

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**EFEITO TÓXICO DO COMPOSTO 2-
FENILETINIL-BUTILTELÚRIO SOBRE A MOSCA DA
FRUTA *Drosophila Melanogaster*: POSSÍVEL AÇÃO
INSETICIDA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Karina Chertok Bittencourt

**Itaqui, RS, Brasil
2018**

KARINA CHERTOK BITTENCOURT

**EFEITO TÓXICO DO COMPOSTO 2-FENILETINIL-BUTILTELÚRIO
SOBRE A MOSCA DA FRUTA *DROSOPHILA MELANOGASTER*:
POSSÍVEL AÇÃO INSETICIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Orientador: Marina Prigol

Co-orientador: Vandrezza Cardoso Bortolotto

Itaqui, RS, Brasil
2018

B624e Bittencourt Chertok, Karina.

Efeito do composto 2-feniletinil-butiltelúrio sobre a mosca da fruta
Drosophila Melanogaster: Possível ação inseticida / Karina Chertok
Bittencourt. 09/11/2018

Número de folhas: 39

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia) Universidade
Federal do Pampa, data. Orientação: Marina Prigol.

1. Telúrio. 2. Toxicidade 3. Mortalidade 4. Acetilcolinesterase I.
Prigol, Marina. II. Efeito do composto 2-feniletinil-butiltelúrio sobre a
mosca da fruta *Drosophila Melanogaster*: Possível ação inseticida

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu avô, Daniel Bittencourt, quem tem iluminado o meu caminho desde pequena, o recordo todos os dias e o guardo em meu coração. E aos meus amados pais, Ana Gabriela e José Alberto, que com suas conquistas, incentivam a luta pelas minhas.

AGRADECIMENTO

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, por me ajudar a achar em mim a força para lutar a cada dia e superar todos os obstáculos que se apresentaram ao longo desta jornada.

Aos meus pais, Ana Gabriela Bittencourt e José Alberto Chertok, que me orientaram para tomar as melhores decisões e apoiaram as minhas escolhas, e através de suas conquistas incentivaram as minhas, pois neles me espelho a cada dia para me tornar uma pessoa melhor, e aos seus companheiros Eduardo Nogueira e Giselle Beja, por toda a motivação, atenção e força. A eles sou grata pelos seus ensinamentos quanto ao valor do trabalho, perseverança e dedicação.

Ao meu namorado, Lucas Grassi Mello, pelo seu amor, apoio, sua companhia e toda a ajuda que me proporciona diariamente, e, principalmente, por sempre me incentivar a lutar pelos meus sonhos.

À Professora Dra. Marina Prigol pela orientação e pela sua disposição durante a realização deste trabalho.

Aos colegas do curso de Nutrição e do Mestrado e Doutorado em Bioquímica da Unipampa que contribuíram para a realização desta pesquisa.

À minha colega de curso e melhor amiga, Stella Bonorino Pazetto, quem ao meu lado enfrentou todas as dificuldades ao longo do caminho e com quem sei que posso contar sempre.

Aos professores do curso de Agronomia da Unipampa, minha gratidão por todos os conhecimentos compartilhados e pela forma de conduzir o curso em todas as etapas.

Agradeço também às minhas avós, Renée Gimenez e Rosa Voskoboynik, que desde a distância torcem sempre pelas minhas conquistas, sou grata pelo seu apoio e carinho em todos os momentos.

Agradeço ao meu irmão, Gabriel Chertok, pelo seu afeto e incentivo.

E, finalmente, aos meus avôs materno e paterno, Daniel Bittencourt e Isaac Chertok, aos quais recordo com muito amor e levo seus ensinamentos como base para a minha caminhada.

Para realizar grandes conquistas,
devemos não apenas agir, mas também sonhar;
não apenas planejar, mas também acreditar.

Anatole France

RESUMO

EFEITO TÓXICO DO COMPOSTO 2-FENILETINIL-BUTILTELÚRIO SOBRE A MOSCA DA FRUTA *Drosophila Melanogaster*: POSSÍVEL AÇÃO INSETICIDA

Autor: Karina Chertok Bittencourt

Orientador: Marina Prigol

Local e data: Itaqui, 09 de novembro de 2018.

O uso inadequado de inseticidas tem causado diversos problemas ambientais e à saúde humana ao longo dos anos, levando à procura por produtos alternativos não prejudiciais. O PEBT é um composto orgânico de telúrio que tem se mostrado promissor, pois não é tóxico para mamíferos, porém é tóxico para outras espécies, como bactérias, o qual levanta a questão sobre sua possível ação inseticida. A mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) é considerada um modelo de referência na pesquisa científica e tem sido utilizada, entre outras coisas, para testar a toxicidade de praguicidas. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial inseticida do 2-feniletinil-butiltelúrio, em diferentes concentrações, sobre a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*). O experimento foi conduzido no Laboratório de Avaliações Farmacológicas e Toxicológicas aplicadas às Moléculas Bioativas (LaftamBio Pampa) na Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui, RS. Os tratamentos consistiram em quatro grupos, um grupo controle [1] e três concentrações de PEBT: 0, 325 mM [2], 1,3 mM [3], e 5,2 mM [4]. Foram utilizadas 150 moscas por grupo, com 3 repetições. As avaliações consistiram em: ensaio de campo aberto e geotaxia negativa (*In vivo*), taxa de mortalidade e atividade da acetilcolinesterase (AChE) (*Ex vivo*). Constatou-se o efeito tóxico do PEBT sobre *Drosophila melanogaster* e sua possível ação inseticida, sendo a concentração letal 50% de 2,386 mM, em 48h. Em todas as concentrações testadas, o PEBT reduziu o comportamento locomotor e exploratório das moscas, em 24 e 48 horas. A sua toxicidade não se atribui à inibição da acetilcolinesterase (AChE), mas possivelmente aos seus efeitos pró-oxidantes, induzindo o estresse oxidativo nas moscas.

Palavras-chave: **Telúrio; Toxicidade; Mortalidade; Acetilcolinesterase.**

ABSTRACT

TOXIC EFFECT OF THE 2- PHENYLETHYNYL-BUTYLTELLURIUM COMPOUND ON THE FRUIT FLY *Drosophila Melanogaster*: POSSIBLE INSECTICIDAL ACTION

Author: Karina Chertok Bittencourt

Advisor: Marina Prigol

Data: Itaquí, November 09, 2018.

The inappropriate use of insecticides has caused a variety of environmental problems and damages to human health along the years, leading to a search for non-harmful alternative products. PEBT is an organic tellurium compound that has shown to be promising, as it is not toxic to mammals, however it can be to other species, like bacteria, which raises the question about its possible insecticidal action. The fruit fly (*Drosophila melanogaster*) is considered as a reference model in scientific research and it has been used, among other things, to test the toxicity of some insecticides. In this context, the objective of the present study is to evaluate the insecticide potential of 2-phenylethynyl-butyltellurium, in different concentrations, on the fruit fly (*Drosophila melanogaster*). The experiment was conducted in the Pharmacological and Toxicological Evaluations Applied to Bioactive Molecules Laboratory (LaftambioPampa) in the Federal University of Pampa, Itaquí, RS. The treatments consisted of four groups, a control group [1] and three different concentrations of PEBT: 0, 325 mM [2], 1,3 mM [3], e 5,2 mM [4]. There were used 150 flies for each group, with 3 repetitions. The evaluations consisted on an open field assay and a negative geotaxia of flies test (*In vivo*), mortality rate and acetylcholinesterase (AChE) activity (*Ex vivo*). The toxic effect of PEBT on *Drosophila melanogaster* and its possible insecticidal action were verified, and the lethal median concentration was determined as 2,386 mM, in 48h. In all the concentrations, PEBT reduced the locomotor and exploratory behavior of the fly, in 24 and 48 hours. Its toxicity is not due to the inhibition of the acetylcholinesterase (AChE) activity, but possibly to its pro oxidant effects which induce the oxidative stress in the flies.

Keywords: **Tellurium; Toxicity; Mortality; Acetylcholinesterase.**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do composto 2-feniletinil-butiltelúrio	08
Figura 2: Desenho experimental deste estudo	12
Figura 3A: Taxa de mortalidade de moscas em 24h	14
Figura 3B: Taxa de mortalidade de moscas em 48h	14
Figura 4: Determinação da CL ₅₀ do composto 2-feniletinil-butiltelúrio	14
Figura 5A: Efeito da toxicidade do composto 2-feniletinil-butiltelúrio no comportamento de Geotaxia negativa da mosca da fruta em 24h	16
Figura 5B: Efeito da toxicidade do composto 2-feniletinil-butiltelúrio no comportamento de Geotaxia negativa da mosca da fruta em 48h	16
Figura 6A: Efeito da toxicidade do composto 2-feniletinil-butiltelúrio sobre a mosca da fruta (<i>Drosophila melanogaster</i>) no ensaio de campo aberto, em 24h	16
Figura 6B: Efeito da toxicidade do composto 2-feniletinil-butiltelúrio sobre a mosca da fruta (<i>Drosophila melanogaster</i>) no ensaio de campo aberto em 48h	16
Figura 7A: Efeito do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) na alteração da atividade da acetilcolinesterase (AChE) em 48h na parte da cabeça	17
Figura 7B: Efeito do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) na alteração da atividade da acetilcolinesterase (AChE) em 48h na parte do corpo	17

ABREVIATURAS

AChE – acetilcolinesterase

ACh – acetilcolina

CL₅₀ – Concentração Letal 50%

n. – número

mM – milimolar

p. – página

PEBT – 2-feniletinil-butiltelúrio

v. – volume

LISTA DE SIGLAS

UNIPAMPA – Universidade Federal do Pampa

LAFTAMBIO – Laboratório de Avaliações Farmacológicas e Toxicológicas aplicadas a Moléculas Bioativas.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Objetivo geral.....	03
1.2 Objetivos específicos.....	03
2 REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1 Os inseticidas.....	04
2.2 O Telúrio	05
2.3 O Composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT)	06
2.4 <i>Drosophila melanogaster</i>	07
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	09
3.1 Preparo da dieta	09
3.2 Avaliações	10
3.2.1 Taxa de mortalidade	10
3.2.2 Determinação da concentração letal 50% (CL ₅₀)	10
3.2.3 Geotaxia negativa	11
3.2.4 Ensaio de campo aberto.....	11
3.2.5 Atividade da acetilcolinesterase (AChE).....	11
3.3 Análise estatística	12
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4.1 Efeito tóxico do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) sobre a mosca da fruta (<i>Drosophila melanogaster</i>).....	13
4.5 Efeito do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) na alteração da atividade da acetilcolinesterase (AChE)	17
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
6 REFERÊNCIAS	21

1 INTRODUÇÃO

Diversas práticas e técnicas têm contribuído para o aumento da produção agrícola nos últimos anos, tais como: a irrigação, o uso de corretivos e fertilizantes, o melhoramento genético, as práticas conservacionistas de manejo do solo e da água, e, principalmente, o controle de pragas, doenças e ervas daninhas, entre outros.

O Brasil atualmente é o país que mais consome agrotóxicos no mundo, já que esses produtos são considerados relevantes para o modelo agrícola vigente (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2012). Em relação ao controle de pragas, a aplicação de inseticidas é uma das práticas mais utilizadas pelos produtores rurais por ser uma das mais efetivas, entretanto, seu uso incorreto e indiscriminado, tem causado diversos problemas à saúde humana e ao meio ambiente ao longo dos anos (CORRÊA & SALGADO, 2011).

Nesse contexto, observa-se uma maior demanda dos consumidores por alimentos produzidos sem a utilização de agrotóxicos, o que dificultaria a produção de alimentos em larga escala, devido ao significativo percentual de perdas de produtividade oriundo de danos causados por pragas agrícolas. Portanto, surge a necessidade de procura por produtos efetivos no controle das mesmas e não prejudiciais à saúde humana.

Uma substância que tem sido muito estudada quanto às suas propriedades químicas nos últimos anos é o Telúrio, um elemento químico pertencente ao grupo 16 da tabela periódica, denominado família dos calcogênicos (NOGUEIRA & ROCHA, 2012).

É visto com maior frequência na forma de teluretos de ouro, bismuto, chumbo e prata (NOGUEIRA & ROCHA, 2012), porém também encontra-se na composição de organismos vegetais, como em alguns membros da família Alliaceae, em fluídos corporais de camundongos, tais como urina e sangue e, inclusive, em humanos (LARNER, 1995; SIDDIK & NEWMAN, 1988; NEWMAN *et al.*, 1989; REZANKA & SIGLER, 2008 apud GUERRA DE SOUZA, 2013).

Atualmente existem diversos compostos orgânicos de telúrio sintetizados, os quais possuem diferentes características e estruturas químicas, e, vários destes vem sendo estudados quanto às suas propriedades fármaco-toxicológicas (NOGUEIRA & ROCHA, 2012).

De maneira geral, compostos orgânicos de telúrio mostram-se bastante promissores, com efeitos benéficos ao organismo, porém podem demonstrar toxicidade dependendo da intensidade e da estrutura do composto, levando em consideração a concentração

administrada e a espécie em questão (NOGUEIRA *et al.*, 2004 apud GUERRA DE SOUZA, 2013).

Alguns compostos, como os teluroacetilenos, não apresentam efeitos tóxicos em mamíferos, e possuem propriedades farmacológicas, como: propriedades imunomoduladoras, quimioprotetoras, antidepressivas, antiepileptogênicas, anti-helmínticas e antioxidantes (GUERRA DE SOUZA, 2013).

Dentre os teluroacetilenos, encontra-se o composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT), o qual já demonstrou efeitos antioxidantes *in vivo*, na proteção contra o dano oxidativo causado por nitroprussiato de sódio em cérebro de camundongos, portanto, a partir disto, o PEBT demonstra ser um composto promissor, sem expressar efeito tóxico na utilização em vertebrados (SOUZA *et al.*, 2009 apud GUERRA DE SOUZA, 2013).

Porém, recentemente, esse composto foi apresentado com propriedades bactericidas quando testado em *Escherichia coli*, como demonstrado por Pinheiro *et al.* (2018), o qual levanta a questão sobre seu possível efeito tóxico em animais invertebrados, e, conseqüentemente, sua possível ação inseticida, o que poderia resultar em uma alternativa interessante no contexto atual da produção agrícola.

A *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como “mosca da fruta” ou “mosca do vinagre” é considerada um modelo alternativo na pesquisa científica devido à sua fácil manutenção em laboratórios, baixo custo e por sobreviverem à temperatura ambiente (MORALES, 2008). Estes organismos são empregados principalmente em estudos em genética (PEREIRA, 2001), porém também têm sido muito utilizados como modelos biológicos a fim de testar a toxicidade de praguicidas (ROCHA *et al.*, 2013).

Esse tipo de estudo é muito promissor, pois permite a descoberta de novas substâncias com potencial inseticida não explorado, oferecendo alternativas não prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente, o qual é compatível com as tendências das novas tecnológicas que vem sendo utilizadas na agricultura com essa finalidade.

1.1 Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivo avaliar o potencial inseticida do composto 2-feniletinil-butiltelúrio, em diferentes concentrações, sobre a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*).

1.2 Objetivos específicos

- Avaliar a toxicidade do composto 2-feniletinil-butiltelúrio, a través da taxa de mortalidade nas moscas;
- Determinar a concentração letal 50% (CL₅₀) do composto 2-feniletinil-butiltelúrio;
- Avaliar o comprometimento locomotor nas moscas;
- Avaliar alterações na atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE);

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Os inseticidas

O controle químico de pragas, realizado a partir do uso de inseticidas, é o tipo de controle mais utilizado atualmente nas propriedades agrícolas. Os inseticidas são considerados uma ferramenta de grande valor no manejo de pragas, pois são altamente efetivos, possuindo ação curativa rápida, além de serem relativamente econômicos e adaptáveis à maioria das situações, representando o único método confiável e eficaz em situações de emergência, quando a infestação de pragas se aproxima ou ultrapassa o nível de controle (METCALF, 1994).

Porém, seu uso inadequado e indiscriminado tem causado diversos problemas à saúde humana e ao meio ambiente ao longo dos anos (CORRÊA & SALGADO, 2011), dentre os quais se destacam: (1) o acúmulo de resíduos tóxicos em alimentos; (2) a intoxicação de produtores rurais; (3) o desenvolvimento de resistência de pragas a inseticidas/acaricidas; (4) a ressurgência ou aparecimento de novas pragas; (5) as altas infestações por pragas secundárias, bem como, (6) os efeitos adversos sobre organismos não-alvo como por exemplo a redução da população de insetos úteis como abelhas e outros polinizadores, além de insetos parasitoides e predadores; (CORRÊA & SALGADO, 2011; SMITH, 1970).

O modo de ação de um inseticida refere-se ao processo pelo qual uma molécula inseticida interage com o seu alvo, causando bloqueio em algum processo metabólico. Tais interações levam a alterações em processos anatômicos, fisiológicos, e/ou bioquímicos normais da praga alvo, os quais se expressam na forma de toxicidade e inabilidade de sobrevivência (ETO, 1990).

Conhecer o modo de ação de um inseticida é de extrema importância para a implementação efetiva de programas de manejo de pragas, considerando-se a possibilidade de desenvolvimento de resistência de pragas a inseticidas (GALLO et al., 2002), a qual pode ser evitada a partir da rotação de modos de ação de inseticidas, assim como todos os riscos decorrentes do uso do mesmo.

Dentre os modos de ação de inseticidas sintéticos atualmente disponíveis no mercado agrícola encontram-se os inibidores de acetilcolinesterase (AChE), os agonistas e antagonistas

de acetilcolina (ACh), os agonistas do ácido gama aminobutírico (GABA), os agonistas da octopamina, os moduladores de canais de sódio (Na⁺), os bloqueadores de canais de Na⁺, os reguladores de crescimento de insetos, os inibidores de síntese de quitina, os agonistas e antagonistas do hormônio juvenil, os agonistas de ecdisteróides, os inibidores de transporte de elétrons, os inibidores da síntese de ATP, e os inibidores da ATPase (ALVES & SERIKAWA, 2006). Sendo que, atualmente, os inseticidas mais utilizados fazem parte do grupo dos organofosforados e carbamatos, os quais atuam inibindo a ação da acetilcolinesterase (AChE), um tipo de enzima que catalisa a hidrólise do agente neurotransmissor acetilcolina (ACh), o que resulta no acúmulo de acetilcolina durante a sinapse, causando hiperexcitabilidade, devido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos (FUKUTO, 1990).

2.2 O Telúrio

O elemento telúrio (Te) é um semimetal pertencente ao grupo 16 da tabela periódica, denominado família dos calcogênicos (GUERRA DE SOUZA, 2013), junto ao Oxigênio (O), Enxofre (S), Selênio (Se) e Polônio (Po).

Foi descoberto em 1782 pelo químico Frans-Joseph Mueller Von Reichstein ao estudar um minério contendo ouro, e isolado pela primeira vez, em 1798 por Klaproth (COOPER, 1971). Seu nome deriva da palavra terra em Latim, tellus (TAYLOR, 1996).

Pode ser encontrado em diferentes estados de oxidação como: Te⁺⁶ (telurato), Te⁺⁴ (telurito) Te⁰ (telúrio elementar) e Te⁺² (telureto) (SCANSETTI, 1992), porém, ocorre principalmente como teluretos (Te 2-) de ouro, prata, chumbo e bismuto (TAYLOR, 1996).

O telúrio (Te) apresenta propriedades similares às do arsênico (As), selênio (Se) e antimônio (Sb). Esses elementos possuem aplicações industriais relacionadas, e mesmo o telúrio não sendo amplamente utilizado, é requerido em um número importante de aplicações industriais (TAYLOR, 1996).

Ocupa um papel particular na fabricação de semicondutores e outros componentes eletrônicos, além de ser um componente de ligas especiais, as quais melhoram a dureza e resistência à corrosão. É empregado em lâmpadas de alta intensidade, no processo de síntese de explosivos, na vulcanização da borracha, em lubrificantes sólidos e na petroquímica

(TAYLOR, 1996). Também é utilizado na produção industrial de vidro e aço e como um aditivo antidetonante na gasolina (FAIRHILL, 1969).

Além disso, estudos recentes têm demonstrado o uso de nanopartículas de telureto de cádmio fluorescente como biomarcadores para análise de imagem (GREEN et al., 2007; BA et al., 2010, apud GUERRA DE SOUZA, 2013).

Na natureza, está presente na composição de organismos vegetais, particularmente em membros da Família *Alliaceae*, como no alho (*Allium sativum*) (LARNER, 1995), e em fluídos corporais de camundongos, onde foram identificadas pequenas quantidades de telúrio na urina e no sangue (SIDDIK & NEWMAN, 1988; NEWMAN *et al.*, 1989, apud GUERRA DE SOUZA 2013).

Em 1967, Schoroeder e colaboradores determinaram, utilizando espectrometria de absorção atômica, que o organismo humano possui uma quantidade relativamente grande de telúrio, quando comparada a outros elementos-traço, tais como ferro e zinco (REZANKA e SIGLER, 2008 apud GUERRA DE SOUZA, 2013).

2.1.1 O Composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT)

O composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) (**Figura 1**) pertence à classe dos teluroacetilenos, uma classe de compostos orgânicos de telúrio. Esse tipo de compostos não tem apresentado efeitos tóxicos em mamíferos, e possuem, ainda, propriedades farmacológicas (NOGUEIRA et al., 2004).

Foi demonstrado que teluroacetilenos apresentam atividade antioxidante *in vitro* avaliada em cérebro de ratos, pois reduzem a peroxidação lipídica e a oxidação de proteínas induzidas por estresse oxidativo. Além disso, inibem a atividade da enzima sulfídrica delta-amino-levulinato desidratase *in vitro*, um parâmetro de toxicidade (SOUZA et al., 2009 apud GUERRA DE SOUZA, 2013).

Estudos demonstram que o PEBT proporciona proteção contra o dano oxidativo causado por nitroprussiato de sódio em cérebro de camundongos, o qual sugere um efeito antioxidante *in vivo* desse composto. Além do mais, o PEBT foi capaz de aumentar *per se* a atividade da glutathione peroxidase, uma enzima antioxidante, em cérebro de camundongos, embora este não apresente atividade mimética da mesma, o qual, somado ao efeito scavenger

de radicais exercido pelo composto, pode explicar sua ação antioxidante *in vivo*. (SOUZA et al., 2009 apud GUERRA DE SOUZA, 2013).

Segundo Nogueira et al. (2004), a intensidade da toxicidade de compostos de telúrio, não depende apenas da estrutura do mesmo e da concentração administrada, mas também da espécie em questão. Sendo assim, recentemente, o PEBT exibiu atividade antimicrobiana contra a bactéria *Escherichia coli*, envolvendo a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), a oxidação de tióis não proteicos (NPSH), e a redução das defesas antioxidantes nas células bacterianas como demonstrado por Pinheiro *et al.* (2018), tornando-se necessários mais estudos em relação a sua toxicidade em animais invertebrados.

2.2 *Drosophila melanogaster*

Drosophila melanogaster, conhecida popularmente como “mosca da fruta” ou “mosca do vinagre” é um inseto díptero, que mede aproximadamente 4mm, de fácil conservação, alimentação e manuseio (PEREIRA, 2001). É holometábolo, pois possui um ciclo de vida de metamorfose completa (ovo, larva, pupa e adulto), o qual também é curto e dependente das condições ambientais (PEREIRA, 2001). Foi introduzida como um modelo genético por T.H. Morgan há aproximadamente 100 anos e, desde então, tem permitido entender muitos mecanismos e processos biológicos importantes, assim como a pesquisa avançada em saúde humana (PROKOP, 2016).

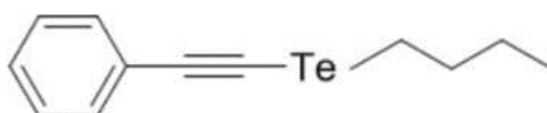
É considerada como um modelo de referência na pesquisa científica devido à sua fácil manutenção em laboratórios, baixo custo e por sobreviverem à temperatura ambiente (MORALES, 2008). Além disso, as moscas e os humanos possuem raízes evolutivas comuns e apresentam semelhanças notáveis ao nível dos seus genes, células, tecidos e processos biológicos subjacentes ao seu desenvolvimento, saúde e doença. Em média, 75% dos genes de doenças humanas tem uma correspondência próxima o suficiente para serem estudados em *Drosophila melanogaster* (PROKOP, 2016).

Estes organismos são amplamente estudados em diversas áreas, tais como: fisiologia, comportamento, desenvolvimento e biologia molecular (FARIAS, 2016). Porém, são empregados principalmente em estudos em genética (PEREIRA, 2001), pois viabilizam descobertas sobre os fatores de transmissão dos caracteres hereditários, ligação e interação

genética, efeitos da radiação, aberrações cromossômicas, mudanças evolutivas em populações, entre outros (OLIVEIRA, 2011).

Alguns pesquisadores têm utilizado bioensaios com a mosca *Drosophila melanogaster* como indicadores de resíduos de agrotóxicos em alimentos e da presença, no ambiente, de substâncias químicas com potencial mutagênico, já que possuem uma elevada sensibilidade para detectar substâncias tóxicas (ALMEIDA et al., 2001). Por esse motivo, recentemente, também têm sido muito utilizadas como modelos biológicos a fim de testar a toxicidade de praguicidas (ROCHA et al., 2013).

FIGURA 1. Estrutura química do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT).



3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Avaliações Farmacológicas e Toxicológicas aplicadas às Moléculas Bioativas (LaftamBio Pampa) na Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui, RS.

O composto PEBT foi preparado de acordo com método proposto por Comasseto et al. (1996) pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa – LASOL, CCQFA, Universidade Federal de Pelotas. Os demais reagentes foram obtidos através da UNIPAMPA, Campus Itaqui.

As moscas utilizadas no experimento provêm do Centro Nacional de Espécies (National Species Center) em Bowling Green, Ohio, USA.

Os tratamentos consistiram em quatro grupos, com um grupo controle [1] e os demais grupos em três concentrações diferentes de PEBT: 0, 325 mM [2], 1,3 mM [3], e 5,2 mM [4]. As concentrações de PEBT testadas neste estudo foram determinadas a partir de testes preliminares. Foram utilizadas 150 moscas, de 1 a 4 dias de idade, de ambos os sexos por tratamento, sendo realizadas 3 repetições, com 50 moscas cada grupo, expostas ao experimento por um período de 48 horas.

3.1. Preparo da dieta

Para o preparo da dieta foi pesado o valor, em gramas, correspondente à maior concentração de PEBT (0,02808 g), utilizando balança de precisão de 0,0001 e micropipeta automática regulável, e o produto foi diluído 200 µl em dimetilsulfóxido (DMSO) para obter a primeira solução-mãe, equivalente a (0,52 M). As duas concentrações menores foram obtidas por diluição. Foram pipetados 50 µl da solução de 0,52 M e 150 µl de DMSO para obter a solução de 0,13 M. Esse procedimento foi repetido para obter a solução de 0,0325 M a partir da 0,13 M.

Para obter as três concentrações utilizadas nos tratamentos (5,2 mM, 1,3 mM e 0,325 mM) foram pipetados 10 µl de cada uma das soluções mães respectivamente e acrescentados 990 µl de sacarose (1%), obtendo assim 1000 µl de solução.

Na base dos vidros de tratamento, foram dispostos recortes de papel-filtro e os vidros foram vedados utilizando esponjas para impedir a saída das moscas.

3.2 Avaliações

Os testes realizados foram: taxa de mortalidade, geotaxia negativa e ensaio de campo aberto *in vivo*, e atividade da acetilcolinesterase (Ache) *ex vivo*.

Esses procedimentos encontram-se representados na **Figura 2**.

3.2.1 Taxa de mortalidade

A taxa de mortalidade das moscas foi avaliada diariamente, a partir da contagem do número de moscas vivas, até o final do período experimental (48 horas). Em cada grupo foram incluídas 150 moscas, representando a média de 3 experimentos independentes (50 moscas por grupo).

3.2.2 Determinação da Concentração Letal 50% (CL₅₀)

A concentração letal 50% (CL₅₀) expressa o grau de toxicidade aguda de substâncias químicas. Correspondem às concentrações que provavelmente matam 50% dos indivíduos de um lote utilizados em experimentos. São valores calculados estatisticamente a partir de dados obtidos experimentalmente. Com base nas CL₅₀ de várias substâncias, são estabelecidas classes toxicológicas de produtos químicos e farmacológicos.

No presente estudo, a CL₅₀ foi determinada a partir da taxa de mortalidade das moscas.

3.2.3 Geotaxia negativa

O teste de geotaxia negativa é utilizado para avaliar a atividade locomotora das moscas com base no comportamento fototático, para isto as moscas são anestesiadas com gelo e transferidas a um tubo falcon (15 cm de comprimento e 1,5 cm de diâmetro), após um tempo de recuperação de 10 minutos, foi registrado o tempo gasto por cada mosca para atingir uma altura de 8 cm, medido a partir do fundo do tubo.

O teste foi realizado às 24h e às 48h após o início do experimento, utilizando a média de 6 moscas por repetição em cada grupo.

Em cada grupo foram incluídas 18 moscas, representando a média de 3 experimentos independentes (6 moscas por grupo).

3.2.4 Ensaio de campo aberto

O ensaio de campo aberto é utilizado para avaliar o comportamento e a atividade exploratória da mosca. Para isso as moscas são colocadas em uma placa de Petri dividida em quadrantes de um centímetro quadrado, e são contados o número de quadrados que a mosca percorreu durante 60 segundos.

O teste foi realizado às 24h e às 48h após o início do experimento, utilizando 6 moscas por repetição em cada grupo, sendo incluídas um total de 18 moscas, representando a média de 3 experimentos independentes (6 moscas por grupo).

3.2.5 Atividade da acetilcolinesterase (*AChE*)

A atividade da acetilcolinesterase (*AChE*) foi determinada de acordo com o método de Ellmann et al., (1961).

O teste foi realizado às 48 h após o início do experimento, com as moscas que sobreviveram, utilizando 10 moscas por repetição, separando cabeça e corpo. As moscas foram homogeneizadas e centrifugadas a 1000 rpm durante 10 min a 4 °C.

Para as análises bioquímicas, as moscas foram eutanasiadas em gelo. As partes cabeça e corpo foram cuidadosamente separadas e homogenizadas utilizando uma solução tampão de HEMES (Ácido 4- (2-hidroxietil) -1-piperazinoetanossulfônico) (20 mM, pH 7.0), 1:10 (moscas/volume μL), durante 2 minutos imediatamente após a centrifugação das amostras de acordo com a análise desejada. Posteriormente, o sobrenadante das amostras foi removido e utilizado para os ensaios bioquímicos. Todas as determinações bioquímicas foram realizadas em duplicatas.

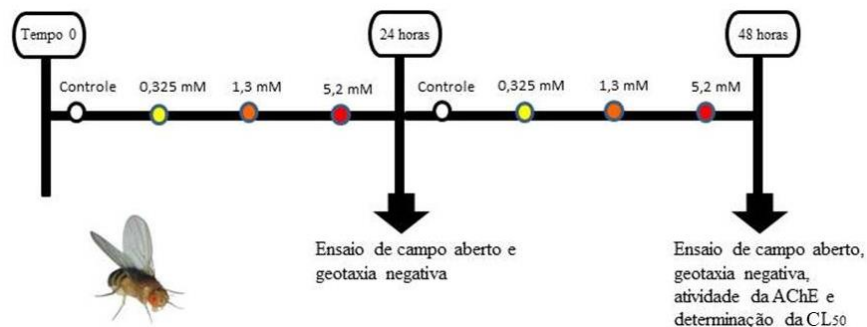
O meio de reação foi preparado contendo 0,25 M KPi de solução tampão com pH 8.0 e 5,50 de ácido ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB 5 mM). Foi adicionado à solução homogeneizada e a acetilcolina 7.25 mM (2.1 mg/ml). A leitura foi realizada durante 2 min a 412 nm. As atividades enzimáticas foram expressas em nm de substrato hidrolisado/min/mg de proteína.

3.3 Análise estatística

Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. A análise estatística foi realizada pela análise de variância ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Newman-Keuls. Foram consideradas significativas as diferenças entre os tratamentos quando $p < 0,05$, utilizando o programa GraphPad Prism5.

Para a determinação da concentração letal 50% foi utilizado o teste de regressão linear do programa GraphPad Prism5.

FIGURA 2. Desenho experimental deste estudo.



Fonte: Karina Chertok Bittencourt (2018).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito tóxico do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) sobre a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*)

A análise post-hoc mostrou que as moscas expostas às três diferentes concentrações do composto (0,325 mM, 1,3 mM e 5,2 mM) apresentaram uma taxa de mortalidade maior quando comparadas ao grupo controle, porém as moscas expostas à concentração de 5,2 mM apresentaram a maior taxa de mortalidade, tanto em 24h (**Figura 3A**), como em 48h (**Figura 3B**). A ANOVA de uma via mostrou uma interação significativa entre os grupos 24 horas após a exposição [$F_{(3,20)} = 49,88$; $P < 0,0001$] e 48 horas após a exposição [$F_{(3,20)} = 127,1$; $P < 0,0001$]. Assim, é possível observar que o composto 2-feniletinil-butiltelúrio possui efeito tóxico sobre a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*), comprovando sua possível ação inseticida. A maior taxa de mortalidade obtida através da maior concentração de PEBT (5,2 mM) em relação às outras concentrações (1,3 e 0,325 mM) pode ser explicada a partir da determinação da concentração letal 50% (CL_{50}).

Os resultados revelaram valores de CL_{50} para o PEBT de 2,386 mM (**Figura 4**). Esta concentração é capaz de matar até 50% da população vulnerável de *Drosophila melanogaster*, portanto, pode-se estipular que somente a partir desse valor haverá diferenças significativas quanto à taxa de mortalidade das moscas.

A concentração é relativamente baixa, o qual resulta positivo visto que não será necessário aplicar concentrações excessivamente altas do produto para eliminar 50% da população vulnerável, diminuindo, dessa forma, os riscos ambientais.

FIGURA 3. Taxa de mortalidade de moscas devido ao efeito tóxico do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) sobre a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) em 24h (**A**) e em 48h (**B**). Os valores são fornecidos como média \pm SD. Significância determinada pela análise da variância (ANOVA) seguida do teste post- hoc de Newman Keuls. A diferença significativa dos

grupos em relação ao grupo controle foi representada por um asterisco (*) e em relação às concentrações de PEBT, por um símbolo numeral (#).

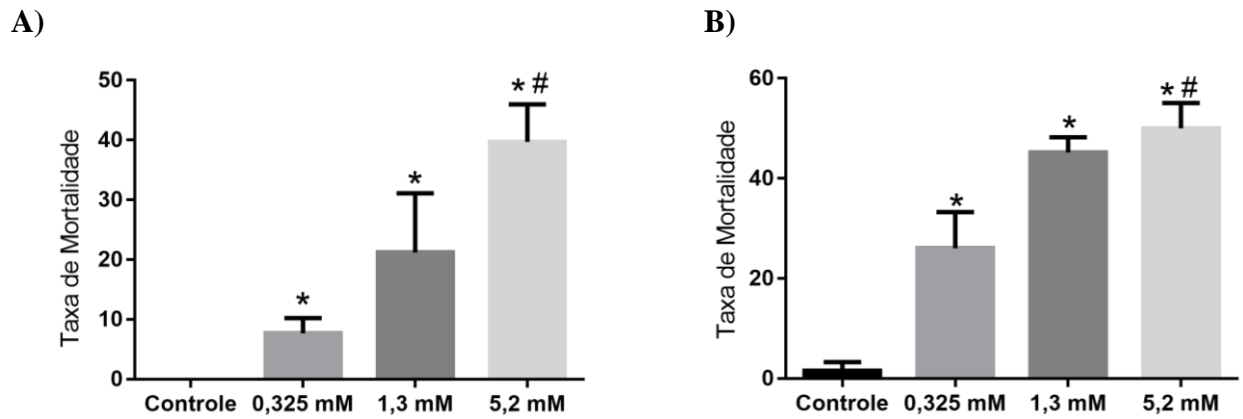
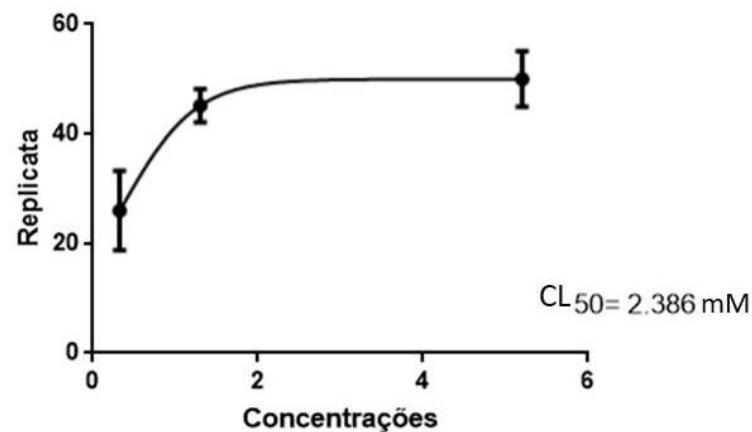


FIGURA 4. Determinação da concentração letal 50% (CL_{50}) do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) a partir do efeito tóxico do composto sobre a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*).



A análise post-hoc também mostrou que as moscas expostas à concentração de 5,2 mM de PEBT apresentaram maior tempo de escalada em comparação às moscas do grupo controle e as concentrações 0,325 mM e 1,3 mM no teste de geotaxia negativa após 24h de exposição (**Figura 5A**). Após 48h de exposição às diferentes concentrações de PEBT, as

moscas apresentaram tempo aumentado de escalada quando comparadas ao grupo controle, sem apresentar diferenças significativas entre si (**Figura 5B**). A ANOVA de uma via mostrou uma interação significativa entre os grupos 24 horas após a exposição [$F_{(3,16)} = 18,36$; $P < 0,0001$] e 48 horas após a exposição [$F_{(3,17)} = 11,39$; $P = 0,0002$].

Também foi possível observar, a partir do ensaio de campo aberto, que o comportamento locomotor e exploratório das moscas, 24h após o início do experimento, mostrou-se reduzido nas concentrações de 1,3 mM e 5,2 mM de PEBT em relação ao grupo controle e à concentração de 0,325 mM, sendo que as moscas expostas à concentração de 5,2 mM apresentaram uma redução maior desse comportamento quando comparadas à concentração de 1,3 mM (**Figura 6A**). Após 48h, pode-se observar que as moscas expostas às diferentes concentrações do composto apresentaram o seu comportamento locomotor e exploratório reduzido quando comparadas ao grupo controle, porém não apresentaram diferenças significativas entre si (**Figura 6B**). A ANOVA de uma via mostrou uma interação significativa entre os grupos 24 horas após a exposição [$F_{(3,2)} = 25,26$; $P < 0,0001$] e 48 horas após a exposição [$F_{(3,18)} = 32,84$; $P < 0,0001$].

Dessa forma, sugere-se que a redução do comportamento locomotor e exploratório das moscas causada pelo PEBT ocorreu como efeito de sua toxicidade, pois é possível estabelecer uma relação direta entre o comportamento das moscas e a taxa de mortalidade, já que em 24h a maior concentração do composto (5,2 mM) causou a maior redução no comportamento locomotor e exploratório das moscas comparada às outras concentrações e ao grupo controle, como observado em ambos os ensaios de comportamento, e também, a maior taxa de mortalidade.

Em 48h todas as concentrações testadas são capazes de reduzir o comportamento locomotor e exploratório das moscas em proporções semelhantes, como observado em ambos os testes, porém, o aumento significativo da taxa de mortalidade exige concentrações a partir de 2,386 mM (CL_{50})

FIGURA 5. Efeito da toxicidade do PEBT no comportamento de Geotaxia negativa da mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) no tempo em segundos (s) de escalada no teste de geotaxia negativa, em 24h (**A**) e 48h (**B**). Seis moscas de cada grupo foram utilizadas e os valores representam a soma de três experimentos independentes. Valores fornecidos como média \pm SD. Significância determinada pela análise da variância (ANOVA) seguida do teste

post- hoc de Newman Keuls. A diferença significativa dos grupos em relação ao grupo controle foi representada por um asterisco (*) e em relação às concentrações de PEBT, por um símbolo numeral (#).

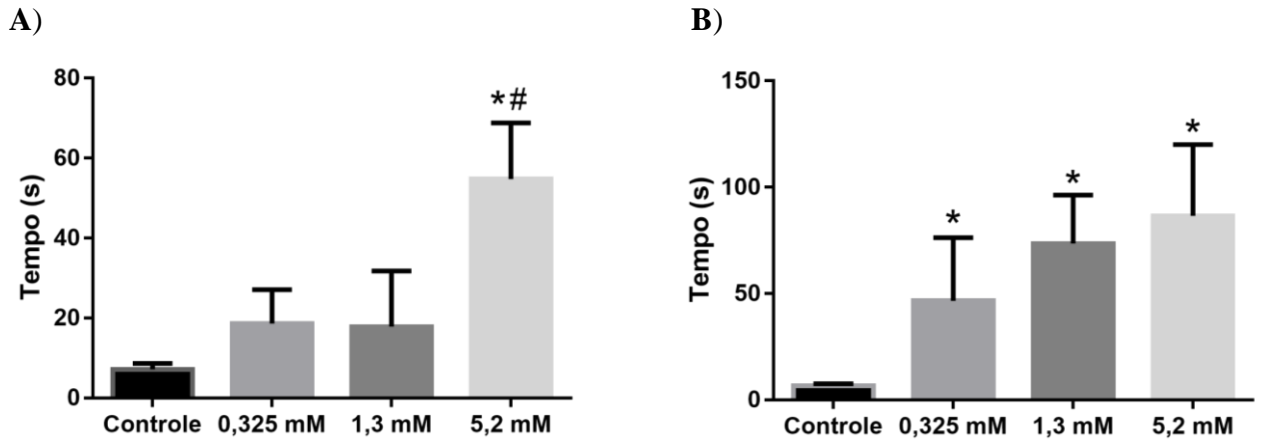
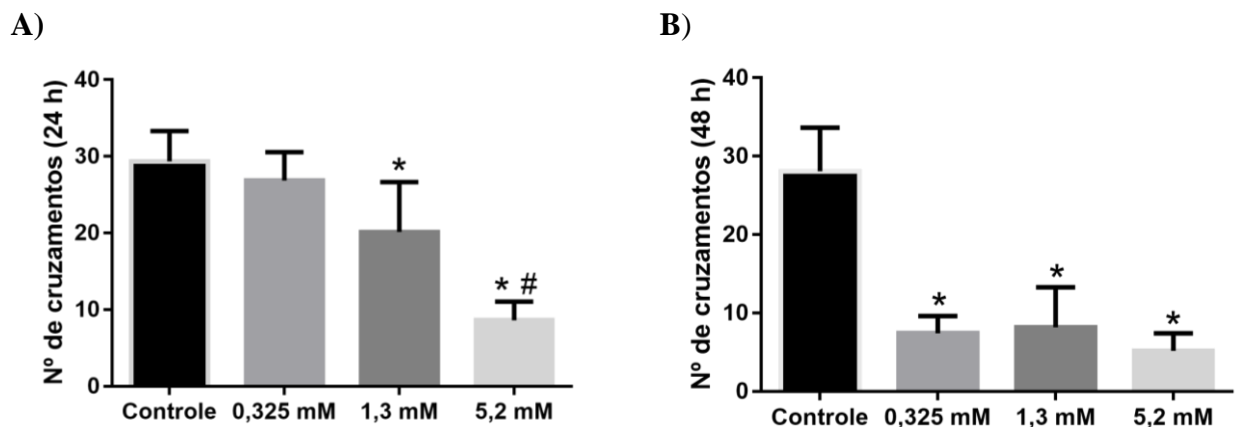


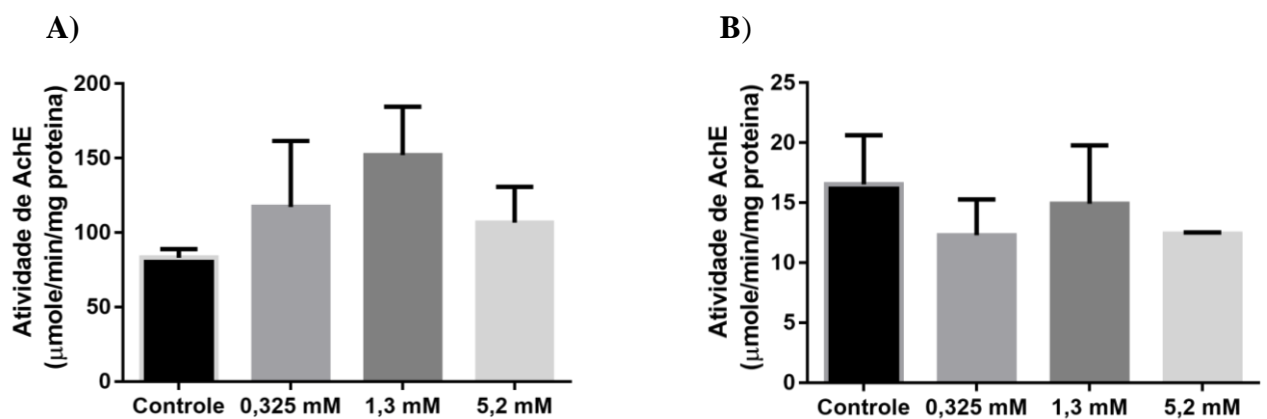
FIGURA 6. Efeito da toxicidade do PEBT sobre a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) na distância em centímetros (cm) percorrida no ensaio de campo aberto, em 24(A) e 48h (B). Seis moscas de cada grupo foram utilizadas e os valores representam a soma de três experimentos independentes. Os valores são fornecidos como média \pm SD. Significância determinada pela análise da variância (ANOVA) seguida do teste post- hoc de Newman Keuls. A diferença significativa dos grupos em relação ao grupo controle foi representada por um asterisco (*) e em relação às concentrações de PEBT, por um símbolo numeral (#).



4.2 Efeito do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) na alteração da atividade da acetilcolinesterase (AChE)

A análise post-hoc mostrou que a atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi semelhante em todos os grupos experimentais, em ambas as partes, cabeça (**Figura 7A**) e corpo (**Figura 7B**). A ANOVA de uma via não revelou uma interação significativa entre os grupos na cabeça das moscas [$F_{(3,9)} = 2.441$; $P = 0,1341$] e no corpo das moscas [$F_{(3,12)} = 1.300$; $P = 0,3196$].

FIGURA 7. Efeito do composto 2-feniletinil-butiltelúrio (PEBT) na alteração da atividade da acetilcolinesterase (AChE), em 48h, nas partes cabeça (**A**) e corpo (**B**). Dez moscas de cada grupo foram utilizadas, estes valores representam a soma de três experimentos independentes. Os valores são fornecidos como média \pm SD. Significância determinada pela análise da variância (ANOVA) seguida do teste post- hoc de Newman Keuls. A diferença significativa dos grupos em relação ao grupo controle foi representada por um asterisco (*) e em relação às concentrações de PEBT, por um símbolo numeral (#).



Desta forma, é possível afirmar que a toxicidade do PEBT sobre as moscas não diz respeito à inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), o qual resulta positivo, pois, esse modo de ação, próprio de inseticidas organofosforados e carbamatos, atribui toxicidade a

esses compostos não somente em insetos, mas também em mamíferos (FUKUTO, 1990), já que essa enzima também está presente nos mesmos.

A acetilcolinesterase é uma enzima responsável pela degradação do mediador químico acetilcolina nas sinapses nervosas na placa neuromuscular de diversos órgãos. Quando ocorre a passagem do estímulo nervoso em uma sinapse há a ação da enzima rompendo a acetilcolina em acetato + colina. A partir da inibição dessa enzima, ocorre a passagem direta de estímulos nervosos sem interrupção, surgindo uma síndrome parassimpaticomimética, muscarínica ou colinérgica. Com a atuação sobre as placas neuromusculares há a síndrome nicotínica, e, sobre o sistema nervoso central, a síndrome neurológica (RAMOS & FILHO, 2004). A intoxicação por inseticidas organofosforados e carbamatos pode se dar a través da pele, pela ingestão ou por inalação (RAMOS & FILHO, 2004).

Nesse contexto, pode-se afirmar que o PEBT não apresentaria efeitos tóxicos em mamíferos devido a alterações da atividade da acetilcolinesterase (AChE), o qual corrobora com os resultados obtidos por Guerra de Souza (2013), onde o composto não apresentou efeito tóxico em camundongos.

Um possível modo de ação do PEBT sobre as moscas é a través do estresse oxidativo, como indicaram os resultados obtidos por Pinheiro et al. (2018), que comprovaram que os efeitos pro-oxidantes do PEBT foram responsáveis pela sua atividade antimicrobiana, quando testado em *E. coli*. Foi sugerido que o PEBT atuou induzindo a geração de ROS (espécies reativas de oxigênio), a oxidação de grupos tióis, e a redução da atividade das enzimas SOD (superóxido dismutase) e CAT (catalase), o que levou a danos celulares e à morte das células (PINHEIRO et al., 2018).

A toxicidade dos compostos orgânicos de telúrio deve-se principalmente à oxidação de grupos tióis de moléculas biologicamente ativas, inativando enzimas ou diminuindo a concentração da glutatona (BLAIS et al., 1972; DEUTICKE et al., 1992 apud GUERRA DE SOUZA, 2013). A oxidação da glutatona pode ser um dos principais fatores da toxicidade causada pelos compostos orgânicos de telúrio (BARBOSA et al., 1998; NOGUEIRA et al., 2003 apud GUERRA DE SOUZA, 2013). Além disso, Puntel et al. (2012) demonstraram a inibição dos complexos I e II da cadeia respiratória via oxidação de grupos tióis, o qual pode contribuir para os efeitos pró-oxidantes desses compostos, assim como seus efeitos neurotóxicos (GUERRA DE SOUZA, 2013). Porém, estudos demonstram que quando administradas, em mamíferos, doses semelhantes às concentrações utilizadas no presente

estudo, de diversos compostos orgânicos de telúrio, os mesmos não apresentam efeitos tóxicos (ÁVILA et al., 2006; BORGES et al., 2008).

Outro aspecto importante relacionado ao modo de ação dos inseticidas é o desenvolvimento de resistência. A resistência a pesticidas é uma resposta genética e evolucionária a pressão de seleção de toxicantes, podendo refletir em redução de controle a campo, tendo um profundo efeito na sustentabilidade e lucratividade de inseticidas químicos convencionais (Miyata, 1983; french-Constant & Roush, 1990; Georghiou, 1990). Para que a evolução de resistência seja evitada ou retardada, é necessário que se estabeleça rotação de produtos com modos de ação diferentes (OMOTO, 2000).

Por esse motivo, recentemente tem aumentado a procura por inseticidas no mercado com sítios de ação preferencialmente não relacionados ao sistema nervoso, com maior seletividade a organismos não-alvo, e de menor persistência no meio ambiente (GALLO et al., 2002). Outros sítios de ação alternativos ao sistema nervoso podem ser observados em reguladores de crescimento de insetos, inibidores da respiração celular e receptores do canal digestivo.

A partir disso, o PEBT apresenta-se como uma alternativa promissora, pois além de ter demonstrado apresentar seletividade para mamíferos, possui um modo de ação diferente da maioria dos produtos encontrados no mercado, auxiliando no impedimento da evolução da resistência de pragas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi constatado o efeito tóxico do composto 2-feniletinil-butiltelúrio sobre a mosca da fruta *Drosophila melanogaster* e sua possível ação inseticida, sendo a concentração letal 50% de 2,386 mM, em 48h.

Em todas as concentrações testadas, o PEBT reduziu o comportamento locomotor e exploratório das moscas, em 24 e 48 horas, devido à sua toxicidade.

A sua toxicidade não se atribui à inibição da acetilcolinesterase (AChE), mas possivelmente aos seus efeitos pró-oxidantes, induzindo o estresse oxidativo nas moscas.

Como perspectiva, deve ser verificado o envolvimento do estresse oxidativo como mecanismo de toxicidade nesse modelo.

6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Garcia Rodrigues; REYES, Felix, G. R.; RATH, Sussane. *Drosophila melanogaster meigen*: 3. Sensibilidade ao carbofuran e biomonitoramento de seus resíduos em repolho. **Quim. Nova**, v. 24, n. 6, p.768-772, 2001.

ALVES, A. P.; SERIKAWA, R. H. Controle químico de pragas do algodoeiro. Campina Grande, **Rev. bras. ol. fibros.**, v.10, n.3, p.1197-1209, 2006.

ÁVILA, D. S; BEQUE, M. C.; FOLMER, V.; BRAGA, A. L.; ZENI, G.; NOGUEIRA, C. W.; SOARES, F. A. A.; ROCHA, J. B. T. Diethyl 2-phenyl-2 tellurophenyl vinylphosphonate: An organotellurium compound with low toxicity. **Toxicology**, v. 224, p.100-107, 2006.

BORGES, V. C.; SAVEGNAGO, L.; PINTON, S.; JESSE, C. R.; ALVES, D.; NOGUEIRA, C. W. Vinylic telluride derivatives as promising pharmacological compounds with low toxicity. **Journal of Applied Toxicology**, v.28, p. 839-848, 2008.

COOPER, W. C. Tellurium. **Van Nostrand Reinhold Co.: New York**, p. 477, 1971.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 500-506, 2011.

ETO, M. Biochemical Mechanisms of Insecticidal Activities. In. **Chemistry of Plant Protection**. Vol. 6, Pring-Verlag, Berlin Heidelberg. p. 65-107, 1990.

FAIRHILL, L. T. Tellurium. In: Industrial Toxicology. **Hafner Publishing Co, New York and London**, p. 120, 1969.

FARIAS, Alan Lennon Rocha. **Resposta comportamental de *Drosophila melanogaster* (Diptera- Drosophilidae) em dietas contendo extratos dos resíduos de Agave sisalana**. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Agroecologia), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, 2016.

FFRENCH-CONSTANT, R.H.; and ROUSH, R.T. **Resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assays**. New York and London. p. 4-38, 1990.

FUKUTO, T. R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. Department of Entomology, University of California, Riverside, **Environmental Health Perspectives**, v. 87, p. 245-254, 1990.

GALLO, D.; NAKANO, O.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Manual de entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, p.920, 2002.

GEORGHIOU, G.P. Overview of Insecticide Resistance. Pp. 18-41. In. M.B. GREEN, H.M LEBARON E W.K.MOBERG (eds.). **Managing Resistance to Agrochemicals: from fundamental research to practical strategies**. Am. Chem. Soc., Symp. Ser. No. 421, Washington D.C. 1990.

GUERRA DE SOUZA, Ana Cristina. **Papel protetor do 2-feniletinil-butiltelúrio em modelos de dano cognitivo em camundongos e na apoptose em células humanas**. Santa Maria, 2013.

METCALF, R.L. **Insecticides in Pest Management**. John Wiley & Sons, Inc. p 245-284. 1994.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2012. Disponível em: <
<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>> Acessado em 10/2018.

MIYATA, T. **Detection and monitoring methods for resistance in arthropods based on biochemical characteristics**. Plenum Press, New York and London, p. 99-116, 1983.

MORALES, Marcelo. Métodos alternativos à utilização de animais em pesquisa científica: mito ou realidade? **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 2, p. 33-36, 2008.

NOGUEIRA, Cristina; ROCHA, João. Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology. *Chemistry of Functional Groups: The Chemistry of Organic Selenium and Tellurium. Chemical Reviews*, v.104, n. 204p 6255-6285, 2012.

OLIVEIRA, G. F. Diversidade de drosofilídeos (Díptera, Insecta) em manguezais de Pernambuco. 2011. 76f. Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente). Universidade Federal de Pernambuco. 2011.

OMOTO, C. **Modo de ação dos inseticidas e resistência de insetos a inseticidas**. Depto. Defesa Fitosanitaria. Univ. Federal de Santa Maria, Sta Maria, RS. p.30-49, 2000.

PEREIRA, J. L. D. C. RELATÓRIO. In: **Workshop de Olericultura Orgânica na Região Agroeconômica do Distrito Federal**. 2001. p. 147-151

PINHEIRO, Franciane Cabral; BORTOLOTTTO, Vandrezza Cardoso; ARAUJO, Stéfani Machado; POETINI, Marcia Rósula; SEHN, Carla Pohl; NETO, José; ZENI, Gilson; PRIGOL, Marina. Antimicrobial Effect of 2-Phenylethynyl-Butyltellurium in Escherichia coli and Its Association with Oxidative Stress. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 28, n. 7, p 1209-1216, mai./jul. 2018.

PROKOP, Andreas. Fruit flies in biological research. *Biological Science Review*, p. 10-14, 2016.

PUNTEL, R. L. Organochalcogens Inhibit Mitochondrial Complexes I and II In Rat Brain: Possible Implications for Neurotoxicity. *Neurotox Res*, 2012.

RAMOS, Andréia; FILHO, João Ferreira da Silva. **Exposição a pesticidas, atividade laborativa e agravos à saúde**. Minas Gerais, Rev Med, v. 14, n. 1, p. 5-41, 2004.

ROCHA, Luana Diniz Linhares e Souza; FARIA, Joana Cristina Neves de Menezes; CRUZ, Aline Helena da Silva; REIS, Angela Adamski da Silva; SANTOS, Rodrigo da Silva. Drosophila: um importante modelo biológico para a pesquisa e o ensino de Genética. *Scire Salutis*, Aquidabã, v.3, n.1, p.37- 48, out./nov./dez. 2012, jan./fev./mar. 2013.

SCANSETTI, G. Exposure to metals that have recently come into use. **Sci Total Environ**, v. 120, p. 85-91, 1992.

SMITH, R.F. **Pesticides: their use and limitations in pest management**. North Carolina State University, Raleigh. p. 103-113, 1970.

TAYLOR, A. Biochemistry of Tellurium. **Biol Trace Elem Res**, v. 55, p. 231-239, 1996.

WORKSHOP DE OLERICULTURA ORGÂNICA NA REGIÃO AGROECONÔMICA DO DISTRITO FEDERAL, 2001, Brasília. **Anais...**Brasília: Embrapa Hortaliças: Emater/DF, 2001. p. 147-151