

TOXICIDADE E ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM *Scaptotrigona bipunctata* EXPOSTAS AO NEONICOTINOIDE IMIDACLOPRIDO

Nathalia Rodrigues da Silva de Carvalho (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Adriana Aparecida Sinópolis Gigliolli, Andressa Santoro, José Ricardo Penteado Falco (Coorientador), Wingly Santos Beltrame, Maria Claudia Colla Ruvolo-Takasusuki (Orientadora)
e-mail: mcrtakasusuki@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas: 2.00.00.00-6; Genética: 2.02.00.00-5; Genética Animal: 2.02.04.00-0

Palavras-chave: Abelhas sem ferrão, intestino médio, concentrações subletais

Resumo:

As abelhas sem ferrão possuem elevada importância ecológica e econômica, são responsáveis pela polinização de diversas culturas e plantas nativas. Apesar de sua relevância, esses insetos sofrem atualmente uma excessiva redução populacional e de diversidade de espécies. Entre os fatores responsáveis por essa diminuição podemos citar o uso inadequado de inseticidas agrícolas. Entre os agrotóxicos amplamente empregados estão os inseticidas neurotóxicos neonicotinoides como o imidacloprido. Quando aplicados em culturas agrícolas esses agrotóxicos permanecem biodisponíveis para os polinizadores durante longos períodos, aumentando os riscos de exposição aos mesmos. Além de atingir as células cerebrais, o imidacloprido pode atingir os órgãos não alvos como o intestino, prejudicando diversos processos metabólicos. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar as alterações morfológicas provocadas por concentrações subletais do imidacloprido no intestino médio de operárias forrageiras de *Scaptotrigona bipunctata*, expostas oralmente. Os bioensaios foram realizados durante 24 horas, utilizando 5 concentrações subletais de imidacloprido. A análise histológica demonstrou diversas alterações morfológicas que podem levar a prejuízos metabólicos para essas abelhas sem ferrão. Apesar de não causar a morte imediata do inseto, as alterações detectadas no intestino médio causadas pelo imidacloprido podem levar ao declínio gradual da colônia e finalmente à sua morte.

Introdução

Entre os problemas ecologicamente relevantes dos dias atuais pode-se citar o uso indiscriminado de pesticidas utilizados para controle de pragas. Tais substâncias possuem um mecanismo de ação que gera desde alterações fisiológicas até alterações comportamentais nos organismos alvo e organismos não alvos, como as

abelhas. Entre os agrotóxicos, os inseticidas neonicotinoides são amplamente empregados em diversas culturas, como citros. Essa classe de inseticidas atua nos receptores nicotínicos de acetilcolina do sistema nervoso central dos insetos, causando uma hiperexcitação neuronal. O modo de ação dos neonicotinoides podem ocasionar efeitos subletais, ou até mesmo a morte do inseto não alvo (MIOTELO et al., 2022) Por serem inseticidas sistêmicos, os neonicotinoides permanecem disponíveis para os polinizadores por longos períodos, aumentando dessa forma os riscos de intoxicação.

Entre os polinizadores, o meliponíneos conhecidos como abelhas sem ferrão (ASF) são generalistas, adaptadas para polinizar espécies de Angiospermas silvestres, e atuam em diversas culturas de interesse econômico como café, laranja, maçã, soja, entre outras amplamente difundidas no Brasil. Nos últimos anos observou-se um declínio significativo na quantidade e diversidade de espécies de ASF. Dentre as principais causas do desaparecimento dos meliponíneos está a intoxicação por inseticidas agrícolas.

O Neonicotinoide imidacloprido além de prejudicar o sistema nervoso central das abelhas, pode ainda, causar danos aos órgãos não alvo, como sistema digestório. O intestino é um órgão essencial para os estudos relacionados à toxicidade dos inseticidas, uma vez que, ele faz parte da rota de metabolização e excreção de compostos, e é responsável pela digestão e absorção do alimento.

Dessa forma, considerando a importância ecológica e econômica das ASF; a utilização do neonicotinoide imidacloprido em várias culturas e as possíveis alterações morfológicas do trato digestório de insetos não alvo, o presente estudo objetivou identificar alterações morfológicas no intestino médio da ASF *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier, 1836) expostas ao inseticida imidacloprido.

Materiais e Métodos

O inseticida imidacloprido comercial foi preparado em solução aquosa de acordo com a bula para a cultura de *Citrus* 0,033 g i.a./L (gramas de ingrediente ativo/litro), para controle do pulgão-preto (*Toxoptera citricida*). Esta solução foi diluída em xarope (2:1 água/açúcar), nas concentrações de 0,336 mg i.a./L, 1,68 mg i.a./L, 3,36 mg i.a./L e 5,04 mg i.a./L, para os bioensaios por exposição oral, com 4 repetições mais o controle. Em cada frasco de tratamento foram adicionados 3ml de xarope com imidacloprido nas concentrações citadas. No frasco de controle foi adicionado apenas 3ml de xarope. As abelhas foram coletadas na entrada de caixas comerciais de *S. bipunctata* na Fazenda Experimental de Iguatemi - UEM. Utilizou-se 15 indivíduos por frasco fechado com *voil*, acondicionados em câmara tipo B.O.D à $30 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 2\%$ (umidade relativa), por 24 horas. Após a exposição oral, as abelhas mortas foram contabilizadas, as vivas foram anestesiadas e dissecadas sob microscópio estereoscópico em solução salina para a retirada do intestino médio (IM). Em seguida, as amostras foram fixadas em Bouin por 8 horas, desidratadas em série crescente de álcoois (70% a 100%), diafanizadas em xilol, embebidas em parafina por três banhos e seccionadas a 2 μm em micrótomo Leica RM 2250, estendidas em lâminas de vidro, reidratadas e coradas com hematoxilina e eosina

(H/E). As análises foram realizadas sob microscópio de luz Olympus e posteriormente feita a documentação fotográfica.

Resultados e Discussão

Após a exposição oral ao imidacloprido foram observadas alterações no epitélio do IM, que agravaram com o aumento das concentrações testadas. Na maioria dos tratamentos notou-se alterações expressivas na musculatura longitudinal tais como, relaxamento e desorganização. A partir da concentração de 1,68 mg i.a./L verificou-se um desarranjo na membrana peritrófica (fig. 1 C-L), com maior intensidade na concentração de 5,04 mg i.a./L (fig. 1 J, K, L). Além disso, foi detectado um elevado desprendimento e perda de células digestivas para o lúmen (fig. 1 C-L). As dobras do IM tornaram-se progressivamente menos evidentes e quase imperceptíveis na maior concentração (fig. 1 J, K, L). A lâmina basal tornou-se mais espessa, e foi observado um indicativo de núcleos picnóticos nas células do epitélio. A desorganização epitelial foi tão intensa que praticamente não foram identificadas delimitações celulares na concentração de 5,04 mg i.a./L (fig. 1 J, K, L).

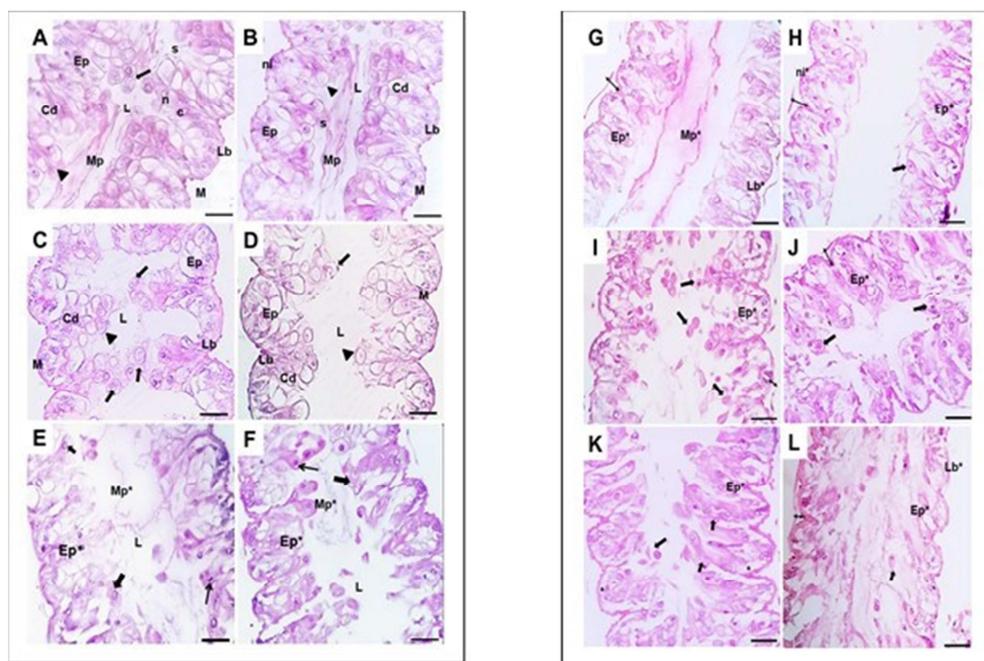


Figura 1. Microscopia de luz coloração Hematoxilina eosina do intestino médio de abelhas *S. bipunctata* após exposição oral ao neonicotinoide imidacloprido. A, B = controle; C, D = 0,336 mg i.a./L; E, F = 1,68 mg i.a./L; G, H, I = 3,36 mg i.a./L; J, K, L = 5,04 mg i.a./L. Ep- Epitélio; ni - ninho de células regenerativas (nidi); Mp- Membrana peritrófica; M- Musculatura longitudinal; Lb- Lâmina basal; Cd- Células digestivas; L- Lúmen; Mp*- Membrana peritrófica desorganizada; Ep*- Epitélio desorganizado; Cd*- Células digestivas liberadas para o lúmen; Lb*- Lâmina basal espessa; s - secreção celular; * - separação da base do epitélio da lâmina basal; ↓ - Perda de células para o lúmen; ↙ - desprendimento da musculatura em relação a lâmina basal; ► - Protusões- indicando secreção ou possível morte celular; → - núcleo fortemente corado, indicativo de picnose. Escala 20 µm.

Alterações semelhantes tais como, desorganização epitelial, alterações na membrana peritrófica, relaxamento da musculatura longitudinal e morte celular foram detectadas por Moreira *et al.* (2018), em abelhas *S. bipunctata* expostas oralmente ao neonicotinoide tiametoxam. Como a membrana peritrófica é responsável pela proteção do epitélio contra as mais diversas toxinas e agentes externos, a degradação epitelial pode estar relacionada a degeneração da membrana peritrófica. Soares (2012) observou elevado aparecimento de núcleos picnóticos e halos policromáticos em grupos no IM de *S. postica* tratadas com o inseticida imidacloprido, indicando maior mortalidade celular. O autor observou ainda desorganização epitelial com maior intensidade em grupos tratados, aumentando conforme a concentração e o tempo de exposição. A desorganização epitelial foi evidenciada por fatores como o maior desprendimento de células da lâmina basal, maior quantidade de células no lúmen e a dificuldade de delimitação celular, assim como observado no presente estudo.

Conclusões

Diversas alterações morfológicas foram detectadas no intestino médio de *S. bipunctata* expostas oralmente por 24 horas a concentrações subletais do neonicotinoide imidacloprido. As alterações variaram de intensidade de acordo com as concentrações testadas indicando que a presença de imidacloprido pode danificar o trato digestivo das abelhas expostas, prejudicando processos como absorção e digestão.

Agradecimentos

Agradeço ao programa PIBIC-UEM, CNPq e Fundação Araucária pelo incentivo e concessão da bolsa para a realização do projeto. Agradeço à minha orientadora Maria Claudia Ruvolo-Takasusuki pelo auxílio e paciência na orientação, agradeço ao professor José Ricardo Penteado pela oportunidade de realização do estudo.

Referências

MIOTELO, L. et al. Transcriptomic analysis of Malpighian tubules from the stingless bee *Melipona scutellaris* reveals thiamethoxam-induced damages. **Science of The Total Environment**, p. 158086, 2022.

MOREIRA, D.R. et al. Toxicity and effects of the neonicotinoid thiamethoxam on *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae). **Environmental Toxicology**, v. 33, p. 463-475, 2018.

SOARES, H.M. **Avaliação dos efeitos do inseticida imidacloprido para abelhas sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista, 2012, 87p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/ Biologia Celular e Molecular).