

# ESTUDO COMPARATIVO DAS ALTERAÇÕES NOS VENTRÍCULOS DE LARVAS TRATADAS COM ÁCIDO BÓRICO E FIPRONIL. Aline da Silva Cruz, Osmar Malaspina, Elaine Cristina Mathias da Silva-Zacarin. – Morfologia - Ciências Biológicas - Centro de Estudos de Insetos Sociais/Departamento de Biologia – Instituto de Biociências – Campus de Rio Claro.

As abelhas *Apis mellifera* são consideradas importantes insetos polinizadores, especialmente pelo fato de estarem relacionadas com a polinização de cerca de um terço das plantas de interesse econômico. O uso de determinados inseticidas nas plantações geralmente freqüentadas pelas abelhas é altamente prejudicial a elas, o que tem causado o desaparecimento de muitas espécies nas áreas de cultivo em que são aplicados. Dentre estes inseticidas, destaca-se o fipronil que é uma molécula muito eficiente no controle de insetos-praga (BALANCA, DE VISSCHER, 1997) e, por esse motivo, é largamente utilizado por agricultores em importantes culturas no Brasil, como as de cana-de-açúcar, milho, arroz, soja, feijão, batata e trigo, além de ser usado como preservante de madeira (COUTINHO et al., 2005). Essa molécula é um fenilpirazol da segunda geração dos inseticidas que agem na inibição do ácido gama-aminobutírico – GABA – (COLE et al, 1993), um importante neurotransmissor em invertebrados (RAUTH et al., 1990; SATTELLE, 1990). A inibição do GABA causa hiper-excitação, convulsão e paralisia, e, conseqüentemente, provoca a morte do inseto.

Há também a questão dos efluentes químicos que são lançados nos rios por inúmeras indústrias. O ácido bórico, por exemplo, que é encontrado na natureza na forma de boracita e em outras rochas provenientes do Chile, Peru e Estados Unidos, passou a ser amplamente usado por indústrias brasileiras após a sua introdução no país. O lançamento de efluentes destas indústrias contendo ácido bórico, juntamente com outros diversos resíduos, leva à contaminação do ambiente e comprometem a qualidade de vida dos organismos vivos. Além disso, o ácido bórico também é um dos componentes de alguns tipos de inseticidas utilizados no campo.

O emprego das abelhas em estudos toxicológicos é útil na análise da ação de vários compostos químicos nos organismos, o que já foi comprovado por diversos trabalhos que avaliaram as atividades tóxicas destes compostos em *Apis mellifera* (CINTRA, 2001; CARVALHO et al., 2002 a, b). No entanto, estes trabalhos não focalizaram as alterações morfológicas nos órgãos desses insetos, nem no adulto e nem nas suas larvas e raros trabalhos mostram as alterações morfológicas no intestino das abelhas tratadas com agentes químicos (CINTRA, 2001).

Assim sendo, o presente trabalho tem como objetivo analisar comparativamente efeitos toxicológicos de compostos químicos e as alterações que podem provocar nos ventrículos de larvas de operárias de *Apis mellifera*. Foram realizados bioensaios seguindo-se a técnica descrita por Vandenberg e Shimanuki (1987) e Silva (1995), com algumas adaptações: larvas de 1º instar de operárias de *Apis mellifera* foram acondicionadas individualmente em cúpulas de polietileno contendo alimento previamente preparado. Essas cúpulas foram fixadas no fundo de placas de Petri com parafina (vela derretida), dispostas em formato quadrangular, sendo 5 cúpulas em cada lateral, totalizando 25 cúpulas por placa. As larvas foram alimentadas diariamente, com auxílio de micropipetas até, no máximo, o terceiro dia, recebendo 4µl de alimento no primeiro dia, 15 µl no segundo e 25 µl no terceiro. O alimento foi preparado com 10g de geléia real, 7,4ml de água destilada, 1,4g de D - glicose, 1,4g de D - frutose e 0,2g de extrato de levedo, para o grupo controle. Nos grupos experimentais, adicionou-se 2,5 mg de ácido bórico por grama de alimento para o primeiro ensaio, e, no segundo, 0,4 µg de fipronil por grama de alimento. As larvas foram mantidas em estufa B.O.D. à 34°C, com umidade relativa acima de 80%. No primeiro ensaio, as larvas foram coletadas no 3º instar e, no segundo, foram coletadas no 4º instar. Os órgãos foram removidos e processados rotineiramente para inclusão em historesina para análise histológica. Os cortes histológicos foram corados com Hematoxilina-Eosina.

Os indivíduos analisados de ambos os grupos controle apresentaram as células epiteliais do ventrículo com seu citoplasma bastante homogêneo e núcleos normais, tendo também a bordadura em escova bem preservada (Fig.1-A). Além disso, pôde-se observar a ocorrência de eliminação de secreção apócrina (Fig.1-B), como normalmente ocorre nestas células.

No grupo tratado com 2,5 mg/g de ácido bórico as células mantiveram a preservação da bordadura em escova (Fig. 2-A) do epitélio do ventrículo. No entanto, as células apresentaram

vacuolizações no citoplasma e compactação cromatínica (Fig.2-B), indicando aceleração do processo de morte celular. No grupo tratado com fipronil foram observadas alterações nos núcleos das células do ventrículo, havendo também aumento de compactação cromatínica e formação de halo pericromatínico (Fig. 3-A), em relação ao grupo controle, além de aumento na liberação de secreção apócrina (Fig. 3-B). Estas características apresentadas também indicam aceleração do processo de morte celular.

Os experimentos permitiram concluir que os dois compostos induziram características de morte celular nas larvas tratadas, demonstrando a toxicidade de ambos e que a utilização de larvas de *Apis mellifera* é eficiente em estudos ecotoxicológicos.

## Referências Bibliográficas

BALANCA, G.; de VISSCHER, M. Impacts on non-target insects of a new insecticide compound used against the desert locust [*Schistocerca gregaria* (Forsk. 1775)]. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 1997. 32:58-62.

CARVALHO, E.M.; CARVALHO, S.M.; CARVALHO, C.F.; CARVALHO, G.A.; SOUZA, B. Impacto de inseticidas fornecidos a adultos de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) por meio de pasta cãndi contaminada. **Anais do XIV Congresso Brasileiro de Apicultura**, p. 114. 16 a 20 de julho, 2002a. Campo Grande -MS.

CARVALHO, E.M.; CARVALHO, S.M.; CARVALHO, C.F.; CARVALHO, G.A.; SOUZA, B. Efeito da pulverização de alguns inseticidas usados em cucurbitáceas sobre adultos de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). **Anais do XIV Congresso Brasileiro de Apicultura**, p. 112. 16 a 20 de julho, 2002b. Campo Grande-MS.

CINTRA, P. **Atividade tóxica de *Dimorphandra mollis* Benth. (Caesalpiniaceae) sobre operárias de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)**. Rio Claro: UNESP, 2001. 75p. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2001.

COLE, L.M.; NICHOLSON, R.A.; CASIDA, J.E. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. **Pestic. Biochem. Physiol.** 1993; 46:47– 54.

COUTINHO, C.F.B.; TANIMOTO, S.T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G.S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R.B.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A.; MACHADO, S.A.S. Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente**. Curitiba, jan./dez. 2005, v. 15, p.65-72.

RAUH, J.J.; LUMMIS, S.C.; SATTELLE, D.B. Pharmacological and biochemical properties of insect GABA receptors. **Trends Pharmacol. Sci.** 1990. 8:325-329.

SATTELLE, D.B. GABA receptors of insects. **Adv. Insect Physiol.** 1990. 22:1–113.

SILVA, I.C. **Avaliação de dietas para criação de operárias e zangões de *Apis mellifera* L. (Africanizadas) (Hymenoptera: Apidae) em condições de laboratório**. 1995. 85 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

VANDENBERG, J. D.; SHIMANUKI, H. Technique for rearing worker honeybees in the laboratory. **Journal of Apicultural Research**, Cardiff, v.26., n.2, p.90-7, 1987.

**Bolsa:** CNPq.

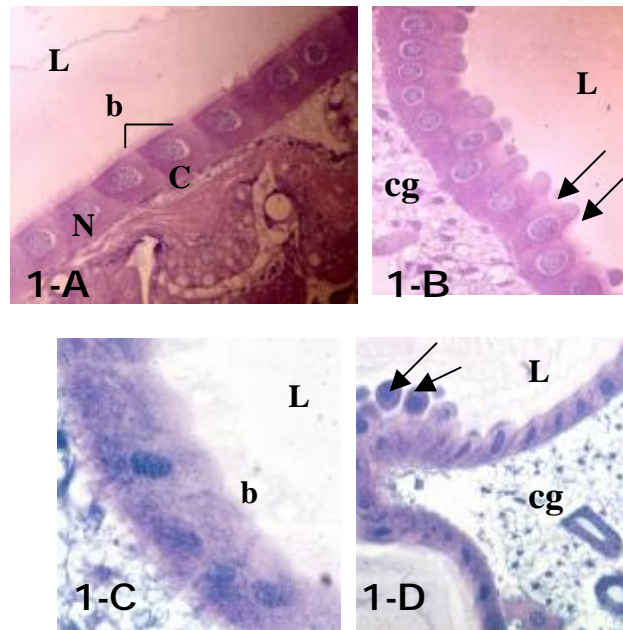


Fig. 1. Epitélio do ventrículo de larvas de *Apis mellifera*. Grupo controle. A) Células apresentando bordadura em escova bem preservada – 3º instar. B) Eliminação de secreção apócrina, indicada pelas setas – 3º instar. C) Bordadura em escova preservada nas células do epitélio do ventrículo – 4º instar. D) Eliminação de secreção apócrina – 4º instar. C: citoplasma; cg: corpo gorduroso; L: lúmen; b: bordadura em escova; N: núcleo.

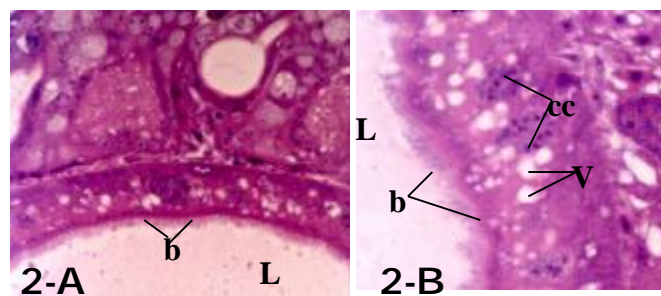


Fig. 2. Epitélio do ventrículo de larvas de *Apis mellifera* – 3º instar. Grupo tratado com 2,5 mg/g de ácido bórico. A) Células apresentando bordadura em escova bem conservada. B) Células apresentando núcleos com compactação cromatínica e vacuolizações citoplasmáticas. cc: compactação cromatínica; V: vacuolizações citoplasmáticas.

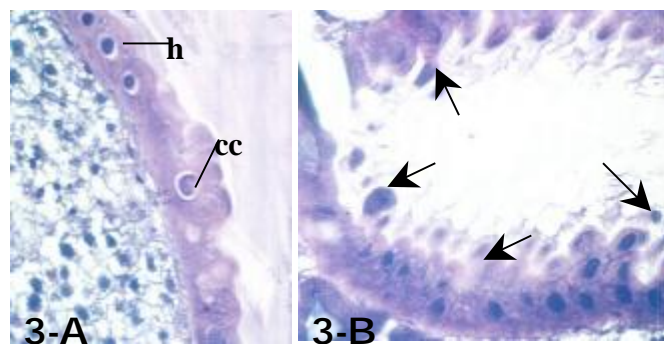


Fig. 3. Epitélio do ventrículo de larvas de *Apis mellifera* – 4º instar. Grupo tratado com 0,4 µg/g de fipronil. A) Núcleos com compactação cromatínica (cc) e presença de halo pericromatínico (h). B) Aumento de secreção apócrina em relação ao controle indicada pelas setas.