



30 nov. a 02 dez. 2022

CAPES \ FAPERGS

## O USO DO PROTOCOLO DE LOCOMOÇÃO (*Locomotion*) COMO UMA FERRAMENTA DE ANÁLISE NEUROCOMPORTAMENTAL EM INSETOS

Rafael Londero de Oliveira<sup>1</sup>, Letícia Campos Ferreira<sup>2</sup>, Flávia Luana Goulart<sup>1</sup>, Velci Queiroz de Souza<sup>3</sup>, Cháriston André Dal Belo<sup>4</sup>, João Batista Teixeira da Rocha <sup>5</sup>

<sup>1</sup> Discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

<sup>2</sup> Discente de pós-graduação, Universidade Federal de Santa Maria

<sup>3</sup> Docente, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

<sup>4</sup> Docente, Universidade Federal de São Paulo

<sup>5</sup> Docente, Universidade Federal de Santa Maria

rafaellondero.aluno@unipampa.edu.br

Com a crescente demanda por modelos biológicos para pesquisas científicas mais humanizados e éticos, o uso de insetos em bioensaios na área de biomedicina e farmacologia têm sido incentivados. Sabe-se que mais de duzentos neurotransmissores encontrados em baratas estão presentes também em mamíferos, incluindo o ser humano, por essa razão, baratas da espécie Nauphoeta cinerea demonstram ser um modelo alternativo viável para estudos de neurobiologia. Além disso, o custo beneficio, facilidade para procriação e manutenção, fazem com que esse modelo torne-se muito atraente para o estudo de biomoléculas naturais ou sintéticas, com potencial neuromodulador. Além disso, o sistema nervoso de invertebrados permite uma maior acessibilidade aos grupamentos celulares nervosos proporcionando uma simplificação da compreensão dos mecanismos de ação de diversas substâncias químicas de interesse, como venenos e toxinas animais e vegetais. Essa simplificação, também está presente sobre os padrões comportamentais dos insetos, favorecendo o estudo dos mecanismos associados às alterações sobre o sistema nervoso central. Por essa razão, o presente trabalho tem como objetivo demonstrar a viabilidade do protocolo de locomoção (Locomotion) como uma ferramenta factível para análises neurocomportamentais. O protocolo de locomoção em insetos (Locomotion) é utilizado para observar mudanças comportamentais de locomoção e exploração de insetos expostos a compostos químicos de interesse. Para a realização da análise é seguido o protocolo estabelecido por Leal (2018). Neste procedimento, são selecionadas baratas de ambos os sexos que são alocadas em caixas de polietileno com medidas de 15 cm de largura, 15 cm de comprimento e 7 cm de altura. Para a realização do teste, determina-se o composto a ser testado, a concentração e a dose final que será utilizada. Também são feitos ensaios controle com solução salina 0,9%. Em seguida, o composto é aplicado na terceira porção abdominal do inseto, com o auxílio de uma seringa de Hamilton (10µl), , diretamente na hemocele. Após a aplicação das doses, os insetos passam por um período de adaptação de 5 minutos no ambiente de teste. Após este período, iniciam-se os registros nos quais os movimentos dos insetos são monitorados através de uma câmera Logitech® HD WEBCAM posicionada sobre o aparato experimental e conectada a um computador Desktop (Dell, São Paulo, Brasil) durante 10 minutos. Ao final da gravação de todos os testes, os vídeos são analisados pelo software IDtracker (Stoelting, Co, USA) seguido pelo MatLab e finalmente pelo software Insect Locomotion Tracking Program ILTP®. Como resultado, existem trabalhos que recentemente foram realizados pelo nosso grupo de pesquisa, dentre eles a administração de doses subletais de um pesticida agrícola denominado Fipronil (FL) nas doses de 0,1 0,01 ug/g de animal. Observou-se que em N. cinerea FL induziu alterações significativas no comportamento locomotor e exploratório. O parâmetro distância percorrida obteve como controle 478 cm percorridos e com a administração das doses de FL 0,1 e 0,01µg/g animal houve uma diminuição na distância percorrida pelos animais. Também se observou aumento nos episódios de imobilidade em segundos, sendo aproximadamente 275s no controle, todas as doses de FL apresentaram elevação significativa na porcentagem de episódios de imobilidade, tendo um aumento de aproximadamente 200% do tempo em relação ao grupo controle. Observou-se também aumento significativo na porcentagem de tempo de imobilidade, onde o tempo médio apresentado pelo controle foi de 42,7%. FL em sua maior dose obteve maior porcentagem no número de episódios de imobilidade, causando 80% a mais de letargia se comparado ao controle. Portanto, através da observação de mudanças nos padrões de comportamento locomotor e exploratório foi possível sugerir quais vias neurotransmissoras podem ter sofrido modulações em seu funcionamento. Sabe-se que, o pleno funcionamento das funções neurológicas dos indivíduos é fundamental visto que, insetos em ambientes naturais, principalmente polinizadores, não podem estar com suas cognições espaciais e de exploração comprometidas. Através dos conhecimentos sobre os efeitos neurocomportamentais observados através da locomoção dos indivíduos é possível elaborar estratégias a fim de reduzir os impactos ambientais em insetos não-alvo à exposição de doses subletais, como as utilizadas no trabalho, para que assim haja maior preservação do ecossistema e de sua biodiversidade.

Agradecimentos: CNPq, CAPES, FAPERGS, UNIPAMPA e UFSM.

**Palavras-chave:** Neurobiologia; Comportamento; Fipronil; Neurotransmissão; *Nauphoeta cinerea*.