

AÇÃO DA SULFLURAMIDA NOS TÚBULOS DE MALPIGHI E VENTRÍCULO DE OPERÁRIAS DE *Atta sexdens rubropilosa*.

Simone Sayuri Sumida, Odair Correa Bueno, Elaine Cristina Mathias Zacarin. . – Biologia Geral - Ciências Biológicas - Departamento de Biologia e Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS)- Instituto de Biociências- UNESP - Campus de Rio Claro.

As formigas são os insetos mais bem sucedidos, pois ocorrem em praticamente todos os ambientes terrestres, tem uma enorme diversidade, apenas na família Formicidae estima-se haver cerca de 20 mil espécies (JAFFÉ, 1993).

A ocupação do homem a vários ecossistemas, devido a fatores como o desenvolvimento da agricultura ou mesmo a urbanização, tem causado desequilíbrio ecológico. Com a devastação das matas, diversas espécies de plantas que serviam de alimento ou abrigo para muitos animais, como os insetos, foram extintas. Assim, o solo se tornou empobrecido e os inimigos naturais foram reduzidos, explicando a proliferação de pragas como as formigas cortadeiras (ANJOS, et al. 1998). As formigas cortadeiras compreendem dois gêneros de formigas cultivadoras de fungos, *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (quenquéns) (FORTI e BOARETTO, 1997). As plantas utilizadas pelas formigas cortadeiras servem de substrato para o crescimento de um fungo simbiote que é fonte de alimento para as formigas adultas e principalmente para as larvas (HEBLING - BERALDO et al., 1991).

Atualmente há um grande interesse econômico no controle das formigas que podem invadir e estabelecer colônias em habitações urbanas, ou causar um intenso desfolhamento, destruir grandes áreas cultivadas e prejudicar a agricultura e a silvicultura. As formigas cortadeiras podem atacar muitas espécies vegetais e competir com o homem e seus animais domésticos (AMANTE, 1972). Além disso, elas têm preferência por plantas exóticas cultivadas (CHERRETT, 1968), como citros, eucalipto, pastagens e cana-de-açúcar (NAGAMOTO, 2003). Elas atacam florestas de todas as idades, e quando não controladas impedem a sobrevivência de qualquer tipo de planta (ANJOS et al., 1998). Em contraste, as formigas cortadeiras das florestas, por exemplo, cortam parte da vegetação estimulando o crescimento de algumas plantas, auxiliam na decomposição de matéria vegetal, reviram, arejam e adubam o solo (HAINES, 1978). Essas formigas e o seu fungo simbiote também podem ser usados em bioensaios de toxicidade, na avaliação de compostos químicos tóxicos utilizados na agricultura e nas pastagens e no estudo de impacto ambiental de substâncias introduzidas nos ambientes.

Segundo Forti e Boaretto (1997) o controle químico é o único que apresenta tecnologia disponível para a utilização em larga escala, apesar de ter limitações. Hoje, apenas a sulfluramida é utilizada para este fim, e ela atua como inibidor da respiração celular em insetos e na síntese de ATP. Têm baixa toxicidade aos mamíferos, inclusive ao homem e ao meio ambiente, apresentando meia vida de 90 a 180 dias (PINHÃO et al., 1993; Cruz et al., 1996) e eficiência superior a 80%, taxa considerada satisfatória para testes de eficácia (BRASIL, 2005 b).

O objetivo do presente trabalho é detectar possíveis alterações morfológicas, induzidas por doses sub-letais de sulfluramida no ventrículo e túbulos de Malpighi de operárias médias de *Atta sexdens rubropilosa*. As operárias médias de *Atta sexdens rubropilosa* foram retiradas de um mesmo formigueiro mantido em laboratório. As coletas iniciaram-se após uma semana de tratamento. Na alimentação das formigas isoladas, foi fornecida uma dieta artificial sólida composta por 5% de glicose, 1% de peptona de caseína, 0,1% de extrato de levedura e 1,5% de ágar bacteriológico, dissolvidos em 100mL de água destilada, sendo tudo autoclavado a 1200 C e 1 atm por 15 minutos (BUENO et al., 1997). Ainda líquida, essa dieta foi entornada em placas de Petri de 10 cm de diâmetro (previamente esterilizadas) e após resfriamento e solidificação, as placas foram vedadas com filme de PVC e mantidas em geladeira durante o

período do experimento, para melhor conservação. Essa é a composição da dieta pura, utilizada no controle. Nas dietas experimentais, realizou-se o mesmo procedimento, com a diferença da adição de sulfluramida dissolvida em acetona e sulfluramida homogeneizada em acetona + óleo-de-soja (na proporção 9:1) adicionados na dieta artificial ainda quente, ambos em concentração de 200i g/mL .

Operárias de *A. s. rubropilosa*, coletadas do grupo controle e do grupo experimental foram rapidamente dissecadas à temperatura ambiente em solução salina 0,6%. Os órgãos retirados foram imediatamente fixados com paraformaldeído a 4%, em tampão fosfato de sódio 0,1M (pH 7,4) por 2h à temperatura ambiente, lavados em tampão fosfato de sódio 0,1M (pH 7,4), desidratados em uma série crescente de álcoois (70% a 100%) e, posteriormente, transferidos para a resina de embebição (overnight). Após a embebição, os órgãos foram incluídos em historesina.

Nos blocos de historesina obtidos, foram realizadas secções histológicas de 6i m de espessura que foram estendidas sobre lâminas de vidro e secas em temperatura ambiente. Posteriormente, as secções foram coradas com Hematoxilina-Eosina, montadas com Bálsamo do Canadá, observadas e fotodocumentadas em fotomicroscópio óptico (Zeiss)

Os tratamentos apresentaram, em diferentes graus, alterações morfológicas visíveis.

O tratamento com sulfluramida dissolvida em acetona (Fig. 2A e 2B) foi o mais agressivo. Observou-se a desestruturação do epitélio do intestino (ep) e a ocorrência tanto de núcleos picnóticos (flecha escura) quanto daqueles com cromatina marginalizada (flecha clara) (característica da apoptose), sendo ambos, indicativos de compactação cromatínica e diminuição da atividade nuclear. Aumentou-se a eliminação de células epiteliais para o lúmen e houve um maior acúmulo de vesículas contendo enzimas nas células digestivas (cd), demonstrando uma falha na função secretora. Notou-se também uma possível alteração nas células regenerativas (r).

No tratamento com sulfluramida misturado à acetona e ao óleo (3A e 3B) (proporção de 9:1), as células regenerativas (r) estão normais. O epitélio manteve-se bem estruturado (ep.). Apenas os núcleos das células que estão sendo liberadas apresentaram-se picnóticos (flecha preta) e os demais se assemelharam ao controle. No entanto, há a presença de vacúolos nas células do citoplasma (v). Ocorreu também um aumento na liberação de células (c) para a luz intestinal. Nos túbulos de Malpighi, não observou-se, em nenhum dos dois tratamentos, alterações visíveis no microscópio de luz. Somente com informações adicionais da análise desses órgãos, por meio da microscopia eletrônica de transmissão, teremos resultados mais conclusivos e elucidativos .

Em bioensaios de incorporação do ingrediente ativo em dieta alimentar, a presença do óleo de soja aumenta a eficiência do inseticida. Isto pode ter relação com o fato do óleo ser absorvido na porção anterior do trato digestório ou na própria glândula pós-faríngea da formiga e atingir rapidamente a hemolinfa (BUENO, 2005).

Desta forma, pode-se concluir, com o presente trabalho, que com a presença do óleo, órgãos específicos como o ventrículo e os túbulos de Malpighi, não foram afetados pelo princípio ativo, o que não significa que outros órgão que participam ativamente do metabolismo dos lipídios não sofram danos e alterações morfológicas, devido a presença de substâncias tóxicas ao organismo deste inseto.

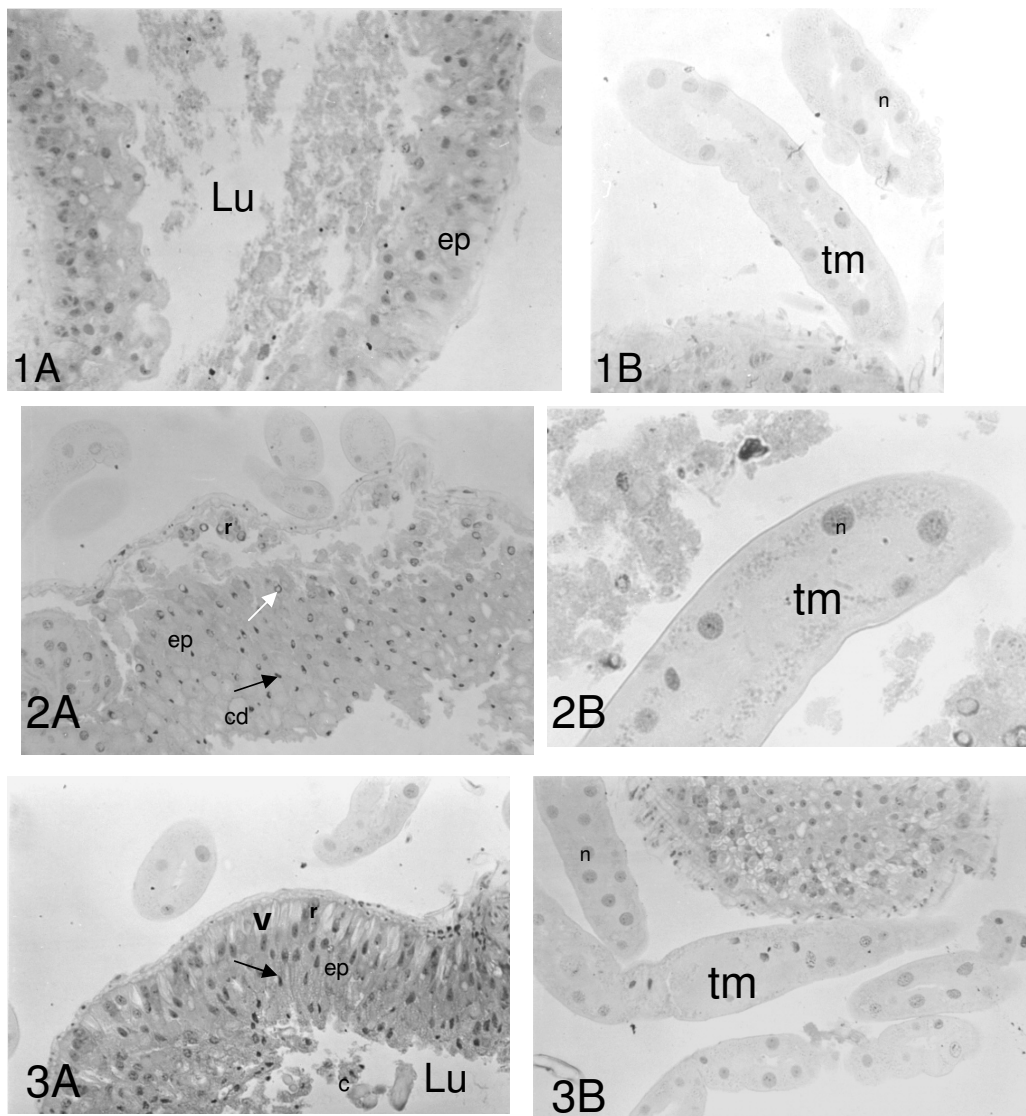


Figura 1- Grupo Controle. A) Epitélio do ventrículo (ep) e o seu respectivo lúmen (Lu).Aumento: 200x. B) Túbulos de Malpighi (tm).Aumento: 200x.

Figura 2- Grupo Experimental: Sulfluramida dissolvida em acetona. A) Observe a desestruturação do epitélio (ep) do ventrículo. A seta branca indica núcleo com cromatina marginalizada e a seta preta indica núcleo picnótico. cd = célula digestiva; r = células regenerativas.Aumento: 200x. B) Túbulos de Malpighi sem alterações morfológicas (tm). Aumento: 400x.

Figura 3- Grupo Experimental: Sulfluramida dissolvida em acetona + óleo. A) O epitélio (ep) do ventrículo apresenta-se estruturado. As células digestivas apresentam vacuolização citoplasmática (v). c = células liberadas para o lúmen (Lu); r = células regenerativas. Aumento: 200x. B) Túbulos de Malpighi sem alterações morfológicas (tm).Aumento: 200x.

AMANTE, E. 1972. **Influência de alguns fatores microclimáticos sobre a formiga saúva *Atta laevigata* (F. Smith, 1858), *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908, *Atta bisphaerica* Forel, 1908 e *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera, Formicidae), em formigueiros localizados no estado de São Paulo.** 1972. 175f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1972.

ANJOS, N; DELLA LUCIA T. M. C.; NUNES-MAYHÉ, A.J. Formigas cortadeiras. In _____: **Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos.** Ponte Nova: MG, 1998. P.09 - 21.

BRASIL. Ministério da saúde. Toxicologia: Legislação de produtos agrotóxicos .Disponível em :<<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/legis/index.html>> Acesso em: 8 out. 2006.

BUENO, O. C.; MORINI, M. S. C. ; PAGNOCCA, F.C.; HEBLING, M. J. A. SILVA, O. A. Sobrevivência de Operárias de *Atta rubropilosa* Forel (Hymenoptera : Formicidae) Isoladas do Formigueiro e Alimentadas com dietas artificiais. **An. Soc. Entomol.** 26(1) p. 107-112. 1997.

BUENO, F. C. **Seleção de ingredientes ativos para uso em iscas no controle de formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae).** 2005. Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração Zoologia .

CHERRET, J. M. The foraging behaviour of *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae). I. Foraging pattern and plant species attacked in tropical rain forest. **Journal of Animal Ecology**, 37:387-402. 1968.

CRUZ, A. P. et al. Eficiência de iscas granuladas à base de sulfluramida e de clorpirifós no controle de *Atta sexdens sexdens* (Hymenoptera : Formicidae), no trópico úmido. **Acta Amazônica**, v. 26, n. 3, p. 145-150, 1996.

DELLA LUCIA, T. M. C. Bioecologia e controle de formigas cortadeiras. In : **Reunião sobre pragas subterrâneas dos países do Cone Sul**, 2, Sete lagoas, Anais , p. 35- 45, 1992.

FORTI, L. C.; BOARETTO, M. A. C. Quem são as formigas cortadeiras ? In: _____; _____. **Formigas cortadeiras.** Biologia, ecologia, danos e controle. Botucatu: São Paulo ,1997. p 2.

HAINES, B. L. Element and energy flows through colonies of leaf-cutting ant, *Atta colombica*, In :Panama. Biotropica, v. 10, n. 4, p. 270 - 277. 1978.

HEBLING- BERALDO, M. J. A.; BUENO, O. C.; ALMEIDA , R. E ; SILVA, O. A. Influência do tratamento com folhas de *Sesamum indicum* sobre o metabolismo respiratório de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). Separata de: **An. Soc. Entom. bras.** Rio Claro, v. 20, n.1, p. 27 - 33, 1991.

JAFFÉ, K.C. **El mundo de las hormigas.** Baruta: Equinoccio-Ediciones de la Universidad Simon Bolivar, 1993. 183p.

NAGAMOTO, N. S. Estudos toxicológicos de princípios ativos inseticidas em formigas cortadeiras (Hymenoptera, Formicidae). Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP- Campus de Botucatu, para a obtenção de título de Doutor em Agronomia- área de concentração em Proteção de Plantas.

PINHÃO, M.A.S. et al. Mirex-S (sulfluramid) : uma sulfona fluoroalifática para o controle de *Atta* (Hymenoptera : Formicidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14, Piracicaba, **Anais....** Piracicaba: Sociedade Entomológica do Brasil , 1993, p. 511.

Bolsa: CNPq

