

## ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NO INTESTINO MÉDIO DAS ABELHAS SEM FERRÃO *Tetragonisca angustula* LATREILLE (1811) (HYMENOPTERA, TRIGONINI) EXPOSTAS A AZADIRACTINA

Samara Calvi Baulli (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Adriana Aparecida Sinópolis Gigliolli, Daiani Rodrigues Moreira, Maria Claudia Colla Ruvolo-Takasusuki (Orientadora), e-mail: mcctakasusuki@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Biotecnologia,  
Genética e Biologia Celular – DBC

### Ciências Biológicas: Genética Animal

**Palavras-chave:** Jataí, Azadiractina, Morfologia.

### Resumo

Este estudo teve como objetivo observar a ocorrência de alterações morfológicas no mesêntero de *Tetragonisca angustula* após contaminação por ingestão com o inseticida orgânico AzaMax. Foram utilizadas concentrações subletais de  $2,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL,  $5,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL e  $1,12 \times 10^{-3}$  g i.a./mL nos períodos de 24, 48 e 72 h, com três repetições cada e, em seguida, as amostras foram analisadas por microscopia de luz e eletrônica de varredura. Os resultados indicaram alterações na musculatura, epitélio e membrana peritrófica. Sendo assim, conclui-se que apesar de não causar mortalidade, o inseticida AzaMax, resultou em alterações no intestino médio de *T. Angustula*, o que provavelmente, compromete seu comportamento e capacidade de coleta.

### Introdução

Diante dos problemas causados pelos agrotóxicos no ambiente e saúde, produtores têm buscado diferentes alternativas para o controle de pragas em várias culturas. Dentre elas, o uso de inseticidas botânicos como o AzaMax (UPL). Este pertence ao grupo tetranortriterpenoide, tem como princípio ativo a Azadiractina e está registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA sob nº 014807. É utilizado na cultura de morango, uma das mais visitadas pela abelha sem ferrão *Tetragonisca angustula*. Embora concentrações subletais deste inseticida não interfiram significativamente na mortalidade das abelhas, podem induzir mudanças comportamentais, fisiológicas e morfológicas em órgãos dos insetos, como o intestino médio, importante para análise de toxicidade (Cruz et al., 2010).

### Materiais e métodos

O produto comercial Azamax (Azadiractina) foi preparado de acordo com a bula para a cultura do Morango, 3,0 g i.a/100 L (gramas de

ingrediente ativo/ 100 litros), tendo como inseto alvo o acaro-rajado (*Tetranychus urticae*). Posteriormente, essa solução foi diluída para as concentrações de  $2,25 \times 10^{-3}$ ,  $5,25 \times 10^{-3}$  e  $1,12 \times 10^{-3}$  g i.a./mL para os bioensaios realizados no laboratório Genética Animal-UEM, o qual, consistiu no fornecimento de alimento cândi (mistura de mel e açúcar de confeitaria) para o controle e alimento cândi contendo o inseticida orgânico nas diferentes diluições para os tratamentos por ingestão. Em cada frasco, foram colocadas 10 abelhas forrageiras coletadas na entrada do ninho localizado no *campus* da UEM, com o alimento pré-determinado e algodão umedecido, havendo três repetições de cada. Os frascos foram mantidos em câmara B.O.D à 30°C, por 24, 48 e 72h. Após a exposição, as abelhas foram sacrificadas a frio, dissecadas em solução salina e o intestino retirado. Para a histologia, as amostras foram fixadas em Bouin aquoso, desidratadas em série crescente de álcoois, diafanizadas em xilol, embebidas em parafina, seccionadas a 6µm, estendidas em lâminas de vidro e coradas com hematoxilina e eosina (H/E) (Junqueira e Junqueira 1983). As análises foram realizadas em microscópio Omicron Medical – AxioCam MRc - ZEISS e documentadas. Para a Microscopia Eletrônica de Varredura, os intestinos foram fixados em glutaraldeído 2,5%, desidratados em série crescente de álcoois, submetidos ao ponto crítico, recobertos por pó de ouro e analisados no MEV QUANTA 250 –FEI.

## Resultados e Discussão

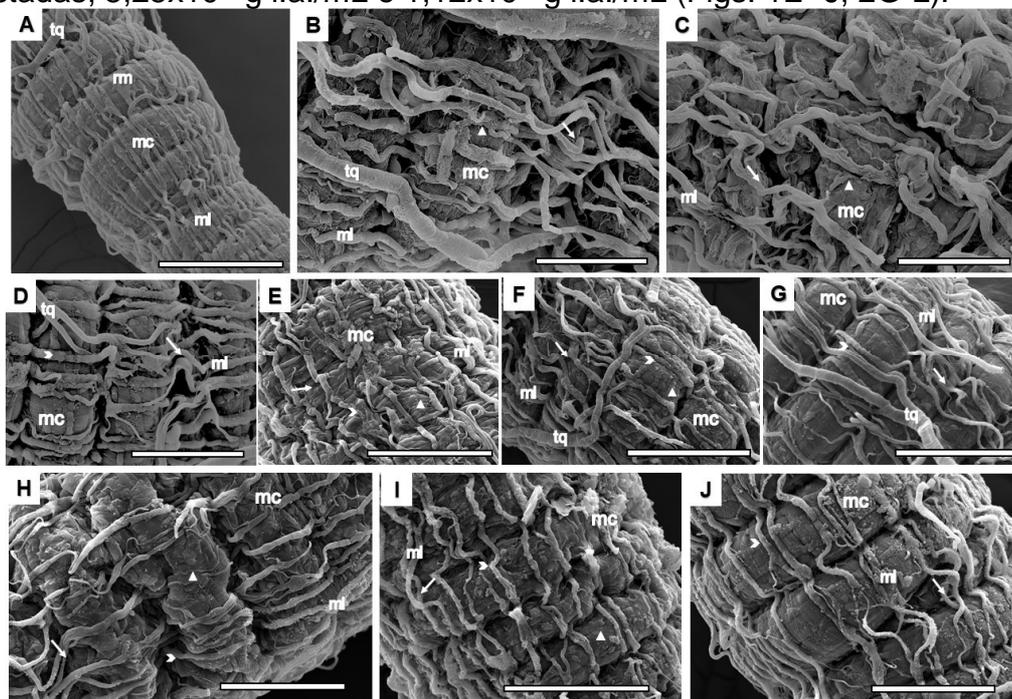
O intestino médio é a região na qual ocorre a absorção de nutrientes e metabolização de químicos do ambiente (Cruz-Landim, 2009), sendo um órgão chave para estudos de toxicidade.

Na abelha *T. angustula*, esta região do sistema digestório foi caracterizada como um tubo cilíndrico revestido por uma musculatura composta por fibras longitudinais ramificadas externamente e fibras circulares dispostas internamente (Fig. 1A).

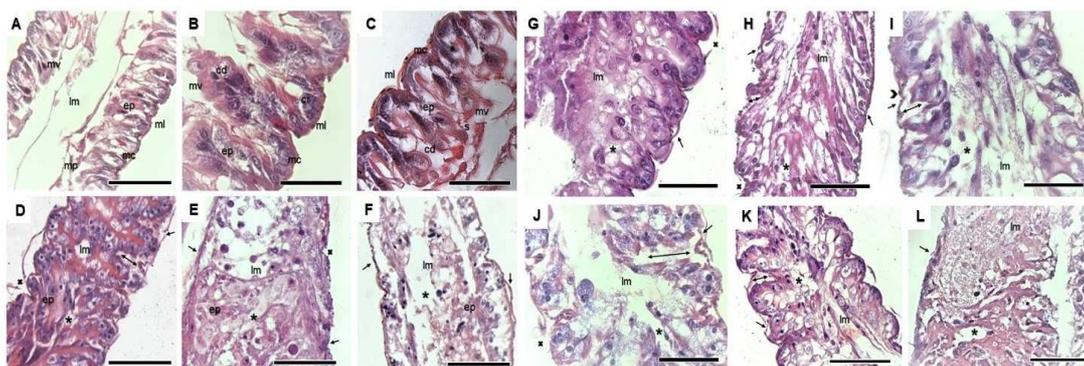
O epitélio apoia-se sob a lâmina basal e é formado por dois tipos celulares. As células digestivas são prismáticas, recobertas por microvilosidades e apresentam o núcleo posicionado no citoplasma apical. As células regenerativas são pequenas, cubóides e organizadas em ninhos (nidi) inseridos na região basal do epitélio. O lúmen, por sua vez, é delimitado pela membrana peritrófica (Figs. 2A-C).

Após exposição a concentração subletal de  $2,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL, em 24 horas, observou-se o afrouxamento da musculatura com rompimento das fibras longitudinais e deformação das fibras circulares, descolamento da lâmina basal, desaparecimento da membrana peritrófica que delimitava o lúmen, alteração na forma das células digestivas e degeneração epitelial. As células regenerativas foram ausentes (Figs. 1D e 2D). Essas alterações se agravaram com o decorrer do tempo de exposição ao inseticida (Figs. 2E e F). A partir de 72 h de exposição observou-se degeneração total do epitélio e dilatação da musculatura longitudinal (Figs. 1C e D, 2E e F). As alterações

morfológicas descritas acima se repetem nas demais concentrações testadas,  $5,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL e  $1,12 \times 10^{-3}$  g i.a./mL (Figs. 1E- J, 2G-L).



**Figura 1** – Fotomicrografia do intestino médio de *T. angustula*. **A**. Controle. Tratamento com  $2,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL (**B-D**) em 24(**B**) 48(**C**) e 72 h(**D**). Tratamento com  $5,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL (**E-G**) em 24(**E**) 48(**F**) e 72 h(**G**). Tratamento com  $1,12 \times 10^{-3}$  g i.a./mL (**H-J**) em 24 (**H**), 48(**I**) e 72 h (**J**). Traqueíola (tq), musculatura longitudinal (ml); musculatura circular (mc); musculatura longitudinal frouxa (→) e dilatada (➤); musculatura circular deformada (▲). Escala: A - 50  $\mu$ m; C e D - 30  $\mu$ m; B, E, F, G, H, I e J - 25  $\mu$ m.



**Figura 2** – Fotomicrografia do intestino médio de *T. angustula*. Controle (**A – C**). Tratamento com  $2,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL (**D-F**) em 24 (**D**), 48 (**E**) e 72 h (**F**). Tratamento com  $5,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL (**G-I**) em 24 (**G**), 48 (**H**) e 72 h (**I**). Tratamento com  $1,12 \times 10^{-3}$  g i.a./mL (**J-L**) em 24 (**J**), 48(**K**) e 72 h (**L**). Musculatura longitudinal (ml); musculatura circular (mc); epitélio do intestino médio (ep); musculatura circular (mc); musculatura longitudinal (ml); lamina basal (lb); células digestivas (cd); ninho células regenerativas (cr); membrana peritrófica (mp); lúmen do intestino médio (lm); microvilosidades das células digestivas (mv); musculatura longitudinal frouxa (→); rompimento da musculatura longitudinal (✕); descolamento da lamina basal (↔); degeneração epitelial (\*). Escala: A, D, E, F, H E (100  $\mu$ m); B, C, G, I, J, K (50  $\mu$ m).

Estudos como de Moreira et al. (2018), também relatam alterações no intestino médio da abelha *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae) após a contaminação por ingestão com concentrações subletais de inseticida neonicotinoide thiamethoxam. Dessa maneira, podemos considerar que tanto os agrotóxicos sintéticos quanto os orgânicos causam danos a insetos benéficos como as abelhas, mesmo que não sejam insetos alvos destes inseticidas.

## Conclusões

Após contaminação por ingestão oral de azadiractina em concentrações subletais de  $2,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL,  $5,25 \times 10^{-3}$  g i.a./mL e  $1,12 \times 10^{-3}$  g i.a./mL nos períodos de 24, 48 e 72 horas, evidenciou-se alterações no intestino médio da abelha *T. angustula*. Mesmo não causando mortalidade, essas modificações podem alterar o comportamento e a capacidade de coleta dessas abelhas, podendo culminar com a mortalidade da colônia, contribuindo com o declínio de polinizadores.

## Agradecimentos

As autoras agradecem ao Programa PIBIC-UEM, CNPq e Fundação Araucária pela bolsa concedida e ao incentivo para a realização da pesquisa e COMCAP-UEM pelos equipamentos disponibilizados.

## Referências

CRUZ, A.S.; SILVA-ZACARIN, E.C.M.; BUENO, O.; MALASPINA, O. Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae. **Cell Biol Toxicol** v. 26, n. 2, p. 65–176, 2010.

CRUZ-LANDIM, C. **Abelhas: morfologia e função de sistemas**. 1 ed. São Paulo: UNESP, 2009.

JUNQUEIRA, L.C.U.; JUNQUEIRA, L.M.M.S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. 1 ed. São Paulo: Santos, 1983.

MOREIRA, D. R.; et al. Toxicity and effects of the neonicotinoid thiamethoxam on *Scaptotrigona bipunctata* lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae). **Environ Toxicol**. v. 33, p. 463-475, 2018. DOI: 10.1002/tox.22533.