2012, Albuquerque et al., 2013). Dentre as 2.311 espécies de escorpiões conhecidas (Rein, 2017), 50 são perigosas para humanos e destas, cerca de 30 podem causar óbitos em humanos (Marcussi et al., 2011).

Embora não exista uma metodologia ou produtos específicos para o controle desses aracnídeos, a aplicação de inseticida no ambiente através da pulverização dos locais propícios ao estabelecimento desses animais tem sido um dos métodos mais usados no seu combate (Chippaux e Goyffon, 2008, Albuquerque et al., 2009, Ramires et al., 2011). Em programas de controle de vetores e pragas, incluindo escorpiões, os inseticidas à base de piretróides estão entre os produtos mais usados (Ramsey, 2002, Ramires et al., 2011). Conhecidos por atuarem sobre o sistema nervoso central (Soderlund e Bloomquist, 1989, Braga e Valle, 2007), o uso desses produtos tem resultado em alterações comportamentais ou mesmo na evolução de resistência em muitas espécies de artrópodes, particularmente insetos, grupo animal em que esses efeitos são mais conhecidos (Braga e Valle, 2007, Palmquist et al., 2012, Naqqash et al., 2016). Em insetos, uma breve exposição a produtos à base de piretróides em concentrações sub-letais pode modificar severamente o comportamento do animal induzindo mudanças na atividade motora que varia de hiper a hipo atividade (Sfara et al., 2013, Tooming et al., 2014, Crawley et al., 2017). Similarmente, em aracnídeos, a aplicação de cipermetrina na aranha *Pardosa amentata* (Clerck, 1757) induziu a paralisia dos quatro pares de pernas e a perda de coordenação dos movimentos com redução da atividade locomotora (Baatrup e Barley, 1993). Reduzidos níveis de movimento também foram registrados nas aranhas salticide *Salticus*

scenicus (Clerck, 1757), e licosídeo *Rabidosa rabida* (Walckenaer, 1837) (Tietjen e Cady, 2007) expostos ao orgâfosforado malathion.

Em escorpiões as reações comportamentais à exposição a inseticidas são pouco conhecidas. Os raros trabalhos sobre o efeito desses produtos sobre esses aracnídeos sugerem uma maior atividade dispersora do que letal (Ramsey, 2002, Ramires et al., 2011, Albuquerque et al., 2013). Apesar disso, maior lentidão ao caminhar, tremores nas pernas e alterações na posição de postura com o dorso voltado para a base do substrato foram sintomas observados em *Tityus serrulatus* (Lutz & Mello, 1922) após exposição ao inseticida organofosfato diazinon na formulação microencapsulada (Magalhães, 1946, Carvalho e Luna, 1995).

As alterações nas atividades motoras gerais e de locomoção que refletem a influência de xenobióticos, como os piretróides, em geral estão associadas à ação neurotóxica (Palmquist et al., 2012) e podem sofrer reversão decorrentes do processo de detoxificação bioquímica (Hemingway et al., 1998, Ranson et al. 2011, Sokhna et al., 2013). Enquanto o processo de intoxicação pode levar a óbito, a reversão dos sintomas, na maioria das vezes está associada à detoxificação bioquímica mediada por enzimas especializadas (Hemingway et al., 1998, Ranson et al. 2011, Sokhna et al., 2013). Esse processo se constitui em importante adaptação que permite ao indivíduo retomar a seus movimentos normais, sobrepondo o stress químico (Miao et al., 2016). Assim, alterações comportamentais tem sido consideradas como um dos mais sensíveis indicadores de estresse químico, sendo usadas como alternativas para avaliar os efeitos tóxicos de contaminantes ambientais em muitos organismos tanto aquáticos quanto de solo (Guedes et al., 2016).

Alguns artrópodes como insetos (Romero et al., 2009) e aranhas (Desneux et al., 2007) também são capazes de evitar exposição prolongada ao inseticida, afastando-se da área tratada, quer por causa de repelência (após perceber o produto a alguma distância) (Dethier et al., 1960) ou por causa de irritação (depois de contato com a área tratada) (Ramires et al., 2012). Essas reações têm sido pouco estudadas em escorpiões embora sua presença possa indicar capacidade de infestar um local. Nesse trabalho caracterizou-se a resposta comportamental do escorpião *Tityus stigmurus* ao contato com inseticida piretróide (Bifentol 200 SC[®]), à base de bifentrina respondendo-se as seguintes questões: (i) os escorpiões são capazes de reconhecer o local tratado e evadir-se?; (ii) qual a sequência comportamental do animal que indica sintomas de intoxicação, após contato com superfícies tratadas com o

produto?; (iii) pode ocorrer reversão das reações observadas? (iv) essas respostas variam entre jovens e adultos? Testa-se a hipótese de que, por ter efeito irritante, os escorpiões seriam capazes de reconhecer e evitar locais tratados com piretróides. Além disso, *T. stigmurus* responderia ao contato com a bifentrina, alterando a atividade motora, particularmente nos jovens, em consequência de intoxicação decorrente do efeito neurotóxico do produto, similar a outros artrópodes. *T. stigmurus* é uma espécie partenogenética (Ross, 2010) amplamente distribuída na região nordeste do Brasil, onde causa acidentes fatais principalmente em crianças (Albuquerque et al 2013). Ao analisar essas respostas será possível indicar o tipo de ação e o potencial de resistência de *T. stigmurus* a produtos à base de bifentrina, servindo também como indicativo para avaliar efeitos tóxicos de contaminantes ambientais como os inseticidas sobre escorpiões..

Materiais e Métodos

Material Biológico

Fêmeas adultas (n= 50) e juvenis (N=50) de *T. stigmurus* foram usados nesse trabalho. As fêmeas foram coletadas no município de Vitória de Santo Antão-PE (08° 07' 05" S, 35° 17' 29" W) e trazidas para o laboratório de Invertebrados Terrestres da Universidade Federal de Pernambuco onde foram individualizados em potes plásticos transparente (500ml) contendo água e abrigo. Semanalmente os animais foram alimentados com baratas *Phoetalia circumvagans* e deixadas em observação por quarenta dias para certificar a ausência de doenças. Após esse período, as fêmeas foram transferidas para sala de criação com condições ambientais de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, 65% UR e fotoperíodo (12:12 C:E). Os juvenis provenientes dessas fêmeas foram usados nos testes experimentais. Apenas indivíduos nos instars N2 e N3 foram usados devido ao longo ciclo (300 a 871 dias) dessa espécie (ROSS, 2010; DeSOUZA et al., 2016).

Inseticida

BIFENTOL 200 SC® (C23 H22 Cl F3 O2) comercial produzido pela ChemoNE Industrial Química do Nordeste – Bezerros, PE, foi obtido como doação através da Secretaria de Saúde do Município de Paulista- PE .O inseticida pertence ao grupo químico piretróide, microencapsulado, apresentando-se na forma de suspensão aquosa e tendo como princípio

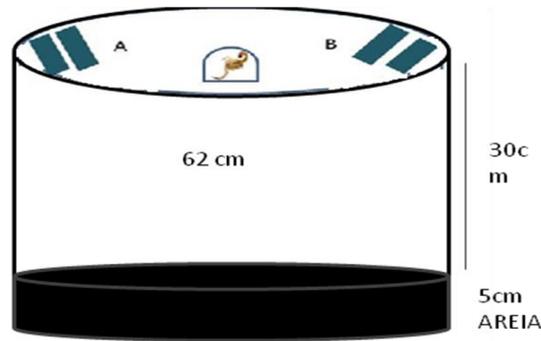
ativo bifentrina. De acordo com o fabricante, BIFENTOL 200 SC[®], suspensão concentrada é eficaz contra baratas, escorpiões, aranhas, pulgas, moscas, mosquitos, cupins, ácaros, triatomídeos, percevejo de cama e carunchos. O produto foi preparado de acordo com as instruções contidas no rótulo para controle de escorpiões (4ml/L de água), sendo aplicado com pulverizador manual intrajet (Grarani, 750 ml) oito horas antes do experimento. Cada tratamento constou da aplicação de 30 mL de produto diluído/ m².

Reconhecimento e evasão do local tratado com inseticida como abrigo

Como medida de reconhecimento de locais tratados e comportamento de evadir-se (abandonar o abrigo após instalado) foram considerados aspectos quantitativos (número de animais que se direcionam para área tratada, quantidade de escorpiões que permaneciam no abrigo pulverizado com o inseticida, tempo de deslocamento entre o local de soltura até atingir o abrigo e permanência no abrigo) e qualitativos (comportamento do animal diante do ambiente tratado – movimentos corporais). Os experimentos foram realizados usando-se arenas (recipientes plásticos) de formato circular (diâmetro 62cm) tendo na base uma cobertura de areia lavada (5cm) (Figura 1 A). O espaço da arena foi dividido em dois ambientes de igual tamanho. Uma telha de cerâmica colonial (48,0x18,5cm) tipo encaixe foi cortada ao meio e os pedaços colocados em um dos ambientes (Figura 1 B).

Além disso, a parede interna desse ambiente da arena foi revestida com um papelão, sendo todos tratados com Bifentol 200 SC[®]. No lado oposto foram dispostas outras duas metades de telha sem tratamento. Uma das metades foi pulverizada com água (produto usado na diluição do inseticida) e a outra não recebeu qualquer tratamento. No centro da arena foi colocado um indivíduo, sob um suporte plástico de 10cm de diâmetro e deixado por 15min para aclimatação, sendo liberado em seguida. As reações comportamentais do animal apresentadas nos primeiros 60min foram consideradas para as análises de reconhecimento do local tratado e evasão ou permanência no mesmo. Os experimentos foram realizados no período diurno com início às 8.00h, para estimular o animal na procura por abrigo, desde que esses aracnídeos são mais ativos à noite. Como controle, foram realizados réplicas em testes similares usando-se 20 indivíduos e arenas sem tratamento com inseticida.

Figura1: Desenho esquemático representativo da arena usada nos testes experimentais, mostrando a localização da câmara de aclimação dos animais (centro) e os substratos tratados com inseticida (A) e sem tratamento (B).



Fonte: O autor

As observações foram realizadas com base no método *ad libitum* (Altmman, 1974, Oliveira et al., 2014) em que não há restrições do que está sendo observado, permitindo o registro de eventos raros (Martin e Baterson, 2007) . As observações foram realizadas por um único pesquisador e todos os eventos foram registrados. Trinta réplicas foram realizadas para adultos e 30 para jovens, sendo cada animal utilizado apenas uma vez por experimento. O local onde os animais foram encontrados após 24 do início do experimento foi considerado como o local de abrigo escolhido pelo escorpião.

Padrões comportamentais relacionados à intoxicação e reversão dos sintomas

Para avaliação de possíveis alterações motoras que indicassem sintomas de intoxicação, o repertório comportamental de cada indivíduo dos experimentos descritos acima foi inicialmente registrados por 60min. Após esse período, novas observações foram realizadas por 10min, a cada hora ao longo de 8h, finalizando com uma observação após 24 h do inicio dos experimentos.

Alterações de comportamento relacionadas com a mobilidade e postura do animal, foram consideradas indícios de intoxicação. Em períodos normais de inatividade, os escorpiões apresentavam-se imóveis, pernas e pedipalpos retraídos enquanto durante o período ativo os animais encontravam-se com pernas elevadas para locomoção e pedipalpos em posição de

alerta com quelas abertas. Alterações nesse padrão após contato com o inseticida foram classificados como fases de: pré-intoxicação (modificação da locomoção), intoxicação (modificação postura) e reversão dos sintomas. Cada uma dessas fases compreendeu diferentes categorias e atos. Baseado em Del-Claro (2010), as categorias foram consideradas como os eventos padrões que ocorriam em cada fase, sendo detalhado em atos envolvendo etapas diferenciadas dentro da categoria.

Após 24 horas, horário da última observação, os animais foram acondicionados individualmente em recipientes plástico (altura 11,0 x largura 7,5cm, sendo observados diariamente, por 15 dias para registro de alterações comportamentais que indicassem reversão dos sintomas apresentados. Semanalmente foi oferecido alimento, como descrito anteriormente, sendo a água disponibilizada *ad libitum*. A reversão foi considerada como os movimentos de retorno a situação normal dos indivíduos, retraindo pedipalpos e pernas, mantendo-se em posição de descanso. Nesse experimento foram realizadas 30 réplicas para adultos e 30 para jovens.

Análise de dados

Análises descritivas estabelecendo a frequência das variáveis dos atos foram inicialmente usadas para análises de reconhecimento nesse trabalho. Os resultados de evasão (abandono do abrigo após instalação) foram estimados com base no coeficiente de evasão descrito com base em Sfara et al., (2013), expresso como $[CE = (\text{Tempo total do experimento} - \text{Tempo no abrigo tratado}) / \text{Tempo total do experimento}]$. Valores de CE variaram entre 0 (evasão mínima) e 1 (evasão máxima). $CE = 0,5$ indicou distribuição ao acaso. Para comparação dos atos (expressas por categorias comportamentais no etograma) dos adultos e juvenis foi realizado inicialmente testes de Shapiro-Wilk para testar a normalidade das amostras. Constatada a não-normalidade dos dados, foram realizando testes ranqueados de Mann-Whitney para avaliar as diferenças entre os comportamentos.

Resultados

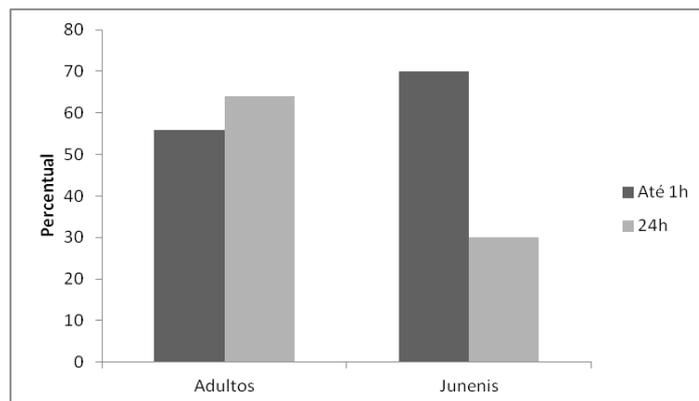
Reconhecimento e evasão de *Tityus stigmurus* do local tratado com inseticida

Imaturos e adultos de *Tityus stigmurus* apresentaram reações distintas quanto ao reconhecimento e evasão dos abrigos com inseticida. Ao serem liberados no centro da arena a

maioria dos animais procurou abrigo em até 15 min, embora esse comportamento tenha sido mais frequente entre os jovens (100%) do que os adultos (72%). Os demais espécimes permaneceram imóveis no centro da arena se deslocando em até quatro horas após a soltura. Os adultos foram mais rápidos para iniciar o deslocamento (2min), com 40% já estando abrigada em menos de cinco minutos, tempo de início da procura de abrigo pelos jovens.

Entre os adultos, 56,6% se direcionaram no momento da soltura para locais com o inseticida e após 24h (considerado como tempo para escolha definitiva de abrigo) essa proporção aumentou para 64% (Figura 2). Ao contrário, entre os juvenis, a procura inicial foi de 70% reduzindo significativamente ($\chi^2= 23.204$, $p<0,0001$) para 30% o número de indivíduos em áreas tratadas após 24h (Figura 2). O CE estimado com base nos dados de 24h para adultos (0,45) indicou uma evasão mínima dos abrigos tratados, contrário ao registrado para os jovens com CE=7,7.

Figura 2. Reconhecimento e evasão de locais tratados com o inseticida BIFENTOL 200 SC®, pelo escorpião *Tityus stigmurus*. Reconhecimento foi considerado como o percentual de animais que se direcionam para área tratada até 60 min após a liberação no centro da arena. Evasão refere-se a não permanência no local com inseticida (em observação de 24h)



Ao atingir a área tratada, 67% dos jovens e 75% dos adultos iniciavam uma investigação do local caminhando ou correndo ao longo da superfície com pernas erguidas e pentes distendidos tocando no substrato e pedipalpos em posição de alerta. A duração desse comportamento variou entre 2-20min (adultos) e 5-15min (jovens).

Repertório comportamental de intoxicação

Após o reconhecimento seguiram-se três fases, caracterizadas como: Pré-intoxicação, Intoxicação e Reversão, comuns a jovens e adultos, embora com intensidade diferente. Esse processo compreendeu 10 categorias e 15 atos comportamentais apresentados na Tabela 1.

Na fase de pré-intoxicação os animais apresentavam os seguintes comportamentos: paravam (2-8 min) evitando o contato da parte ventral do corpo com o inseticida (Figura 3 A) e iniciavam a limpeza dos pentes e pinça dos pedipalpos num processo que durava 4-5min. A limpeza dos pentes consistia na passagem dos dois primeiros pares de pernas por essa estrutura, enquanto a limpeza dos pedipalpos era realizada esfregando a pinça entre as quelíceras (Tabela 1 e Figura 3B). Ao contrário, os escorpiões não expostos ao inseticida, ao encontrarem o abrigo procuravam um local adequado evitando a exposição direta à luminosidade, ficando imóveis e retraindo os pedipalpos e pernas mantendo-se em posição de descanso (Figura 3C).

Padrões comportamentais de Intoxicação e Reversão

Seguido a fase de pré-intoxicação, a maioria dos escorpiões expostos ao inseticida apresentou sintomas de intoxicação, independente da fase de vida (adultos 93,3%; 30/28); jovens 96%; 30/29). As alterações comportamentais indicativas de intoxicação estão sumarizadas na Tabela 1 e Figura 2. Não houve diferença significativa entre as ações dos adultos e juvenis. Animais intoxicados apresentaram alterações na locomoção, espasmos nas pernas, pedipalpos e metassoma, seguido de imobilidade e modificações na postura com o corpo ficando em decúbito dorsal (Tabela 1, Figura 3D). O período de intoxicação variou de 4 a 15 dias. A frequência de ocorrência dos atos comportamentais da fase de intoxicação encontra-se na Figura 4.

Dentre os animais adultos, 63% sobreviveram a intoxicação iniciando o processo de reversão dos sintomas. Esse número foi menor entre os jovens com 47% dos indivíduos com sintomas de intoxicação revertendo o processo, estando ambos (adultos e jovens) totalmente recuperados após 15 dias. As fases do processo de reversão ocorreram em ordem inversa ao processo de intoxicação, com retorno gradual ao decúbito ventral e movimentos das pernas.

Animais que se recuperaram, procuravam água e abrigo. Em seguida ocorreu a captura de presas para alimentação (Tabela 1, Figura 4 E).

FIGURA 3. Padrões comportamentais de Pré-intoxicação, intoxicação e reversão observados em *Tityus stigmurus* após exposição a superfícies pulverizados com inseticida Bifentol 200 SC® seguindo as instruções do fabricante. A – Elevação das pernas evitando contato com a superfície tratada; B- limpeza de pinças e quelíceras; C- Parado com o corpo em posição de descanso; D- Decúbito ventral e E- Animal segurando a presa com as pinças para alimentação.



Fonte: Foto: A- Welton Dionísio, B e D- Laís Pordeus, C- Hugo Neves e E- Adriana Barbosa

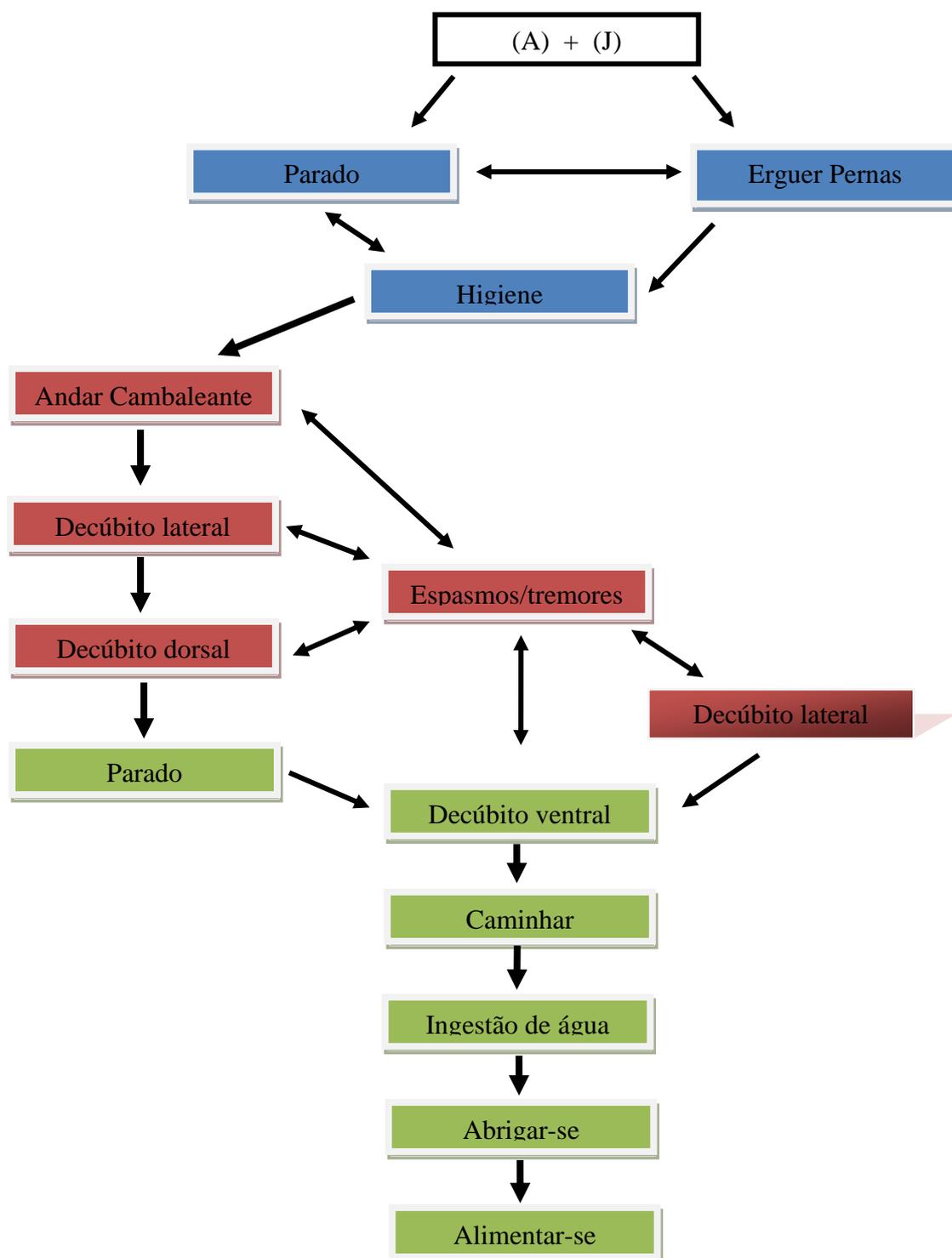
Tabela 1. Padrão comportamental do escorpião *Tityus stigmurus* exposto a superfícies tratadas com o piretróide Bifentol 200 SC® em laboratório, indicando as fases (caixa alta), categoria (itálico e negrito) e atos (romana)

PRÉ-INTOXICAÇÃO	DESCRIÇÃO	(%)	(%)
		ADULTOS	JOVENS
<i>Movimentação</i>			
Parar	Ficar imóvel sobre a superfície tratada	47	50
Elevar	Erguer as pernas evitando o toque da região	47	50

	ventral do corpo com a superfície tratada		
Limpeza	Limpar pentes com os dois primeiros pares de pernas e/ou passar a pinça dos pedipalpos entre as quelíceras, com liberação de substância mucosa entre as quelíceras.	33	43
INTOXICAÇÃO			
<i>Locomoção</i>			
Instabilidade	Movimentar cambaleante , acompanhado ou não de tremores no corpo	93	90
<i>Postura</i>			
Decúbito lateral	Colocar parte lateral do corpo em contato com a superfície da arena	93	90
Decúbito dorsal	Colocar parte dorsal do corpo em contato com a superfície da arena	93	90
<i>Contrações involuntárias</i>			
Espasmos/ tremores	Estremecer involuntariamente metassoma, pernas e pedipalpos	93	90
<i>Imobilidade</i>			
Parar	Ficar imóvel com as pernas contraídas	93	90
REVERSÃO			
<i>Postura</i>			
Decúbito lateral	Retornar a parte lateral do corpo ao contato com a superfície do recipiente	80	70
Decúbito Ventral	Retornar a posição de dorso em contato com o substrato	80	70
<i>Mobilidade</i>			
Caminhar	Deslocar lento pelo ambiente	80	70
<i>Hidratação</i>			

Ingerir líquido	Consumir água	67	67
<i>Proteção</i>			
Abrigo	Procurar por abrigo	67	47
<i>Forrageamento</i>			
Captura de presa	Segurar a presa com as pinças dos pedipalpos	67	47
Alimentar-se	Ingerir pedaços do corpo da presa, por meio das quelíceras.	67	47

Figura 4. Fluxograma apresentando a sequência de comportamentos em jovens e adultos de *Tityus stigmurus*, durante as fases de pré intoxicação (Azul), intoxicação (vermelho) e reversão (verde) após exposição a superfície pulverizada com o piretróide BIFENTOL 200 SC®. (A) = adulto, (J)=jovem



Discussão

No presente estudo foram caracterizadas as reações comportamentais do escorpião *T. stigmurus* induzidas pela exposição a inseticida piretróide, tendo bifentrina como princípio ativo. A ausência de fuga ao primeiro contato com a superfície tratada indica que o escorpião *T. stigmurus* não foi capaz de reconhecer de imediato o produto usado, em ambas as fases do desenvolvimento. No entanto, o registro da maioria dos animais adultos, mas não dos jovens, após 24hrs nos abrigos tratados, sugere que esses indivíduos apresentam susceptibilidade diferencial ao produto, reagindo de maneira diversa ao reconhecimento e, conseqüentemente, à seleção de locais tratados como abrigo. É possível que os jovens sejam mais suscetíveis ao efeito irritante dos piretrióides, procurando evitar a permanência nesses locais. A saída de escorpiões de seus abrigos devido a ação irritante dos piretróides tem sido sugerida por outros autores (Ramsey et al., 2002, Desneux et al., 2007, Albuquerque et al., 2009), assim como documentada em vários insetos, tais como os das ordens Hymenoptera, Isoptera, e Hemiptera (Knight e Rust 1990, Su e Scheffran 1990, Hostetler e Brenner 1994, Romero et al., 2009). Isso sugere que esses organismos possuem mecanismos de reconhecimento que induzem a reações comportamentais que reduzem a exposição aos inseticidas. O comportamento de elevação de pernas e limpeza dos pentes e pedipalpos observado entre os animais que tiveram contato com o inseticida, contrastando com o comportamento dos escorpiões dos grupos controles, onde os animais permaneciam no abrigo com pernas e pedipalpos retraídos junto ao corpo, sinaliza mais uma tentativa de reduzir a interação com o inseticida. Esse comportamento juntamente com a resistência fisiológica inata dos animais, pode contribuir para as falhas no tratamento com uso de inseticidas no controle de escorpiões, como ocorre com baratas (Haynes K.F, 1988, Hostetler e Brenner 1994).

Curiosamente, embora tivessem menor contato com o inseticida comparado aos adultos, uma vez que houve maior taxa de evasão entre os jovens, 96% dos indivíduos imaturos de *T. stigmurus* apresentaram sintomas de intoxicação, mostrando que os indivíduos jovens são mais suscetíveis a ação do veneno. Entre os adultos esse índice foi de 93%, o que sugere que os indivíduos dessa espécie são altamente suscetíveis a bifentrina embora consiga reverter o processo de intoxicação em 67% dos adultos e 43% dos

jovens. Uma resposta comportamental similar foi observada na linhagem susceptível de *Cimex lectularius* (Linnaeus, 1758) (Heteroptera: Cimicidae) exposto a deltametrina que apresentaram altos índices de intoxicação mesmo evitando contato prolongado com a superfície tratada (Romero et al., 2009). A primeira indicação observável de alterações comportamentais indicando o processo de intoxicação ocorreu na atividade locomotora com o indivíduo apresentando movimentos cambaleantes, seguido por tremores nos apêndices e pela modificação do posicionamento, com o animal ficando em decúbito dorsal. Essas alterações comportamentais de locomoção seguem o padrão descrito para outros artrópodes expostos a piretróides (Tooming et al., 2014, Guedes et al., 2016) e advêm da ligação com a subunidade α do canal de sódio levando a um retardo na sua abertura (ativação) e no seu fechamento (inativação) alterando assim, a função normal do nervo e levando a um estado estável hiperexcitável (Palmquist et al, 2012). Contudo, essas reações são altamente dependentes da concentração (Baatrup et al., 1993; Desneux et al., 2007; Jones e Bryant, 2012) e do princípio ativo do veneno (deltametrina, permetrina, cipermetrina, bifentrina (Santos et al., 2007, Thatheyus e Selvam, 2013). Nesse trabalho utilizou-se a dose letal, indicada pelo fabricante para uso do Bifentol 200 SC® em controle de escorpiões, correspondendo a Bifentrina a 20% p/v, equivalente a 0,06% de ingrediente ativo, o que justifica os altos índices de intoxicação observados (>90%). No entanto, a elevada frequência de reversibilidade da toxicidade observada nos animais em até quinze dias sugere uma alta capacidade dessa espécie em detoxificar o produto. Reversões no processo de intoxicação em geral estão associadas a eliminação ou redução da atividade do inseticida, podendo estar associada ao mecanismo de destoxificação metabólica do piretróide. A destoxificação geralmente é causada pela ligação um grupo polar reativo (ex. -OH, -SH, -NH₂, -COOH) na molécula do composto químico, tornando-a mais solúvel em água. Em seguida ocorrem reações de hidroxilação mediadas por enzimas através do sistema enzimático (monoxigenases dependentes de citocromo P-450, esterases e glutathione s-transferases) e reações de conjugação (Li et al., 2007, Hemingway & Ranson 2000).

Pouco estudado entre os escorpiões, a descrição do efeito intoxicante decorrente da exposição a inseticida ocasionando alterações comportamentais só foi descrita nas espécies *Tityus serrulatus* e *Tityus bahiensis*. De acordo com Carvalho e Luna (1995) a exposição de *T. serrulatus* a 5 ml da solução com Diazinon ME (0,3%) por 60min,

induziu uma resposta inicial de lentidão aos estímulos, espasmos e o dorso voltado para o substrato. Eventos similares foram registrados em *T. bahiensis* e *T. serrulatus* após contato com delgada camada de pó de Neocide (Magalhães, 1955). Em outros aracnídeos como nas aranhas *Pardosa amentata* (Baatrup e Barley, 1993), *Salticus scenicus* (Clerck, 1757), e *Rabidosa rabida* (Walckenaer, 1837) a exposição à cipermetrina induziu redução da atividade locomotora e a falta de coordenação dos movimentos (Tietjen e Cady, 2007).

Além da reversão, o aumento da tolerância a bifentrina pode ter contribuído para baixa taxa de letalidade de *T. stigmurus*. Essa espécie tem como principal fonte de alimento a barata *Periplaneta americana*, combatida constantemente com inseticidas piretróides. Isso pode aumentar o risco de transferência para o predador, permitindo a bioacumulação do produto no animal. Além disso, os escorpiões procuram como locais de abrigo áreas infestadas com baratas e, portanto, ficam indiretamente expostos a esses produtos. Esses fatores podem ter tornado-os tolerantes ao inseticida como ocorre em outros organismos, a exemplo de *Pimephales promelas* da família Cyprinidae e gênero *Pimephales*, conhecido como peixinhos-de-cabra (Muggelberg et al., 2016). Para avaliar o risco de transferência trófica de piretróides, esses autores testaram a ingestão de *Hyaella azteca* resistente à permetrina durante quatro dias por *P. promelas*. Após esse período foi medida a bioacumulação de permetrina e seus produtos de biotransformação em tecidos do peixe, evidenciando a bioacumulação do produto no predador.

Em resumo, os resultados obtidos nesse trabalho evidenciam alterações na atividade motora de *T. stigmurus*, possivelmente decorrente dos efeitos tóxicos do inseticida piretróide (Bifentol 200), embora essas alterações sejam, na maioria das vezes revertidas. Uma vez que não foram registrados movimentos de fuga dos locais tratados com o inseticida, sugerimos que não há efeito repelente do produto, mas existe um efeito irritante para os jovens desde que os animais não permanecem em abrigos com o produto. Finalmente, esses resultados reforçam a sugestão de que alterações comportamentais são indicadores sensíveis de estresse químico, podendo ser usado para avaliar os efeitos tóxicos de contaminantes ambientais em muitos organismos.

Referências

- Albuquerque, C. M. R., Barbosa, A. M. O. & Iannuzzi, L.(2009). *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones; Buthidae): response to chemical control and understanding of scorpionism among the population. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42, 255-259. doi.org/10.1590/S0037-86822009000300004 .
- Albuquerque, C. M. R., Neto, S., DeLima, P., Amorim, M. L. P. & Pires, S. C. V.(2013). Pediatric epidemiological aspects of scorpionism and report on fatal cases from *Tityus stigmurus* stings (Scorpiones: Buthidae) in State of Pernambuco, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46, 484-489. doi.org/10.1590/0037-8682-0089-2013
- Altman J. (1974) Observational study of behaviour: sampling methods. *Behaviour*. 49, 227-267.
- Baatrup E. & Bayley M. (1993). Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on the locomotor activity of the wolf spider *Pardosa amentata*: Quantitative analysis employing computer-automated videotracking. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2, 138-52, doi: 10.1006/eesa.1993.1046.
- Badiou, A., M. Meled, and L. P. Belzunces. (2008). Honeybee *Apis mellifera* acetylcholinesterase a biomarker to detect deltamethrin exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69, 246–253, doi:10.1016/j.ecoenv.2006.11.020.
- Bawaskar, H.S & P.H. Bawaskar.(2012). Scorpion Sting :Update. *JAPI*, 60, 46-55.
- Braga, I. A. & Valle, D. (2007).Inseticidas, mecanismos de ação e resistência. *Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 16.279-293.
- Carvalho, M.S.L. & Luna, M.A.G. (1995). Avaliação laboratorial do efeito do Diazinon microencapsulado em escorpiões amarelos (*Tityus serrulatus*). In: Congresso da sociedade brasileira de medicina tropical, 21, São Paulo, SP. *Resumos*. São Paulo,2-9.

Crawley, S. E., Gordon, J. R., Kowles, K. A., Potter, M. F. & Haynes, K. F. (2017). Impact of sublethal exposure to a pyrethroid-neonicotinoid insecticide on mating, fecundity and development in the bed bug *Cimex lectularius* L. (Hemiptera: Cimicidae). *Plos one*, 12,5., doi: 10.1371/journal.pone.0177410.

Carvalho-Neto C., Alves Filho, P. G. & Yassuda, C. R. W. (1994) Ensaio de campo no controle de escorpiões (*Tityus serrulatus*) empregando Diazinon microencapsulado, na cidade de Aparecida, SP. In XXX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.,1994.

Chippaux, J.P & Goyffon, M. (2008). Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. *Acta Tropica*. 107, 71-79. doi:[10.1016/j.actatropica.2008.05.021](https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.05.021).

Del-Claro, Kleber. (2010). Introdução à Ecologia Comportamental : um manual para o estudo do comportamento animal. (1. Ed). — Rio de Janeiro : Technical Books,.

Desneux N., Decourtye, A. & Delpuech J-M, (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review Entomology* , 52, 81–106, doi: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091440.

David M. Soderlund and Jeffrey R. Bloomquist. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides . *Ann. Rev. Entomol.* 1989. 34:77-9.

Dethier VG, Browne LB, Smith CN ,(1960). The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. *Journal of Economic Entomology* , 53: 134–136.

Guedes, R.N.C., Smagghe, G., Stark, J.D.& Desneux, N. (2016).Pesticide-Induced Stress in Arthropod Pests for Optimized Integrated Pest Management Programs . *Annual Review Entomology*, 61, 43–62. doi: [org/10.1146/annurev-ento-010715-023646](https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023646).

Haynes, K.F. (1988). Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Review Entomology*. 33, 149–68, doi: 10.1146/annurev.en.33.010188.001053.

Hemingway, J. & Ranson, H. (2000). Insecticide Resistance in Insect Vectors of human disease. *Annual Review of entomology*, 45; 371-391, doi: org/10.1146/annurev.ento.45.1.331

Hemingway, J., Hawkes, N., Prapanthadara, L., Indrananda J. & Ranson, H. (1998). The role of gene splicing, gene amplification and regulation in mosquito insecticide resistance. *The Royal Society*, 353, 19-23, doi: 10.1098/rstb.1998.0320

Henry M, Beguin M., Requier F, Rollin O., Odoux J.F., Aupinel P, et al. (2012). A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science*. 336, 348–50.

Hostetler, M.E., & Brenner, R.J.. (1994). Behavioral and physiological resistance to insecticides in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae): an experimental reevaluation. *Journal of Economic Entomology*, 87, 885-893.

Jones S.C., & Bryant J.L. (2012). Contact toxicity and residual efficacy of Indoxacarb against the European earwig (Dermaptera: Forficulidae). *Insects*. 3, 593–600. Li, X., Schuler, M. A., & Berenbaum, M. R. (2007). Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology*, 52, 231-253, doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151104.

Magalhães, O. (1946). Escorpionismo: Emprego do “Dieltrin” no combate aos escorpiões. *Resenha clínico-científica*. 24, 184-185.

Marcussi, S. , Arantes, E. C., E.C., Soares , A. M.(2011). Escorpiões: biologia, envenenamento e mecanismos de ação de suas toxinas. (1° ed). Ribeirao Preto, SP – *FUNPEC-Editora*,

Martin, P & Bateson, P. (2007). *Measuring Behaviour – an introductory guide*. New York: Cambridge University Press. (2° ed), 200p.

Miao,J., Reising, Guoping D.D., Li, G., & Wu1, Y. (2016). Sublethal Effects of Insecticide Exposure on *Megacocta cribraria* (Fabricius) Nymphs: Key Biological Traits

and Acetylcholinesterase Activity. *Journal of Insect Science*. 16, 99; 1–6. doi: 10.1093/jisesa/iew083.

Muggelberg, L. L., Hartz, K. E. H., Nutile, S. A., Harwood, A.D., Heim, J. R., Derby, A. P., Weston, D. P., Lydy, M. J. Do Pyrethroid-Resistant *Hyalomma* *Azteca* Have Greater Bioaccumulation Potential Compared to Non-Resistant Populations? Implications for Bioaccumulation in Fish. 375-382. doi: 10.1016/j.envpol.2016.09.073.

Naqqash, M.N., Gökçe, A., Bakhsh, A.. (2016). *Parasitology Research*,115: 1363. doi:10.1007/s00436-015-4898-9.

Knight, R. L., & M. K. Rust. (1990). Repellency and efficacy of various insecticides against foraging ant workers in laboratory colonies of the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae), *Journal of Economic Entomology*, 83, 1402–1408.

Oliveira, M.P.A.D., & Ferreira, R.L. (2014). Aspects of the Behavior and Activity Rhythms of *Rowlandius potiguar* (Schizomida: Hubbardiidae). *PLoS ONE*. 9, e91913, doi: org/10.1371/journal.pone.0091913

Palmquist, K., Salatas, J & Fairbrother, A. (2012). Pyrethroid Insecticides: Use, Environmental Fate, and Ecotoxicology, *Insecticides - Advances in Integrated Pest Management*, Dr. Farzana Perveen (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/29495.

Ramires, E. N., Assis Marques, F., Navarro-Silva, M. A. (2011). Chemical control of spiders and scorpions in Urban Areas. *Intech Open Access Publisher*. 4. 356-63. doi: 10.5772/16562.

Ramsey, J. M., Salgado, L., Cruz-Celis, A., Lopez, R., Alvear, A. L., & Espinosa, L. (2002). Domestic scorpion control with pyrethroid insecticides in Mexico. *Medical and veterinary Entomology*, 16, 356-363.

Ranson H., N'Guessan R., Lines J., Moiroux N., Nkuni Z. & Corbel, V. 2011. Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? *Trends in Parasitology*, 27, 91-98, doi: 10.1016/j.pt.2010.08.004.

Rein, J. O. (2017). The Scorpion Files. Disponível em: <http://scorpionfiles.blogspot.com.br/> Acesso em: 05 fev. 2017 .

Romero, A., Potter, F.M., & Haynes, K.F. (2009). Behavioral Responses of the Bed Bug to Insecticide Residues. *Journal of Medical Entomology* ,46, 51-57.

Ross, L. K. (2010). Confirmation of the parthenogenesis in the medically significant, synanthropic scorpion *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae). *Revista Ibérica de Aracnología*, 18, 115-121.

Santos, M.A.T., Areas, M.A., & Reyes, F. G .R. (2007). Piretróides - uma visão geral. *Alimentos e Nutrição, Araraquara*, 18, 339-349.

Sokhna ,C., Ndiath ,M.O., Rogier ,C. (2013). The changes in mosquito vector behaviour and the emerging resistance to insecticides will challenge the decline of malaria. *Clinical Microbiology Infect.* 19, 902-7, doi: 10.1111/1469-0691.12314.

Su, N.-Y., and R. H. Scheffran. (1990). Comparison of eleven soil termiticides against Formosan subterranean termite and eastern subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of economic entomology* .83,. 1918-1924.

Sfara V, Mougabure-Cueto GA, Zerba EN, Alzogaray RA (2013) Locomotor Behaviour of *Blattella germanica* Modified by DEET. *PLoS ONE* 8(12) :e83433. doi.org/10.1371/journal.pone.0083433.

Sydney E. Crawley, Katelyn A Kowles Jennifer R Gordon, Michael F Potter, Kenneth F Haynes. (2017). Behavioral effects of sublethal exposure to a combination of β -cyfluthrin and imidacloprid in the bed bug, *Cimex lectularius* L. 73, 3, 558-603,

Thatheyus, A.J., Deborah A. & Gnana Selvam. (2013). Synthetic Pyrethroids: Toxicity and Biodegradation. *Applied Ecology and Environmental Sciences*. 1, 33-36. doi: 10.12691/aees-1-3-2.

Tooming E., Merivee, E., Must, A., Sibul, I. & Williams, I. (2014). Sub-lethal effects of the neurotoxic pyrethroid insecticide Fastac.50E on the general motor and locomotor activities of non-targeted beneficial carabid beetle *Platynus assimilis* (Coleoptera:Carabidae). *Pest Management Science*, 70, 959–966.

van Dame R., Meled M., Colin M-E, & Belzunces L.P. (1995). Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. Exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 14, 855–860.

Tietjen W. J & Cady AB, (2007). Sublethal exposure to a neurotoxic pesticide affects activity rhythms and patterns of four spider species. *Journal of Arachnology*, 35:396–406, doi.org/10.1636/S04-62.1.

**5 ARTIGO 2 Letalidade ou dispersão - Como reage o escorpião urbano
Tityusstigmurus (Scorpiones: Buthidae) a locais pulverizados com Bifentrina**

Short Communication

A ser submetido no periódico Acta Ethologica– Qualis B1 (Fator de Impacto =1.2)

Adriana Barbosa dos Santos¹, Cleide Maria Ribeiro de Albuquerque¹

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Departamento de Zoologia,
Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 -
Cidade Universitária, 50670-901. Brazil.

Autor para correspondência: adrianasantos123@hotmail.com

Abstract: Chemical control currently is the most used method to combat scorpions, although its efficiency is questionable. This study evaluates the dispersal, lethal and residual potential of the bifenthrin on juveniles and adults of *T. stigmurus*, a species of medical importance in Brazil. Also was investigated if age and weight interfered on those responses. In laboratory trials, the animals were put in arenas with shelters treated with the insecticide BIFENTOL diluted according to the fabricant recommendation (4ml/L) and non treated shelters. the results showed that juveniles were more sensitive to the insecticide, presenting major rejection to abide on the treated shelters (70%) and major mortality (57%) when copared to adults (36% and 43% respectively). The weight was not relevant in these responses. There were few dispersal responses registered when the site was sprayed after the animal installed itself in the shelter and low residual power with animals showing intoxication symptoms until seven days after the shelter was treated. The low mortality rates and low residual effect of the product suggests that BIFENTOL is little effective on the control of *T. stigmurus* when spraying infested sites.

Keywords: Arachnida; Pyrethroid; Mortality; behavior; intoxication

Resumo: O controle químico atualmente é o método mais usado para combater escorpiões, embora sua eficiência seja questionável. Este estudo avalia o potencial dispersivo, letal e residual da bifentrina em juvenis e adultos de *T. stigmurus*, uma espécie de importância médica no Brasil. Também foi investigado se a idade e o peso interferiram nessas respostas. Em ensaios laboratoriais, os animais foram colocados em arenas com abrigos tratados com o inseticida BIFENTOL diluído de acordo com a recomendação do fabricante (4ml / L) e abrigos não tratados. os resultados mostraram que os juvenis eram mais sensíveis ao inseticida, apresentando maior rejeição para abrigar abrigos tratados (70%) e maior mortalidade (57%) quando comparados aos adultos (36% e 43%, respectivamente). O peso não era relevante nessas respostas. Houve poucas respostas de dispersão registradas quando o local foi pulverizado depois que o animal se instalou no abrigo e baixa poder residual com animais que apresentavam sintomas de intoxicação até sete dias após o tratamento do abrigo. As baixas taxas de mortalidade e o baixo efeito residual do produto sugerem que o BIFENTOL é pouco efetivo no controle de *T. stigmurus* ao pulverizar locais infestados.

Palavras-chave: Aracnída; Piretroíde; Mortalidade, Comportamento; intoxicação

Short running: Reações de *T. stigmurus* à bifentrina

Autor para correspondência: adrianasantos123@hotmail.com

Short Communication

Letalidade ou dispersão - como reage o escorpião urbano *Tityus stigmurus*

(Scorpiones: Buthidae) a locais pulverizados com Bifentrina

Em vários países tropicais, acidentes com animais peçonhentos constituem um problema de saúde pública geralmente negligenciado (Omar, 2013, Chipaux, 2015). Dentre esses animais, os escorpiões são amplamente distribuídos causando acidentes fatais em várias partes do mundo, como nas Américas, Norte da África, Oriente Médio e Sul da Ásia (Ramsey, 2005, Albuquerque et al., 2013, Isbister e Bawaskar, 2014, Coorg et al., 2017). A inexistência de uma metodologia ou um produto específico para o combate efetivo a locais infestados por esses aracnídeos tem tornado o controle dos escorpiões uma tarefa árdua e desafiadora, sendo o controle químico com inseticida um dos meios mais utilizados nesse processo (Ramires et al., 2011).

Os piretróides estão entre os pesticidas mais frequentemente usados no controle de praga sendo encontrados em diferentes formulações. Apesar de menos danoso ao

ambiente comparado aos organofosfatos e carbamatos, estudos recentes tem indicado que os piretróides podem ser potencialmente perigosos para reprodução do homem, podendo reduzir a produção de espermatozóides (Meeker et al., 2008; Joanna Jurewicz et al, 2015) já tendo sido encontrado, inclusive, no leite materno (WHO, 2005). Também preocupante é o registro da presença de resíduos de piretróides na urina de grande parte da população em geral, decorrente da ingestão desse inseticida na alimentação ou sua utilização no ambiente doméstico (Hénault-Ethier, 2015) . Assim, o uso de piretróides no controle de escorpiões em ambiente urbano, tanto no domicílio como no peridomicílio pode contribuir no contato humano com o produto e suas consequências. Portanto, é fundamental conhecer a real eficiência dos piretróides sobre o combate a esses artrópodes. A eficácia desse método contudo é muito controverso, com relatos de maior capacidade dispersora do que letal, aumentando grandemente o risco de acidentes devido ao desalojamento desses animais (Ramsey et al., 2002, Albuquerque et al., 2009).

Tityus stigmurus (Thorel, 1876) é uma espécie de escorpião responsável por inúmeros casos de escorpionismo no Brasil com elevado número de acidentes anuais, incluindo óbitos em crianças (Lira-da-Silva, 1998, Lira-da-Silva, 2000, Albuquerque et al., 2009). Visando contribuir para o manejo dessa praga urbana, nesse trabalho avaliou-se, em laboratório, aspectos relacionados à resposta de *T.stigmurus* a locais pulverizados com Bifentol com ênfase nos efeitos dispensor, letal e residual. Avaliou-se também se a idade e a massa corporal dos animais influenciava nessas respostas, comparando-se essas respostas em jovens e adultos.

Os experimentos foram realizados em arenas plásticas redondas (62cm de diâmetro; 30cm de altura) tendo como substrato uma cobertura de areia de 5cm. O espaço da arena foi dividido em duas partes de igual tamanho sendo denominados de (A) área tratada e (B) não tratada. A área tratada continha dois abrigos (telhas cerâmica/barro tipo encaixe, cortada ao meio, dispostas paralelas e inclinadas) e paredes laterais revestidas com papelão.

Os abrigos foram pulverizados com Bifentol 200 SC® contendo 20% de Bifentrina p/v como ingrediente ativo. O produto foi preparado de acordo com as instruções contidas no rótulo (4ml/L de água) para controle de escorpiões, sendo aplicado com pulverizador manual intrajet (Grarani, 750 ml). A área não tratada continha material similar, pulverizado apenas com água. Antes de todos os experimentos jovens e adultos foram individualmente marcados com tinta atóxica, pesados em balança analítica Modelo: METTLER AE 260 Marca: Delta Range.

O efeito desalojante do inseticida foi avaliado colocando-se cinco animais sob os abrigos dispostos em arena similar à descrita acima e deixando para acomodação por 15min. Para acompanhar o comportamento de cada indivíduo, os escorpiões foram previamente marcados com tinta atóxica. Após esse período, o local foi pulverizado com Bifentrina (50ml), registrando-se as reações de fuga ou permanência no abrigo. O número de animais que saíram da área pulverizada a procura de novo local em até 60min após a pulverização foi considerado para a estimativa de dispersão. Foram realizadas quatro réplicas desse experimento para jovens e adultos, totalizando 40 escorpiões.

Considerando que os animais do experimento de dispersão poderiam não ter tido contato direto com o inseticida, 60 novos escorpiões foram distribuídos em igual proporção entre adultos e jovens e usados para os testes de mortalidade. Nesses experimentos, os abrigos foram pulverizados 2h antes dos testes e os animais foram liberados no ambiente de modo similar ao descrito acima. Para simular uma situação mais aproximada ao que ocorre nos tratamentos de áreas infestadas, onde não se conhece o tempo real de contato do animal com o produto, os escorpiões foram deixados 24h na arena. Após esse período, os escorpiões foram retirados, individualizados em recipientes de plásticos transparente (500ml), contendo água e abrigo, sendo alimentados semanalmente com baratas da espécie *Phoetalia circumvagans*(Burmeister, 1838) Esses animais foram usados para o cálculo da taxa de mortalidade em observações de um, sete, 15, 30, 60 e 90 dias após o início dos testes. Considerou-se como alta atividade letal do inseticida uma taxa de mortalidade total igual ou superior a 95% ao final das observações, baseado na DL máxima. Experimentos concomitantes adicionais (n=10) foram realizados para melhor validação dos dados obtidos (controle), em arenas com abrigos sem qualquer tratamento, seguindo-se o mesmo protocolo descrito.

Nos experimentos para determinação do efeito residual do produto, cinco escorpiões foram colocados individualmente por 60min sobre a superfície da telha pulverizada, sete e 15 dias antes dos testes. Não foram realizados testes após esse período, devido a falta de sinais de toxicidade do inseticida nos testes de 15 dias.

O efeito desalojante foi expresso em termos de frequência de ocorrência. Um teste de qui quadrado foi utilizado para comparar diferenças entre jovens e adultos. Para as análises da taxa de mortalidade e efeito do peso, os dados foram inicialmente testados quanto a homocedasticidade e normalidade usando-se o método de Shapiro–Wilk, seguindo-se a Teste G. As análises estatísticas foram realizadas usando-se o software BioEstat 5.0, admitidos como níveis de significância valores de $p \leq 0,05$.

Um resumo geral dos dados obtidos ao longo do trabalho sobre o efeito do bifentol 200 SC® na dispersão, quantidade de indivíduos jovens e adultos com sintomas de intoxicação, mortalidade estão apresentados na Tabela 1. Três reações diferentes foram registradas em até 60min após a pulverização do local de abrigo com inseticida:

dispersão, deslocamento sem sair do abrigo e imobilidade. A taxa de dispersão dos escorpiões foi baixa com apenas 20% (adultos) e 25% (jovens) deixando os abrigos após a pulverização. Dentre os que permaneceram nas telhas, os adultos foram mais sensíveis ao tratamento deslocando-se do seu local de origem para outro ponto no mesmo abrigo numa proporção 16% maior do que os jovens. Ainda, cerca de 44% dos adultos e 60% dos jovens que permaneceram nos abrigos, ficaram imóveis sem qualquer sinal de perturbação pelo inseticida. No presente estudo, no grupo controle os escorpiões após terem escolhido o abrigo permaneceram imóveis por todo período de observação. O baixo efeito dispersor de *T.stigmurus* exposto a bifentrina foi concordante com os resultados obtidos por Ramsey et al., (2002) em estudo de campo no México usando bifentrin em pó molhável (10%) com aplicações de 50mg a.e.m². Segundo esses autores, nenhuma excitação foi observada em *Centruroides limpidus limpidus* (Wood, 1863) e *Vaejovis mexicanus smithi* (Pocock, 1902), mesmo quando o inseticida foi aplicado diretamente sobre o animal. Contudo, efeito dispersor e irritante sobre escorpiões tem sido sugerido para organofosforados e piretróides em outros estudos (Shutz et al., 1998, Carvalho-Neto et al., 1994, Albuquerque, et al., 2009) com o indicativo de que. O efeito desalojante pode aumentar o contato com a população humana elevando o número de acidentes (Carvalho-Neto et al., 1994; Nunes et al. 2000). O efeito letal do bifentol variou com a estágio de desenvolvimento, sendo significativamente maior entre jovens (57%) comparado aos adultos (43%) ($G= 329.35$; $p < 0,001$), mas não teve relação com o peso do indivíduo dentro de cada fase [jovens ($t=0,1122$, $p=0,91$) e adultos ($t=0,4707$, $p=0,65$)]. Apenas um adulto foi encontrado morto um dia após ter sido retirado da arena. Entre os adultos, indivíduos mortos foram registrados até 15 dias com 7% a mais na primeira semana. O efeito letal entre os jovens também foi maior na primeira semana e se estendeu até 30 dias. Albuquerque et al.,(2009) no ano de 2005 em observações de campo na cidade do Recife, monitorou a incidência de escorpiões em 1, 7, 15 e 30 dias, em 69 locais após tratamento com o inseticida Demand 2.5 CS (Lambda-cyhalotrina), avaliando a frequência e mortalidade desses animais. Por se tratar de estudo de campo, a taxa de infestação inicial não era conhecida, sendo assumido que 100% das residências tivesse ocorrência de escorpiões. Segundo esses autores, após o tratamento com inseticida 58% registraram a presença de escorpiões com apenas 7% dos animais tendo sido encontrados mortos, ao final de 30 dias de observações. Ao contrário, Shutz et al., (1998) em bioensaios com *T. serrulatus*

verificou que após a exposição dos escorpiões aos inseticidas Carbamato Ficam 80% W (Bendiocarb), e Piretróides K-Othrine 50 CS (Deltamethrin) e Demand 2.5 CS (Lambda-cyhalotrina) não houve mortalidade significativa.

Nas condições testadas nesse trabalho, o efeito residual do produto teve duração de apenas 07 dias. Dos 10 adultos expostos a superfície tratada sete dias antes do experimento, 30% apresentaram sintomas de intoxicação, com reversão dos sintomas em 100% destes em até sete dias. Dentre os jovens, dos 10 indivíduos avaliados, 40% ficaram intoxicados, com apenas 25% revertendo os sintomas. Os demais 75% morrem em até sete dias.

Tabela 1. Reações de indivíduos de *Tityus stigmurus* expostos ao inseticida piretróide Bifentol 200 SC®. Dados apresentados em termos percentuais.

Reações	Jovens	Adultos
Dispersão	20%	25%
Mortalidade	57%	43%

Após 15 dias tanto adultos quanto jovens não apresentaram qualquer sinal de intoxicação decorrente do contato com o inseticida. Esses resultados apontam que o produto possui um baixo efeito residual podendo fazer efeito em até sete dias após a aplicação. Esse dados, diferente dos de Stutz et al., (1998) com a utilização de outros piretróides (Bendiocarb), K-Othrine 50 CS (Deltamethrin) e Demand 2.5 CS (Lambda-cyhalotrina) onde o Bendiocard apresentou melhores resultados após 30 dias de aplicação. O presente estudo provê informações sobre o potencial do uso da bifentrina no controle do escorpião *T. stigmurus* através da pulverização de ambientes infestados. Os resultados indicam que os jovens são mais susceptíveis ao produto com maior mortalidade e dispersão, do que os adultos. No entanto, esses índices são considerados baixos para recomendação de seu uso para controle, Além disso, a ocorrência de reversão dos sintomas é um forte indicativo do desenvolvimento de resistência que pode se acentuar com maior uso desse inseticida.

Referências

- Albuquerque, C. M. R., Barbosa, A. M. O. & Iannuzzi, L.(2009). *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones; Buthidae): response to chemical control and understanding of scorpionism among the population. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42, 255-259.
- Albuquerque, C. M. R., Neto, S., DeLima, P., Amorim, M. L. P. & Pires, S. C. V.(2013). Pediatric epidemiological aspects of scorpionism and report on fatal cases from *Tityus stigmurus* stings (Scorpiones: Buthidae) in State of Pernambuco, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46, 484-489.
- Carvalho Neto, C.; Alves Filho, P. G. & Yassuda, C. R. W. (1994). Ensaio de campo no controle de escorpiões (*Tityus serrulatus*) empregando Diazinon microencapsulado, na cidade de Aparecida, SP. In *XXX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*.
- Chippaux, J-P. (2015) Epidemiology of envenomations by terrestrial venomous animals in Brazil based on case reporting: from obvious facts to contingencies. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 21:13.
- Coorg, V., Levitan, R.D., Gerkin, R.D. et al. (2017) Clinical Presentation and Outcomes Associated with Different Treatment Modalities for Pediatric Bark Scorpion Envenomation. *Journal of Medical Toxicology*. 13, 66–70.
- Del-Claro, K. (2010) *Comportamento Animal: um manual para o estudo do comportamento animal.*: Technical Books, 1ed. — Rio de JaneiroHénault-Ethier, L. 2015. Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it. Executive Summary and Scientific Literature Review. Prepared for Équiterre. Montreal, Canada. 68.
- Isbister, G. K., & Bawaskar, H. S. (2014). Scorpion Envenomation . *New england journal of medicine* ; 371:457-63.
- Lira-Da-Silva, RM, Amorim AM, Brazil T.K. (1998) Envenomation by *Tityus stigmurus* in the metropolitan of Bahia, Brazil. *Toxicon* 36:1255.

Lira-Da-Silva, RM, Amorim AM, Brazil T.K. (2000). Envenenamento por *Tityus stigmurus* (Scorpiones; Buthidae) no Estado da Bahia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 33: 289-245.

Meeker, J. D.; Barr, D. B.; Hauser, R., (2008) Human semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary metabolites of pyrethroid insecticides. *Human Reproduction*, 23, 8, 1932-1940.

Nunes, C. S., Bevilacqua P. D. & Jardim, C. C. G. (2000). "Demographic and Spatial Aspects of Scorpionic Accidents in the Northwest Region of Belo Horizonte City, Minas, Gerais, 1993-1996," *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 16, 1, 213- 223

Omar, Hossam El-Din Mohamed. (2013) The biological and medical significance of poisonous animals. *Journal of Biology and Earth Sciences*, 3, 1, 25-41.

Ramsey, J. M., Salgado, L., Cruz-Celis, A., Lopez, R., Alvear, A. L., & Espinosa, L. (2002). Domestic scorpion control with pyrethroid insecticides in Mexico. *Medical and veterinary Entomology*, 16, 356-363.

Stutz W. H, O. Bendeck, J. C. C. Camargo, E. M. Macedo; F. S. Oliveira & R. F. Bonito (1998). "Bioensaio Visando Controle de Escorpionídeos (*Tityus Serrulatus*), através do uso de Bendiocarb, Deltamethrina e Lambdacyhalothrin," *Boletim ABRASCO*, 70, 27.

Who (World Health Organisation) (2005). Safety of Pyrethroids for Public Health Use; WHO/CDS/WHOPEP/GCDPP/2005.10; Communicable Disease Control (CDC) - Prevention and Eradication World Health Organisation Pesticide Evaluation Scheme (WHOPEP) - Protection of the Human. Environment Programme on Chemical Safety (PCS),: Geneva; 77.

6 CONCLUSÕES

O presente estudo avaliou as reações de jovens e adultos do escorpião *Tityus stigmurus* a locais pulverizados com o inseticida Bifentol 200 SC® com ênfase na capacidade de reconhecer e evadir-se dos locais tratados, possíveis reações de intoxicação, dispersão, poder residual do produto e mortalidade. Os resultados obtidos permitem concluir que:

- A maioria dos jovens, mas não dos adultos, foram capazes de reconhecer e evitar os locais tratados. No entanto, esse reconhecimento não é um processo imediato, uma vez que a redução no número de animais em abrigos com inseticida só ocorreu 24h após a pulverização.
- Animais que tiveram contato com o inseticida apresentaram sintomas de intoxicação caracterizado principalmente por alterações na locomoção, tremores nas pernas e pedipalpos, comprometimento na postura com o dorso do corpo ficando em posição ventral e paralisia.
- A reversão dos sintomas em muitos animais indica potencial para detoxificação do inseticida.
- O potencial letal do produto nas condições usadas foi inferior a LD₉₀.
- O produto apresentou um efeito residual muito baixo com registro de letalidade em animais expostos a substratos tratados com apenas sete dias

REFERÊNCIAS

AGUIAR, Ana P. N. et al. **Relationship between litter characteristics and female size in *Tityus stigmurus* (Scorpiones, Buthidae)**. Journal Of Arachnology, [s.l.], v. 36, n. 2, p.464-467, ago. 2008.

ALBUQUERQUE, C. M. R.; BARBOS, A. M. O. ; IANNUZZI, L. ***Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones; Buthidae): response to chemical control and understanding of scorpionism among the population**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 42, 255-259, 2009.

ALBUQUERQUE, C. M. R.; NETO, S., DELIMA, P.; AMORIM, M. L. P. & PIRES, S. C. V. **Pediatric epidemiological aspects of scorpionism and report on fatal cases from *Tityus stigmurus* stings (Scorpiones: Buthidae) in State of Pernambuco, Brazil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 46, p. 484-489. 2013.

AMORIM, N.C. **Resposta do escorpião *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones; Buthidae) ao inseticida termidor 25cs em laboratório**. Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas. 30p. 2007

ANDRADE, R.M. **Coleção aracnológica da UFPE: contribuição para o conhecimento da fauna de escorpiões em Pernambuco**. Trabalho de conclusão de curso (monografia). Bacharelado Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2015.

BAATRUP E. ; BAYLEY M. **Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on the locomotor activity of the wolf spider *Pardosa amentata*: Quantitative analysis employing computer-automated videotracking**. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2, 138-52. 1993.

BRAGA, I. A. & VALLE, D. **Inseticidas, mecanismos de ação e resistência**. Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde, v.16, p. 279-293, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de controle de escorpiões** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 72. 2009.

BRAZIL T. K.; PORTO T. J. **Escorpiões**. Salvador : EDUFBA, 2010.

BRITES-NETO, J. ; BRASIL, J.. **Estratégias de controle do escorpionismo no município de Americana, SP**. BEPA, *Boletim Epidemiológico Paulista (Online)* [online]. vol.9, n.101, pp. 04-15, 2012.

BRITO, L.P., J.G.B. LINSS, T.N. LIMA-CAMARA, T.A. BELINATO, A.A. PEIXOTO, J.B. P. LIMA, D. VALLE, AND A.J. MARTINS. **Assessing the effects of**

Aedes aegypti *kdr* mutations on pyrethroid resistance and its fitness cost. PLoS ONE 8: e60878. 2013.

BRITO-NETO, J.; BRASIL, J.; **Perfil histórico do escorpionismo em americana, São Paulo, Brasil.** Hygeia 9 (17): 158 - 167, 2013.

CARVALHO NETO, C.; ALVES FILHO, P. G. & YASSUDA, C. R. W. **Ensaio de campo no controle de escorpiões (*Tityus serrulatus*) empregando Diazinon microencapsulado, na cidade de Aparecida, SP.** XXX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.,1994.

DAVIES TGE, FIELD LM, USHERWOOD PNR, WILLIAMSON MS. **DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels.** IUBMB Life 59(3):151–162, 2007.

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

DeSOUZA, A.M.; NETO, P.L.S.; LIRA, A.F.A.; ALBUQUERQUE, C.M.R. **Growth and developmental time in the parthenogenetic scorpion *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae).** Acta Scientiarum, v.38, 2016.

DIAS, E.; LIBANIO, S. e LISBOA, M. **Lucta contra Escorpiões.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 17 ,1, 1924.

DIAS, S. C.; CANDIDO, D. M.; BRESCOVIT, A. D. **Scorpions from Mata do Buraquinho, João Pessoa, Paraíba, Brazil, with ecological notes on a population of *Ananteris mauryi* Lourenço (Scorpiones, Buthidae).** Revista Brasileira de Zoologia, v. 23 p. 707-710, 2006.

EICKSTEDT VRD. **Escorpionismo por *Tityus stigmurus* no Nordeste do Brasil (Scorpiones; Buthidae).** Memórias do Instituto Butantan 47/48: 133-137, 1983/84.

FREITAS, G.C.C; VASCONCELOS, S.D. **Scorpion fauna of the island of Fernando de Noronha, Brazil: first record of *Tityus stigmurus* (Thorell 1877) (Arachnida, Buthidae).** Biota Neotropal. 8:235-237. 2008.

HAMMOCK, B. D.; INCEOGLU B.; LANGO J.; JIE JING, CHEN L.; DOYMAZ, F.; ISAAC N. PESSAH. **One scorpion, two venoms: Prevenom of *Parabuthus transvaalicus* acts as an alternative type of venom with distinct mechanism of action.** PNAS, 4; 100(3): 922–927. 2003.

HEMINGWAY J, RANSON H. **Insecticide resistance in insect vectors of human disease.** Annu Rev Entomol 45: 371–391, 2000.

HIGIENE ATUAL. **Combate a Escorpiões: Uma discussão antiga.** Disponível em <<http://higieneatual.blogspot.com.br/2010/03/combate-escorpioes-uma-discussao-antiga.html>> . acesso em 29 jun. 2017.

LATUSZYNSKA J.; LUTY S.; RASZEWSKI G.; PRZEBIROWSKA D.; TOKARSKA-RODAK M.. **Neurotoxic effect of dermally applied chlorpyrifos and**

cypermethrin. Reversibility of changes. Ann. Agric. Environ. Med., v.10, p.197-201, 2003.

LIRA-DA-SILVA, RM, AMORIM AM, BRAZIL TK. **Envenenamento por *Tityus stigmurus* (Scorpiones; Buthidae) no Estado da Bahia.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 33: 289-245, 2000.

LOURENÇO WR., CLOUDSLEY-THOMPSON JL. **Discovery of a sexual population of *Tityus serrulatus*, one of the morphs within the complex *Tityus stigmurus* (Scorpiones, Buthidae).** Journal of arachnology., 27, 154-8. 1999

LOURENÇO, W. R. (2008). **Parthenogenesis in scorpions: some history - new data.** Journal of Venomous Animals e Toxins Including Tropical Diseases, 14(1), 19-44.

LOURENÇO, WILSON R. **Reproduction in scorpions, with special reference to parthenogenesis.** European arachnology, 2000, 71-85, 2000.

MAGALHÃES, O. **Escorpionismo: Emprego do “Dieltrin” no combate aos escorpiões.** Resenha clínico-científica. 24, 184-185, 1946.

MARCUSSI, S.; ARANTES, E. C.; E.C., SOARES , A. M. **Escorpiões: biologia, envenenamento e mecanismos de ação de suas toxinas.** (1° ed). Ribeirao Preto, SP – Ed. FUNPEC-2011.

NISHIKAWA, A.K.; CARICATI, C.P.; LIMA, M.L.; DOS SANTOS, M.C.; KIPNIS, T.L.; EICKSTEDT, V.R.; KNYSAK I, DA SILVA M.H.; HIGASHI, H.G.; DA SILVA, W.D.: **Antigenic cross-reactivity among the venoms from several species of Brazilian scorpions.** Toxicon, v32, p.989–998, 1994

PALMQUIST, K.; SALATAS, J & FAIRBROTHER, A. **Pyrethroid Insecticides: Use, Environmental Fate, and Ecotoxicology,** Insecticides - Advances in Integrated Pest Management, Dr. Farzana Perveen (Ed.), InTech, .p. 251-258, 2012.

POLIS G. A; SISSOM, W.D.**The Biology of Scorpions.** Stanford: Stanford University Press, (Org.). Stanford: Stanford University Press, 1990.

POLIS, G. A.; SISSOM, W. D. Life history. **The Biology of Scorpions**, p. 161-223, 1990.

POSSANI, L.D.; BECERRIL B; DELEPIERRE M.; TYTGAT, J: **Scorpion toxins specific for Na⁺ -channels.** Eur J Biochem. 264: 287-300. 1999.

RAMIRES, E. N.; DE ASSIS MARQUES, F.; NAVARRO-SILVA, M. A.. **Chemical control of spiders and scorpions in Urban Areas.** INTECH Open Access Publisher. 2011.

RAMSEY, J. M.; SALGADO, L.; CRUZ-CELIS, A.; LOPEZ, R., ALVEAR, A. L.; & ESPINOSA, L. **Domestic scorpion control with pyrethroid insecticides in Mexico.** Medical and veterinary entomology, v. 16, p. 356-363, 2002.

REIN, J. O. **The Scorpion Files**. Disponível em: <http://scorpionfiles.blogspot.com.br/>
Acesso em: 26 fev. 2017.

ROSS, L. K. (2010). **Confirmation of the parthenogenesis in the medically significant, synanthropic scorpion *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae)**. Revista Ibérica de Aracnología, 18(1), 115-121, 2010.

SANTOS, M.A.T.; AREAS, M.A.; e REYES, F. G .R. **Piretróides - uma visão geral**. Alimentos e Nutrição, Araraquara, 18, 339-349, 2007.

SFARA V.; MOUGABURE-CUETO G.A.; ZERBA E.N.; ALZOGARAY R.A. **Locomotor Behaviour of *Blattella germanica* Modified by DEET**. PLoS ONE 812 ,83433.2013.

SHAW, E.M.; WADDICOR, M. ; LANGAN, A.M.,. **Impact of cypermethrin on feeding behaviour and mortality of the spider *Pardosa amentata* in arenas with artificial ‘vegetation’**. Pest Manage. Sci., 62: 64-68. 2006.

SODERLUND D. M.; BLOOMQUIST J.R. **Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides**. Annual Review Entomology, 34:77-96, 1989.

SOUZA, C. A. R. DE, D. M. CANDIDO, S. M. LUCAS & A. D. BRESCOVIT. **On the *Tityus stigmurus* complex (Scorpiones, Buthidae)**. Zootaxa 1987:1-38. 2009.

TAHIR, H. M.; BANO, M.; NOOR, T.; IRFAN, M.; NAWAZ, S.; KHAN, S.Y.; MUKHTAR, M. K. **Effect of Thiodan on Survival, Behaviour and Predatory Performance of a Spider, *Plexippus paykulli* (Savigny et Audouin, 1827)**. Pakistan J. Zool., vol. 46(3), pp. 593-600, 2014.

THORELL, T. **Etudes Scorpiologiques**. Atti Soc. Ital. Sci. Nat., 19:75-272. 1877.

TIETJEN, W.J. ; CADY A.B. **Sublethal exposure to a neurotoxic pesticide affects activity rhythms and patterns of four spider species**. Journal of Arachnology 35:396-406 . 2007.

TOOMING E.; MERIVEE, E.; MUST, A.; SIBUL, I.; WILLIAMS, I. **Sub-lethal effects of the neurotoxic pyrethroid insecticide Fastac.50E on the general motor and locomotor activities of the non-targeted beneficial carabid beetle *Platynus assimilis* (Coleoptera:Carabidae)**. Pest Management Science, 70, 959-966.2014.

VIEGAS JUNIOR, C. **Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa no controle químico de insetos**. Química nova, p 390-400, 2003.

VILCINSKAS A.; LUNA-RAMIREZ, K.,; TONK M., RAHNAMAEIAN M. **Bioactivity of Natural and Engineered Antimicrobial Peptides from Venom of the Scorpions *Urodacus yaschenkoi* and *U. manicatus*** .Toxins , 9(1): 22. 2017.

STUTZ W. H, O. BENDECK, J. C. C. CAMARGO, E. M. MACEDO; F. S. OLIVEIRA AND R. F. Bonito, **“Bioensaio Visando Controle de Escorpionídeos (*Tityus serrulatus*), através do uso de Bendiocarb, Deltamethrina e Lambdacyhalothrin,**” Boletim ABRASCO, 70, 27, 1998.

XIANCHUN LI; MARY A. SCHULER; MAY R. BERENBAUM. **Molecular Mechanisms of Metabolic Resistance to Synthetic and Natural Xenobiotics.** Annual Review of Entomology. V. 52:231-253, 2007.

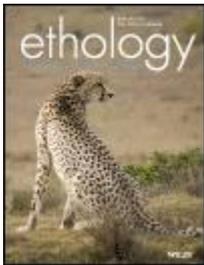
ANEXOS A

Normas da revista Ethology para a submissão do artigo 1. Alterações comportamentais do escorpião *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (SCORPIONES: BUTHIDAE) expostos a inseticida piretróide.



Ethology

© Blackwell Verlag GmbH



Edited By: Jutta Schneider and Susan A. Foster (Editors-in-Chief)

Impact Factor: 1.398

ISI Journal Citation Reports © Ranking: 2016: 47/51 (Behavioral Sciences); 52/162 (Zoology)

Online ISSN: 1439-0310

Author Guidelines

Sections

1. [Submission](#)
2. [Aims and Scope](#)
3. [Manuscript Categories and Requirements](#)
4. [Preparing Your Submission](#)
5. [Editorial Policies and Ethical Considerations](#)
6. [Author Licensing](#)
7. [Publication Process After Acceptance](#)
8. [Post Publication](#)
9. [Editorial Office Contact Details](#)

1. SUBMISSION

Authors should kindly note that submission implies that the content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium.

Once the submission materials have been prepared in accordance with the Author Guidelines, manuscripts should be submitted online at <https://mc.manuscriptcentral.com/ethology>.

The submission system will prompt authors to use an ORCID iD (a unique author identifier) to help distinguish their work from that of other researchers. [Click here](#) to find out more.

[Click here](#) for more details on how to use ScholarOne Manuscripts.

For help with submissions, please contact: ol-eth@gilgamesh.de.

2. AIMS AND SCOPE

International in scope, *Ethology* publishes original research on behaviour including physiological mechanisms, function, and evolution. The Journal addresses behaviour in all species, from slime moulds to humans. Experimental research is preferred, both from the field and the lab, which is grounded in a theoretical framework. The section 'Perspectives and Current Debates' provides an overview of the field and may include theoretical investigations and essays on controversial topics.

Are you a graduate student and would like to receive additional advice on your paper? Identify yourself as a student during the submission process and the editors of *Ethology* will give you extra feedback on your paper. This will have no influence on the outcome of the review process.

3. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS

Ethology publishes articles by scientists from all over the world. It welcomes original contributions from all branches of behavioural research on all species, both in the field and in the laboratory, as well as theoretical investigations. Authors are requested to explain the theoretical framework of their contribution and the general importance of their findings. Perspectives and reviews on current issues, and short essays on controversial topics are especially encouraged.

Perspectives and Current Debates

In the spirit of academic democracy, *Ethology* invites contributions to the sections *Perspectives and Current Debates*. In these sections the editors hope to advance the field through stimulating discussion, clear thinking and logical arguments. The *Perspectives* section includes articles whose aim is to look backward by surveying an ethological topic, theme, concept, or phenomenon, including a critical overview of its major milestones, clear impacts on related fields, and the potential for changing future

avenues in the course of the study of behavioral biology. Colleagues are welcome to submit unsolicited contributions directly to the editorial office, including high quality and generally accessible formal topical reviews from keynote lectures, round table discussions, symposia, and introductory thesis chapters. Alternatively, authors are welcome to discuss their ideas for this format with the *Perspectives and Current Debates* Editor prior to submission.

The *Current Debates* section embraces the argumentative nature and skills of behavioral biologists and aims to push the field forward by inviting opposing, controversial viewpoints and counterintuitive but testable arguments. This forum provides room for positive and constructive exchange of ideas about theoretical, conceptual, methodological, quantitative-statistical, or technological advances and shortcomings that may or may not have contributed to perceived or real advances in behavioral biology. Potential authors are asked to nominate and discuss a theme with the Perspective and Debates Editor, including nominating a colleague to generate a reaction piece. Following an exchange of manuscript drafts and external referee comments, these debates will then be published together. The Current Debates can also involve responses to perspective papers.

Papers, including figures, tables, and literature cited, should be succinct. Debate contributions should be no longer than 2 pages.

4. PREPARING THE SUBMISSION

Cover Letters

Cover letters are not mandatory; however, they may be supplied at the author's discretion.

Parts of the Manuscript

The manuscript should be submitted in separate files: main text file; figures.

Main Text File

The text file should be presented in the following order:

- i. A short informative title containing the major key words. The title should not contain abbreviations (see Wiley's best practice SEO tips);
- ii. A short running title of less than 40 characters;
- iii. The full names of the authors;
- iv. The author's institutional affiliations where the work was conducted, with a footnote for the author's present address if different from where the work was conducted;
- v. Acknowledgments;
- vi. Abstract and keywords;
- vii. Main text;
- viii. References;
- ix. Tables (each table complete with title and footnotes);
- x. Figure legends;
- xi. Appendices (if relevant).

Figures and supporting information should be supplied as separate files.

Authorship

Please refer to the journal's Authorship policy in the Editorial Policies and Ethical Considerations section for details on author listing eligibility.

Acknowledgements

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgements section. Financial and material support should also be mentioned. Thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

Conflict of Interest Statement

Authors will be asked to provide a conflict of interest statement during the submission process. For details on what to include in this section, see the 'Conflict of Interest' section in the Editorial Policies and Ethical Considerations section below. Authors should ensure they liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement.

Abstract

Please provide an abstract of no more than 300 words containing the major keywords.

Keywords

Please provide six keywords. These keywords should not include words in the title.

Main Text

The journal uses British spelling; however, authors may submit using either option, as spelling of accepted papers is converted during the production process.

Footnotes to the text are not allowed and any such material should be incorporated into the text as parenthetical matter.

References

References should be prepared according to the Publication Manual of the American Psychological Association (6th edition). This means in text citations should follow the author-date method whereby the author's last name and the year of publication for the source should appear in the text, for example, (Jones, 1998). The complete reference list should appear alphabetically by name at the end of the paper.

A sample of the most common entries in reference lists appears below. Please note that a DOI should be provided for all references where available. For more information about APA referencing style, please refer to the APA FAQ. Please note that for journal articles, issue numbers are not included unless each issue in the volume begins with page one.

Journal article

Beers, S. R. , & De Bellis, M. D. (2002). Neuropsychological function in children with maltreatment-related posttraumatic stress disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 159, 483–486. doi:10.1176/appi.ajp.159.3.483

Book

Bradley-Johnson, S. (1994). *Psychoeducational assessment of students who are visually impaired or blind: Infancy through high school* (2nd ed.). Austin, TX: Pro-ed.

Chapter in an Edited Book

Borstrøm, I., & Elbro, C. (1997). Prevention of dyslexia in kindergarten: Effects of phoneme awareness training with children of dyslexic parents. In C. Hulme & M. Snowling (Eds.), *Dyslexia: Biology, cognition and intervention* (pp. 235–253). London: Whurr.

Internet Document

Norton, R. (2006, November 4). *How to train a cat to operate a light switch* [Video file]. Retrieved from <http://www.youtube.com/watch?v=Vja83KLQXZs>

Tables

Tables should be self-contained and complement, not duplicate, information contained in the text. They should be supplied as editable files, not pasted as images. Legends should be concise but comprehensive – the table, legend, and footnotes must be understandable without reference to the text. All abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for P-values. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings.

Figure Legends

Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used, magnifications (if applicable) and define/explain all abbreviations and units of measurement.

Figures

It is important that figures are supplied in accepted file formats and meet basic resolution requirements. [Click here](#) for the basic figure requirements for figures submitted with manuscripts for initial peer review, as well as the more detailed post-acceptance figure requirements.

Figures submitted in colour may be reproduced in colour online free of charge. Please note, however, that it is preferable that line figures (e.g. graphs and charts) are supplied in black and white so that they are legible if printed by a reader in black and white. If an author would prefer to have figures printed in colour in hard copies of the journal, a fee will be charged by the Publisher.

Additional Files

Supporting Information

Supporting information is information that is not essential to the article, but provides greater depth and background. It is hosted online and appears without editing or typesetting. It may include tables, figures, videos, datasets, etc. [Click here](#) for Wiley's FAQs on supporting information.

Note: if data, scripts, or other artefacts used to generate the analyses presented in the paper are available via a publicly available data repository, authors should include a reference to the location of the material within their paper.

General Style Points

The following points provide general advice on formatting and style.

- **Acronyms and Abbreviations:** In general, terms should not be abbreviated unless they are used repeatedly and the abbreviation is helpful to the reader. Initially, use the word in full, followed by the abbreviation in parentheses. Thereafter use the abbreviation only.
- **Units of measurement:** Measurements should be given in SI or SI-derived units. Visit the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) website at www.bipm.fr for more information about SI units.
- **Numbers:** numbers under 10 are spelt out, except for: measurements with a unit (8mmol/l); age (6 weeks old), or lists with other numbers (11 dogs, 9 cats, 4 gerbils).
- **Trade Names:** Chemical substances should be referred to by the generic name only. Trade names should not be used. Drugs should be referred to by their generic names. If proprietary drugs have been used in the study, refer to these by their generic name, mentioning the proprietary name and the name and location of the manufacturer in parentheses.

Resource Identification Initiative

The journal supports the Resource Identification Initiative, which aims to promote research resource identification, discovery, and reuse. This initiative, led by the Neuroscience Information Framework and the Oregon Health & Science University Library, provides unique identifiers for antibodies, model organisms, cell lines, and tools including software and databases. These IDs, called Research Resource Identifiers (RRIDs), are machine-readable and can be used to search for all papers where a particular resource was used and to increase access to critical data to help researchers identify suitable reagents and tools.

Authors are asked to use RRIDs to cite the resources used in their research where applicable in the text, similar to a regular citation or Genbank Accession number. For antibodies, authors should include in the citation the vendor, catalogue number, and RRID both in the text upon first mention in the Methods section. For software tools and databases, please provide the name of the resource followed by the resource website, if available, and the RRID. For model organisms, the RRID alone is sufficient.

Additionally, authors must include the RIIDs in the list of keywords associated with the manuscript.

To Obtain Research Resource Identifiers (RRIDs):

1. Use the Resource Identification Portal, created by the Resource Identification Initiative Working Group.
2. Search for the research resource (please see the section titled “Search Features and Tips” for more information).

3. Click on the “Cite This” button to obtain the citation and insert the citation into the manuscript text.

If there is a resource that is not found within the Portal, authors are asked to register the resource with the appropriate resource authority. Information on how to do this is provided in the “Resource Citation Guidelines” section of the Portal.

If any difficulties in obtaining identifiers arise, please contact rii-help@scicrunch.org for assistance.

Example Citations:

Antibodies: "Wnt3 was localized using a rabbit polyclonal antibody C64F2 against Wnt3 (Cell Signaling Technology, Cat# 2721S, RRID: AB_2215411)"

Model Organisms: "Experiments were conducted in *c. elegans* strain SP304 (RRID:CGC_SP304)"

Cell lines: "Experiments were conducted in PC12 CLS cells (CLS Cat# 500311/p701_PC-12, RRID:CVCL_0481)"

Tools, Software, and Databases: "Image analysis was conducted with CellProfiler Image Analysis Software, V2.0 (<http://www.cellprofiler.org>, RRID:nif-0000-00280)"

ANEXO B

Normas da revista *acta ethológica* para a submissão do **Shot Communication-Letalidade ou dispersão - como reage o escorpião urbano *Tityus stigmurus* (Scorpiones: Buthidae) a locais pulverizados com Bifentrina**

Instructions for Authors

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Cost of Color Illustrations

- Online publication of color illustrations is always free of charge.
- For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs of EUR 950 / US\$ 1150 (+ local tax) per article, irrespective of the number of figures in it.

English Language Support

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, and telephone number(s) of the corresponding author
- If available, the 16-digit ORCID of the author(s)

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Text

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.

- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

- LaTeX macro package (zip, 182 kB)

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

Scientific style

References

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).

- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995a, b; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999, 2000).

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work. Order multi-author publications of the same first author alphabetically with respect to second, third, etc. author. Publications of exactly the same author(s) must be ordered chronologically.

- Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 341:325–329

- Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086

- Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

- Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

- Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

- Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

- ISSN LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

- EndNote style (zip, 2 kB)

Tables

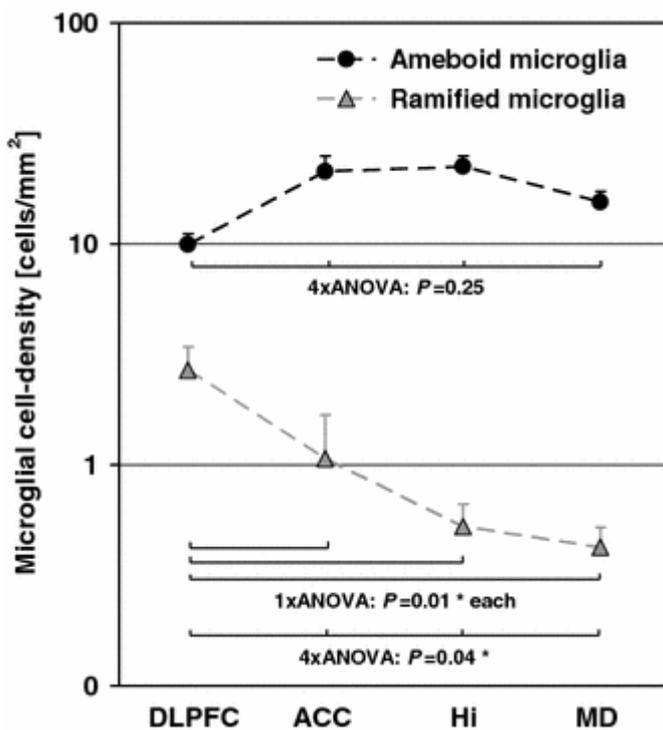
- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork and Illustrations Guidelines

Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

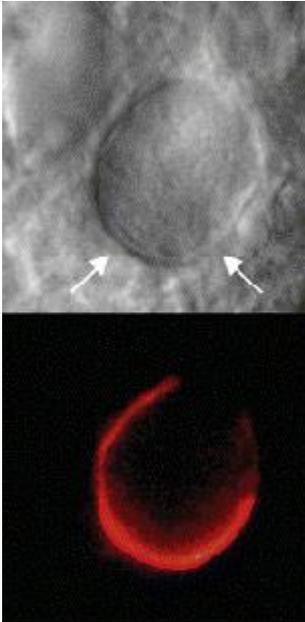
Line Art



- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

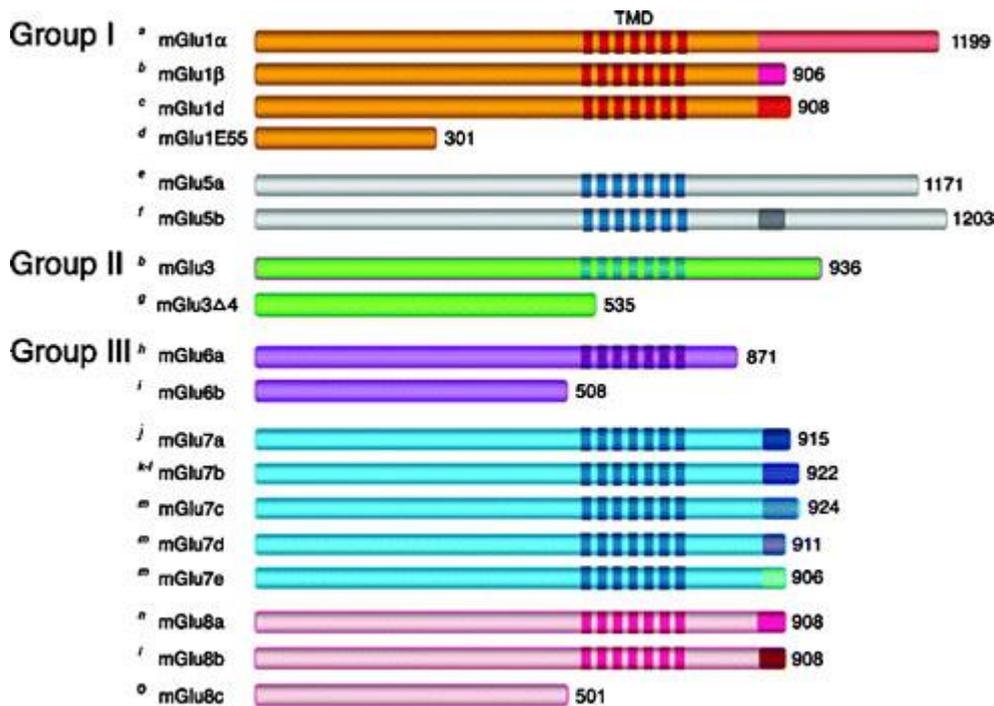
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art



- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures,

"A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- Figures should be submitted separately from the text, if possible.
- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.