

## **ATIVIDADE NEUROMODULATÓRIA DO VENENO DE *Rhinella dorbignyi* SOB O CORAÇÃO SEMI-ISOLADO DE BARATAS *Nauphoeta cinerea***

Sara Santos Costa, discente de Bacharelado em Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Raíssa Aguirre Xavier, discente de Bacharelado em Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Flavia Luana Goulart, discente de Bacharelado em Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Lucia Helena do Canto Vinade, docente, Universidade Federal do Pampa

Chariston Andre Dal Belo, docente, Universidade Federal de São Paulo

Velci Queiroz de Souza, docente, Universidade Federal do Pampa

e-mail primeiro autor- saracosta.aluno@unipampa.edu.br;

e-mail segundo autor- raissaxavier.aluno@unipampa.edu.br;

e-mail terceiro autor- flaviagoulart.aluno@unipampa.edu.br;

e-mail quarto autor- luciavinade@unipampa.edu.br;

e-mail quinto autor- chariston.belo@unifesp.br;

e-mail sexto autor- velcisouza@unipampa.edu.br

A resistência aos pesticidas é um dos maiores problemas agrícolas. Cerca de 450 espécies apresentam resistência aos principais pesticidas fazendo com que haja a necessidade da utilização de altas doses desses compostos para o controle dos insetos pragas. Nesse cenário, existe a necessidade de novos compostos de base natural que vêm se tornando cada vez mais pesquisados, por apresentarem uma curta meia vida no meio ambiente e ação seletiva sobre os insetos, tornando-se muito mais atraentes do ponto de vista ambiental e do controle dos insetos pragas. O estudo da Secreção tóxica de *Rhinella dorbignyi* (STRD), tornou-se atraente por ser um anuro restrito ao bioma Pampa, cuja secreção apresenta grande concentração de bufadienolídeos, que são secretados pelas suas glândulas parotóides, que se encontram na parte de trás do olho dos anuros. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade da secreção tóxica do sapo *Rhinella dorbignyi* (STRD), de forma isolada e com o pré-tratamento de Acetilcolina em preparação coração semi-isolado de baratas da espécie *Nauphoeta cinerea*. A STRD foi obtida previamente, com autorização do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético- SisGen nº A581EA6. Para os bioensaios foram utilizadas baratas adultas de ambos os sexos da espécie *Nauphoeta cinerea*. As baratas foram mantidas em insetário climatizado com temperatura (24-26°C), água e alimento *ad libitum* e ciclo de claro e escuro de 12h/12h. Para a preparação coração semi-isolado, foi seguido o protocolo descrito por Rodríguez et al. (2012). Resumidamente, as baratas foram anestesiadas por resfriamento e fixadas em uma cama de dissecação em decúbito dorsal utilizando alfinetes entomológicos. A seguir, com auxílio de uma tesoura e uma pinça, a cutícula ventral do animal foi aberta e removida, e suas vísceras foram cuidadosamente afastadas, expondo o coração. A visualização do coração ocorreu com o uso de uma lupa digital (Nikon, Japão), com aumento de 1000x acoplada a um computador. Os experimentos foram filmados e gravados para posterior análise pelo software Cardiac Rithm Virtual Counter – CRVC®, desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa. Todos os tratamentos foram aplicados diretamente sobre o coração em um volume final de 200µL. Todos os ensaios

foram realizados à temperatura ambiente (24°C). Para este protocolo foram utilizados 4 insetos para cada tratamento, sendo a solução salina para insetos como controle positivo; o fármaco Acetilcolina 5 µg/g como controle negativo; a STRD 7,5 µg/g, e o pré-tratamento de Acetilcolina + STRD (5 + 7,5 µg/g). Os resultados foram apresentados como média ± E.P.M. A significância foi estabelecida pelo teste ANOVA seguido de *Dunnnett*, onde  $p \leq 0.05$ . Também foi feita uma análise adicional com o teste de *Sidak* onde  $p \leq 0.05$ . Assim, em condições controle salina para insetos, a frequência cardíaca média dos animais foi de (100±1 batimentos/min, n=4). O controle farmacológico com Acetilcolina 5 µg/g não apresentou significância quando comparado ao controle salino (100±1 batimentos/min, n=4). O tratamento com STRD 7,5 µg/g induziu efeito cronotrópico negativo significativo, resultando em uma média de (50±4 batimentos/min, n=4,  $p < 0.05$ ), quando comparado ao controle salino. No pré-tratamento da Acetilcolina + STRD (5 + 7,5 µg/g), também apresentou efeito cronotrópico negativo significativo em comparação com o controle salino com uma média (41±2 batimentos/min, n=4). O pré-tratamento de Acetilcolina + STRD também resultou em efeito cronotrópico negativo significativo em comparação com STRD mostrando uma diminuição de cerca de 18% na média dos batimentos cardíacos/min. Não houve reversão do efeito deletério do veneno após a lavagem da preparação com solução salina. Esses resultados corroboram a ação neurotóxica da STRD, e reforçando o efeito entomotóxico da STRD, sobre o sistema cardiovascular de *Nauphoeta cinerea*. Também sugerem que a atividade entomotóxica envolve, pelo menos em parte, a neurotransmissão colinérgica. Conclui-se com estes resultados preliminares que a STRD apresenta potencial biotecnológico como agente inseticida natural, tendo ação sobre o sistema cardiovascular de insetos além de contribuir para a valorização do bioma Pampa e a preservação de sua fauna de anfíbios.

**Agradecimentos:** CNPq, FAPERGS, MEC, UNIPAMPA, LANETOX

**Palavras-chave:** Secreção paratóide de anuros; Entomotoxicidade; Sistema cardiovascular, Atividade neuromodulatória