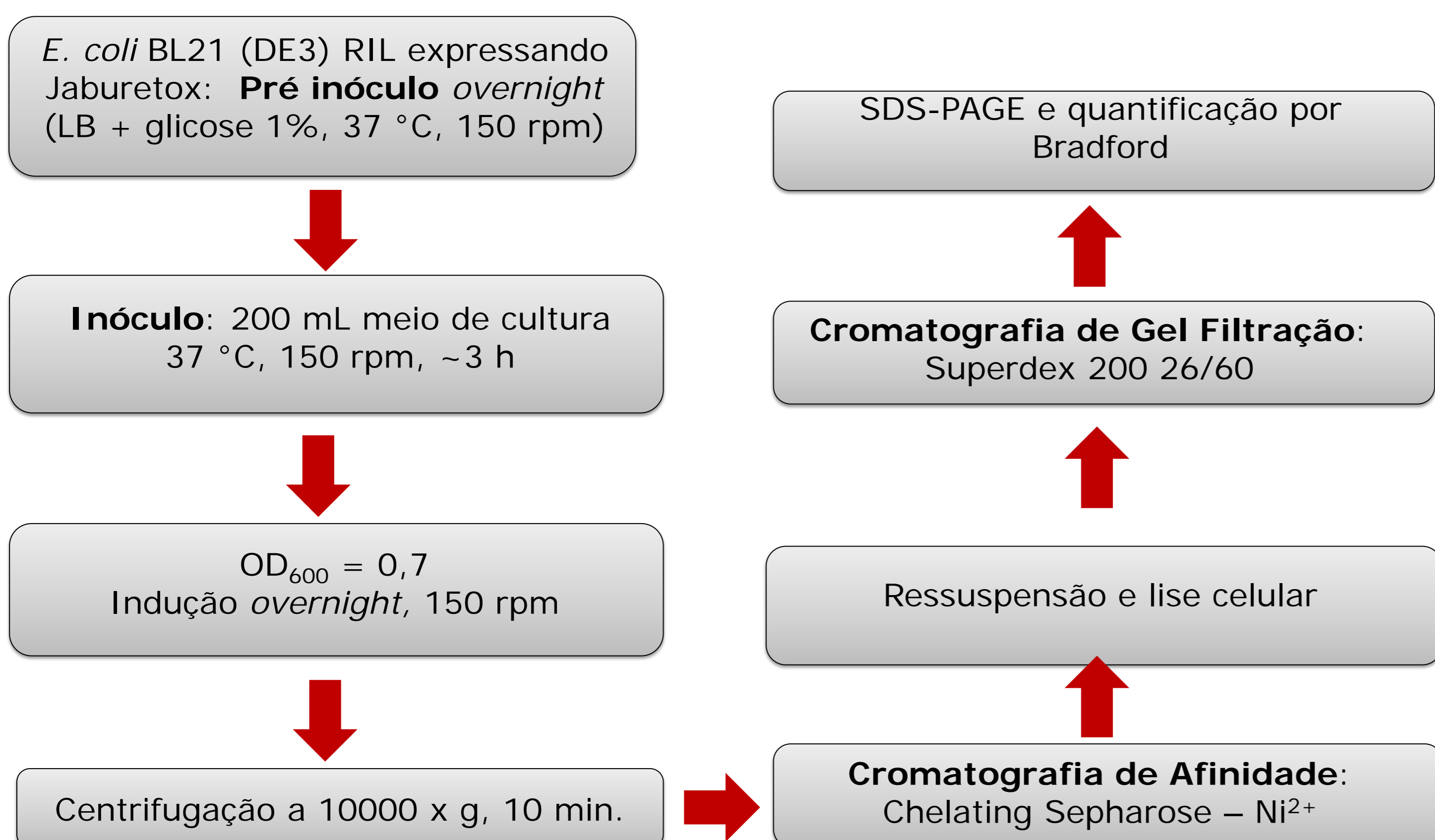


Introdução

Ureases são metaloenzimas dependentes de níquel que catalisam a hidrólise da ureia a amônia e dióxido de carbono. Ureases vegetais e microbianas pertencem a um grupo de proteínas multifuncionais que apresentam propriedades independentes da sua atividade ureolítica, tais como atividade inseticida, fungitóxica e de ativação plaquetária. A leguminosa Feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) apresenta três isoformas de ureases: urease majoritária (JBU), Canatoxina e JBURE-II. A Canatoxina apresenta toxicidade a uma ampla variedade de insetos devido à hidrólise desta proteína por enzimas do tipo catepsinas, presentes no sistema digestivo dos insetos suscetíveis. Esta hidrólise promove a liberação de um peptídeo entomotóxico (Pepcanatox). Baseado na sequência N-terminal do Pepcanatox e utilizando como molde o cDNA de JBURE-II, um peptídeo recombinante equivalente, denominado Jaburetox, foi clonado e expresso em *Escherichia coli*, apresentando um amplo espectro de ação inseticida e atividade contra fungos filamentosos e leveduras. Com o intuito de desenvolver uma formulação contendo Jaburetox para uma possível aplicação agrônômica e/ou médica, o peptídeo foi encapsulado em nanopartículas lipídicas. Jaburetox apresentou uma elevada taxa de associação às partículas lipídicas e a encapsulação aumentou, em aproximadamente, 30 % a atividade antifúngica do Jaburetox contra *Pichia membranifaciens*. Dessa forma, os objetivos deste estudo são verificar se a encapsulação afetou a atividade inseticida do Jaburetox e se a mesma apresenta-se tóxica ao nematóide *Caenorhabditis elegans*, o qual é um excelente modelo de toxicidade.

Materiais e Métodos

1) Produção e Purificação de Jaburetox



2) Produção das Nanopartículas Lipídicas

O lipídio sólido e o lipídio líquido foram aquecidos de 5 a 10 °C acima do ponto de fusão do lipídio sólido, formando, assim, a fase oleosa. A fase aquosa previamente aquecida foi, então, vertida sobre a fase oleosa. Após, obteve-se uma emulsão, por agitação, utilizando-se o UltraTurrax IKA T25 Basic. A nanoemulsão foi transferida para frascos de vidro e colocada em banho de gelo.

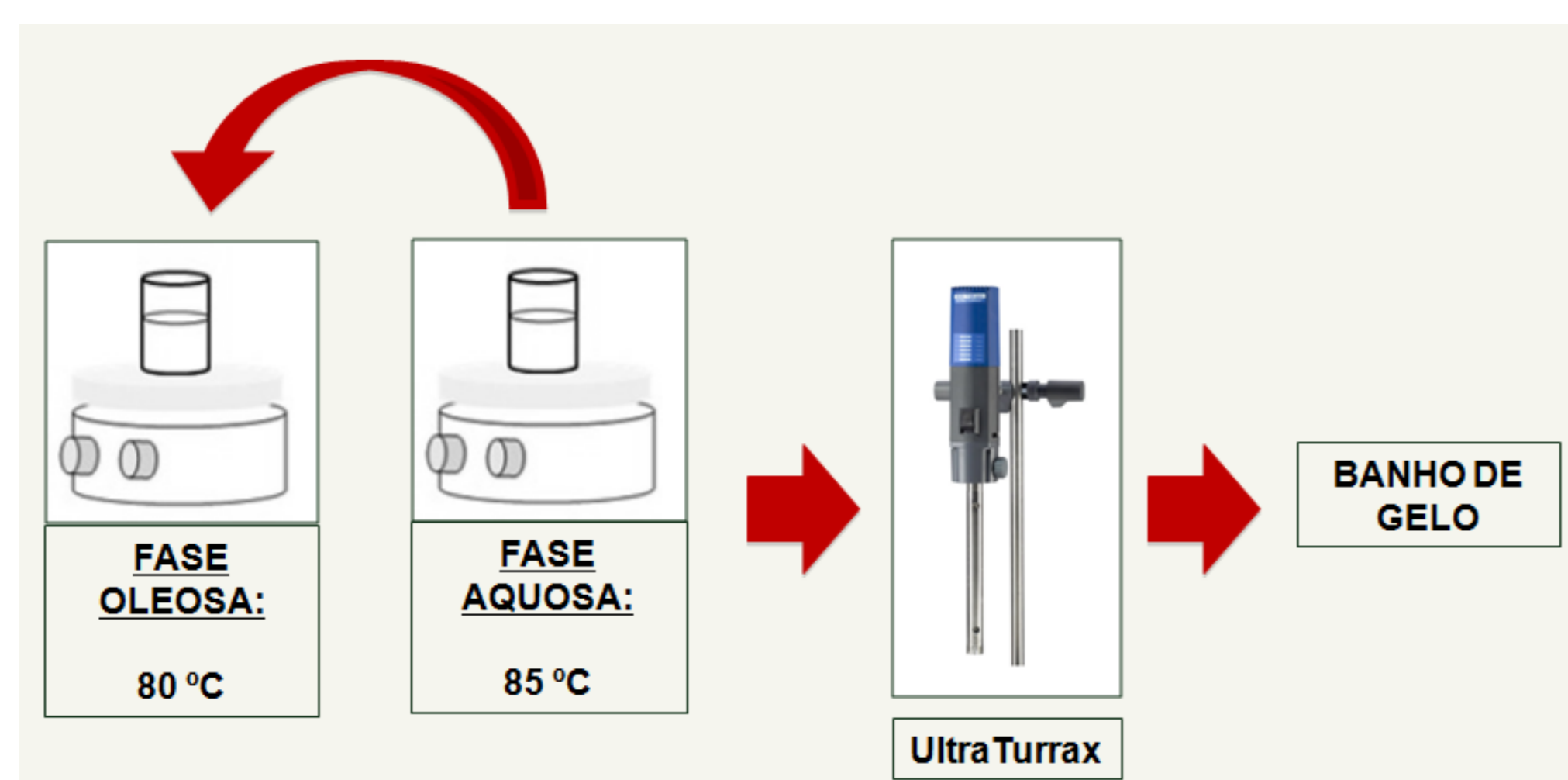


Figura 1: Método de produção das nanopartículas lipídicas, segundo Tichota 2014.

A encapsulação do Jaburetox foi realizada adicionando-se o peptídeo à formulação e seguindo os mesmos procedimentos de produção de nanopartículas lipídicas.

3) Injeção na Hemocele em *Dysdercus peruvianus*

Os ensaios foram realizados em *Dysdercus peruvianus* de 5º instar, em grupos controle de 3 a 5 insetos. Foram injetados, na hemocele, 1,5 mL de tampão Tris 10 mM, utilizando-se seringa do tipo Hamilton.



Figura 2: Ninfas de *Dysdercus peruvianus* de 5º instar. (Fonte: www.ufrgs.br/laprottox)



Figura 3: Ninfas de 5º instar de *Dysdercus peruvianus* em banho de gelo, previamente à injeção.

4) Ingestão

A formulação de nanopartículas e tampão Tris-HCl 10 mM foram administrados em dois insetos modelo:

4.1. *Rhodnius prolixus*, por capilares de vidro.

4.2. *Dysdercus peruvianus*, por cápsulas contendo farelo de semente de algodão.



Figura 4: Ingestão por capilares de vidro em *R. prolixus* de 5º instar.



Figura 5: Ingestão por cápsulas contendo farelo de semente de algodão em *D. peruvianus* de 5º instar. (Fonte: www.ufrgs.br/laprottox)

Resultados e discussões

Injeção em *Dysdercus peruvianus*

A via de administração por injeção, testada em *Dysdercus peruvianus*, mostrou resultados não satisfatórios, uma vez que os insetos injetados apresentaram alta mortalidade às injeções com tampão. Como essa via apresenta métodos práticos de difícil execução decidiu-se, então, suprimi-la dos ensaios, dando enfoque às vias de ingestão.

Ingestão em *Dysdercus peruvianus*

Os ensaios de ingestão através de cápsulas contendo farinha de algodão e as nanopartículas lipídicas estão em andamento. O experimento será acompanhado por 20 dias, e a taxa de mortalidade será verificada diariamente.

Ingestão por capilares em *Rhodnius prolixus*

Neste ensaio foram ministradas através de capilares de vidro apenas as nanopartículas lipídicas vazias (controle). Após 72h de ensaio, foi verificado 100% de sobrevivência dos insetos mostrando que a composição lipídica das nanopartículas não são tóxicas.

Perspectivas

- Ensaio de ingestão por capilares, em *Rhodnius prolixus*, administrando diversas doses de nanopartículas carregadas com jaburetox;
- Ensaio de vaporização das nanopartículas lipídicas na cutícula dos insetos. Com o auxílio de vaporizadores, pretende-se otimizar o volume necessário para “embeber” os insetos.