

## ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS NO INTESTINO DE *Alphitobius diaperinus* EXPOSTO AO ÓLEO ESSENCIAL DE *Illicium verum* POR FUMIGAÇÃO

MILLENA BILHAR LOPES<sup>1</sup>; REJANE PETER<sup>2</sup>; LUIS AUGUSTO XAVIER CRUZ<sup>3</sup>;  
ELIANE FREIRE ANTHONISEN<sup>4</sup>; ROSANGELA FERREIRA RODRIGUES<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – himillena@gmail.com

<sup>2</sup>Embrapa – rejanepeter606@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – laugustocruz@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – eliane.anthonisen@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – rosangelaferreirarodrigues@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A avicultura contemporânea enfrenta um dilema crescente entre produtividade intensiva e sustentabilidade sanitária. A pressão por desenvolvimento zootécnico levou ao uso indiscriminado de antibióticos como promotores de crescimento, contribuindo para a emergência de patógenos multirresistentes e colocando em xeque a segurança alimentar e a saúde pública (PAES et al., 2000). Em resposta a esse cenário, os óleos essenciais emergem como uma alternativa promissora, oferecendo propriedades antimicrobianas, antioxidante e imunomoduladoras que favorecem o equilíbrio da microbiota intestinal, o fortalecimento do sistema imune e a melhoria do bem-estar animal. Compostos, como os encontrados no óleo essencial de anis estrelado, têm demonstrado eficácia em agentes patogênicos relevantes como *Escherichia coli* spp. e *Salmonella* spp., além de atuarem como repelentes e inseticidas naturais de pragas (ALVES, 2024). Ao integrar estes fitoativos à nutrição e ao manejo sanitário, os avicultores podem alinhar produtividade com responsabilidade ecológica, atendendo as exigências de mercado cada vez mais orientados por critérios de qualidade e rastreabilidade (SILVA et al., 2024).

Além de seus benefícios nutricionais e imunológicos, os óleos essenciais também têm se destacado como alternativas eficazes no controle de pragas em ambientes avícolas. *Alphitobius diaperinus*, conhecido como cascudinho, representa um desafio sanitário relevante, e o óleo essencial de *Illicium verum* (anis-estrelado) apresenta compostos voláteis com potencial inseticida. A exposição por fumigação pode provocar efeitos sistêmicos, afetando órgãos internos, como o intestino (COSTA et al., 2017). Este estudo teve como objetivo avaliar a sobrevivência e as alterações histológicas no intestino de *A. diaperinus* após exposição ao óleo essencial, nas concentrações de 0,01%; 0,1%; 0,5%, 1%; 2%; 4%; e 8%, contribuindo para a compreensão dos efeitos a níveis celulares e teciduais desse composto natural.

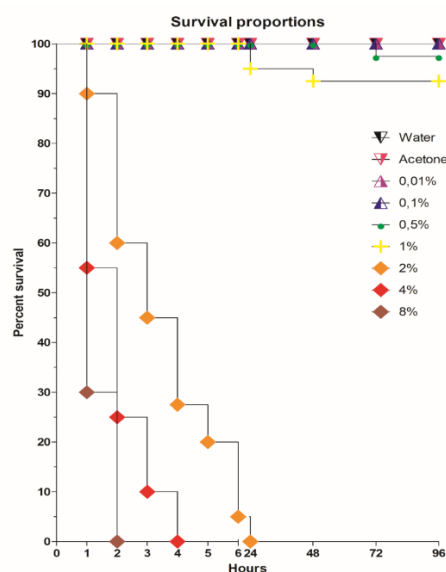
### 2. METODOLOGIA

**Bioensaio com cascudinho (concentrações subletais):** Fêmeas de *Alphitobius diaperinus* com 11 dias de vida e maturidade sexual foram mantidas em frascos plásticos ventilados, com substrato de aviário, algodão umedecido e ração de crescimento para frangos (SUPRA®). Os bioensaios foram conduzidos em placas de Petri (10 × 2 cm), revestidas com papel filtro no fundo e na tampa, onde foram aplicados 500 µL das soluções testadas, evitando contato direto dos insetos com o líquido. O óleo essencial de *Illicium verum* foi diluído em água destilada e acetona 99,5% (solução final de acetona a 5%), devido à sua baixa miscibilidade

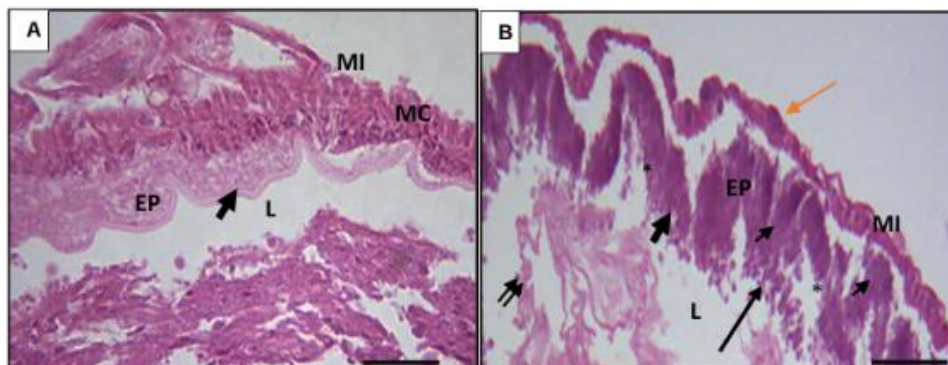
em água. Foram testadas concentrações subletais do óleo (0,01; 0,1; 0,5; 1; 2; 4; 8%), além de três grupos experimentais: controle negativo (sem aplicação), controle do diluente (acetona 5%) e grupo tratado com óleo essencial. Cada placa recebeu cinco adultos, com seis repetições por tratamento, em delineamento inteiramente casualizado. Durante o experimento, as placas permaneceram em estufa climatizada ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR, fotoperíodo de 12h), com oferta contínua de ração e algodão umedecido. A sobrevivência dos indivíduos foi monitorada por 96 horas, e os dados foram submetidos à análise estatística pelo teste Log-rank (Mantel-Cox).

**Preparação das lâminas histológicas:** Após o tratamento com óleo essencial de *Illicium verum*, os adultos de *Alphitobius diaperinus* foram anestesiados e submetidos à remoção dos élitros com auxílio de pinças finas, a fim de facilitar o acesso ao abdômen e otimizar a penetração do fixador. Em seguida, os insetos foram dissecados sob estereomicroscópio para extração do intestino médio. Os tecidos foram fixados em solução de Bouin por 24 horas à temperatura ambiente. Após a fixação, os fragmentos foram lavados em álcool 70% para remoção do excesso de ácido pícrico, e então submetidos à desidratação em série crescente de etanol (70%, 80%, 90%, 95% e absoluto), diafanização em xilol e inclusão em parafina histológica. Os blocos foram cortados em micrótomo rotativo com espessura de 5  $\mu\text{m}$ . As lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) para avaliação geral da morfologia tecidual. A análise microscópica foi realizada em microscópio óptico com aumento de até 400x, e as imagens foram registradas com câmera digital Moticam (Motic®) acoplada ao microscópio. As imagens foram processadas com o software Motic Images Plus para documentação e análise morfológica. Foram analisadas lâminas histológicas de dois grupos experimentais: grupo controle (sem exposição ao óleo essencial) e grupo tratado com concentração de 1% do óleo essencial de *Illicium verum*. As alterações histológicas observadas incluíram desorganização epitelial, vacuolização citoplasmática, degeneração celular e presença de infiltrado hemocítico.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO



**Figura 1.** Sobrevivência (%) após 96 horas de exposição ao OE de *I. verum*. Dados referentes a 40 indivíduos de *A. diaperinus*/tratamento. Comparação entre as curvas de sobrevivência através do teste Log-rank (Mantel-Cox).



**Figura 2.** Corte transversal do intestino médio de adultos de *A. diaperinus*. Em A, insetos pertencentes ao controle. É possível verificar a presença de tecido epitelial simples colunar (EP) com presença de microvilos (seta), músculos longitudinais (MI) e circular (MC), lúmen (L). Em B, efeito do óleo de *Illicium verum* após 4h de alimentação dos insetos. Epitélio colunar (EP) exibindo afastamento entre as células (\*) com várias células se desprendendo do epitélio e migrando para o lúmen (seta longa), presença de acúmulo de secreções na superfície das células colunares (seta curta).

Os resultados aqui obtidos demonstraram que as concentrações subletais, mais indicadas (Fig. 1) para a realização do experimento foram 0,5 e 1%, pois as concentrações 2, 4 e 8% mostraram-se extremamente tóxicas, levando a morte a partir da segunda hora de exposição, enquanto que nas concentrações 0,01 e 0,1%, não houve mortalidade até a nonagésima sexta hora, final da exposição ao OE de *I. verum*. Neste estudo foi demonstrado que o OE de *I. verum* possui toxicidade aguda letal em concentrações acima de 1%, levando o inseto a um comportamento de hiperexcitabilidade, tremores, convulsão e, por fim, à morte (SZCZEPANIK et al., 2011).

As amostras histológicas do intestino médio de *Alphitobius diaperinus* pertencentes ao grupo controle apresentaram arquitetura tecidual compatível com a descrita para outros coleópteros. Observou-se uma lâmina epitelial composta predominantemente por células colunares, com região apical densamente revestida por microvilos, característica associada à absorção de nutrientes. Entre essas células, foram identificadas células regenerativas basais, indicativas de atividade proliferativa. A musculatura visceral circundante exibiu organização típica em duas camadas: uma externa longitudinal e outra interna circular, ambas bem preservadas e sem sinais de degeneração (Fig. 2A), (CRUZ et al., 2015). Após 24 horas de exposição a concentração de 0,5% do OE de *I. verum*, não se observou mortalidade. No entanto, o intestino médio desses insetos apresentou alterações histológicas que foram caracterizadas pela presença de afastamento das células colunares e vacuolização destas e, desprendimento da lâmina epitelial da camada muscular. Verificou-se ainda presença de acúmulo de secreções sob as células colunares e algumas células ejetas no lúmen intestinal (Fig. 2B).

#### 4. CONCLUSÕES

O OE de *I. verum* se mostra uma excelente alternativa aos inseticidas sintéticos no controle de pragas como *A. diaperinus*, visto que os produtores necessitam de eficácia sem produção de resíduos e danos ao meio ambiente, mamíferos e aves. Além disso, se fez possível a observação de alterações comportamentais e histológicas nos insetos, confirmando seu potencial inseticida.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, Warley. Óleos essenciais: uma alternativa sustentável e eficaz aos antibióticos na avicultura. **De Heus – Explore e Aprenda**, 26 ago. 2024. Disponível em: <https://www.deheus.com.br/explore-e-aprenda/artigos/oleos-essenciais-uma-alternativa-sustentavel-e-eficaz-aos-antibioticos-na-avicultura>. Acesso em: 28 ago. 2025.

COSTA, A. O. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais e funcionais sobre bactérias gram-negativas causadoras de doenças na avicultura. **Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana**, 2024. DOI: 10.55905/oelv22n12-109.

CRUZ, G.S. et al. Histological and histochemical changes by clove essential oil upon the gonads of *spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **International Journal of Morphology**, v. 33, p. 1393-1400, 2015.

PAES, N.S. et al. The effect of arcelin-1 on the structure of the midgut of bruchid larvae and immunolocalization of the arcelin protein. **Journal of Insect Physiology**, v. 46, p. 393-402, 2000.

SZCZEPANIK, M. and Szumny, A.; Insecticidal activity of star anise (*Illicium verum* Hook. F.) fruits extracts against lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). **Allelopathy Journal**, v. 27, n. 2, p. 277-288, 2011.